

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ «ИЖЕВСКАЯ
ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

Гилева Ольга Георгиевна

**СОДЕРЖАНИЕ НЕКОЛЛАГЕНОВЫХ БЕЛКОВ
МЕЖКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА И ИХ КОРРЕКЦИЯ ПРИ
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ МЕТАБОЛИЧЕСКОМ СИНДРОМЕ И
ИММОБИЛИЗАЦИОННОМ СТРЕССЕ**

1.5.4. Биохимия, биологические науки

Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук

Научный руководитель:
доктор медицинских наук,
профессор
Бутолин Евгений
Германович

Ижевск - 2022

ОГЛАВЛЕНИЕ

	Стр.
ВВЕДЕНИЕ	5
ГЛАВА 1 Обзор литературы	15
1.1 Межклеточный матрикс соединительной ткани: структура, метаболизм, биологическая роль	15
1.1.1 Неколлагеновые белки межклеточного матрикса	22
1.1.2 Морфофункциональные особенности межклеточного матрикса печени	32
1.2 Экспериментальные модели метаболического синдрома	34
1.3 Метаболизм биополимеров межклеточного матрикса при стрессогенных воздействиях	36
1.4 Влияние препарата сулодексид на обменные процессы в организме	40
ГЛАВА 2 Материалы и методы исследования	45
2.1 Общая характеристика экспериментальных животных	45
2.1.1 Описание экспериментальных групп животных	45
2.2 Экспериментальная модель метаболического синдрома на основе фруктозообогащенной диеты	48
2.3 Экспериментальная модель метаболического синдрома на основе высокожировой диеты	50
2.4 Проведение эксперимента с иммобилизационным стрессом у крыс	55
2.4.1 Иммобилизационный стресс в условиях фруктозообогащенной диеты	56
2.4.2 Иммобилизационный стресс в условиях высокожировой диеты ...	57
2.5 Проведение эксперимента с препаратом сулодексид	57
2.6 Приготовление сыворотки крови и гомогенатов ткани печени	58
2.7 Биохимические методы исследования	59
2.7.1 Исследование сыворотки крови биохимическими методами	60
2.7.2 Исследование гомогенатов ткани печени биохимическими методами	61
2.7.3 Определение расчетных показателей	61
2.8. Иммуноферментные методы исследования	62
2.8.1 Исследование сыворотки крови методом иммуноферментного анализа	63

2.8.2 Исследование гомогенатов ткани печени методом иммуноферментного анализа.....	65
2.9 Гистологическое исследование препаратов ткани печени	66
2.9.1 Приготовление гистологических препаратов печени	66
2.9.2 Гистологическая картина препаратов печени.....	67
2.10 Статистическая обработка результатов	70
ГЛАВА 3 Результаты исследования и их обсуждение.....	72
3.1 Верификация экспериментальной модели метаболического синдрома на основе фруктозообогащенной диеты	72
3.2 Верификация экспериментальной модели метаболического синдрома на основе высокожировой диеты	79
3.3 Активность специфических ферментов печени в сыворотке крови крыс при экспериментальных моделях метаболического синдрома	84
3.4 Оценка основных показателей липидного и углеводного обмена, активность ферментов печени при длительном иммобилизационном стрессе.....	87
3.4.1 Основные показатели липидного и углеводного обмена, активность ферментов печени при иммобилизационном стрессе и фруктозообогащенной диете.....	92
3.4.2 Основные показатели липидного и углеводного обмена, активность ферментов печени при иммобилизационном стрессе и высокожировой диете	96
3.5 Содержание фибронектина и ламинина в крови и ткани печени крыс ...	101
3.5.1 Содержание фибронектина и ламинина в сыворотке крови и ткани печени крыс при экспериментальных моделях метаболического синдрома, основанных на фруктозообогащенной и высокожировой диетах	101
3.5.2 Содержание фибронектина и ламинина в сыворотке крови и ткани печени крыс при длительном иммобилизационном стрессе	108
3.5.3 Содержание фибронектина и ламинина в сыворотке крови и ткани печени крыс при экспериментальных моделях метаболического синдрома, основанных на фруктозообогащенной и высокожировой диетах, в условиях иммобилизационного стресса	111
3.6 Влияние препарата сулодексид на изучаемые показатели в крови и ткани печени крыс при экспериментальных моделях метаболического синдрома на основе фруктозообогащенной и высокожировой диет.....	115

3.6.1 Влияние препарата сулодексид на основные показатели углеводного и липидного обмена при экспериментальных моделях метаболического синдрома	115
3.6.2 Влияние препарата сулодексид на содержание фибронектина и ламинина при экспериментальных моделях метаболического синдрома	123
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	128
ВЫВОДЫ	140
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ	142
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	144

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования и степень ее разработанности. Метаболический синдром (МС) является на сегодняшний день проблемой как медицинского, так и социального характера. По результатам независимых экспертиз это многофакторное состояние затрагивает 20-30% населения мира (Jalali et al., 2020), распространенность МС в России среди представителей взрослого населения находится в диапазоне 40-50%, в США составляет 34% (Moore et al., 2017; Карпин, 2020). Настораживает тот факт, что МС отмечается и в молодом возрасте (до 30 лет) и составляет от 4% до 7% всех зарегистрированных случаев (Nolan et al., 2017).

Общеизвестно, что в основе формирования МС лежат несколько факторов, существенными из которых являются ожирение, как результат накопления избыточной жировой ткани, и инсулинорезистентность (Лавренова и др., 2020). Ожирение и резистентность к инсулину в свою очередь служат решающими факторами в причинах развития неалкогольной жировой болезни печени, сахарного диабета 2 типа, значительно повышающими риск развития сердечно-сосудистых заболеваний и их осложнений, которые являются на сегодняшний день основной причиной смертности среди населения в развитых странах (Шараев и др., 2005; Мисникова, 2016; Лавренова и др., 2020).

К ведущим причинам формирования МС относятся как генетические факторы, такие как полиморфизм генов, ряд особенностей в эмбриональном развитии, так и неправильное высококалорийное питание и гиподинамия (Шараев и др., 2005; Мисникова, 2016). Связано это с увеличением жиров и углеводов в рационах питания, в частности фруктозы в виду ее экономически выгодного производства из доступного сырья – кукурузы (Павлова и др., 2018).

С этих позиций представляет интерес моделирование основных признаков МС, на основании которого можно изучать обменные нарушения, характерные как для данного состояния, так для функционирования отдельных органов и систем.

Ряд авторов ранее проводили экспериментальное моделирование МС на основе высококалорийного питания, обогащенного фруктозой и жирами (Решетняк и др., 2011; Лещенко и др., 2015; Медведев, 2016; Апрятин и др., 2018). В данном исследовании было показано, что в результате кормления крыс рационами, богатыми жировыми и углеводными компонентами, в организме животных инициируется развитие комплексного патофизиологического процесса, в основе формирования которого, наряду с макрофагальной инфильтрацией, лежат воспалительные реакции в жировой ткани и печени (Апрятин и др., 2016). Это может приводить к изменениям в липидном и углеводном метаболизме, снижению чувствительности тканей к инсулину и затрагивать структурную и функциональную целостность гепатоцитов.

Так, токсическое действие фруктозы на печень вследствие ее избыточного потребления, по данным авторов, заключается в бесконтрольном преобразовании фруктозы в жиры и их последующее накопление в печени, провоцирующее резистентность к инсулину и воспалительные процессы с выделением соответствующих провоспалительных цитокинов (Апрятин и др., 2018). Помимо этого, общий органотоксический эффект потребления фруктозы может заключаться в развитии окислительного стресса, обусловленного миграцией мононуклеаров при хроническом воспалении на фоне увеличения циркуляции липидов в общем кровотоке (Eng et al., 2021).

Потребление крысами высокожирового рациона, по результатам ранних исследований, приводило к накоплению липидов в печени и, как следствие, к нарушениям липидного и углеводного обмена, развитию воспалительного процесса в гепатоцитах и формированию оксидативного стресса (Апрятин и др., 2016).

Основные признаки МС – ожирение и инсулинорезистентность – могут оказывать прямое и опосредованное действие атерогенного характера на стенки сосудов, в первую очередь на их внутренний слой – эндотелий, который играет значительную роль в динамике состояния сосудистой стенки. Нарушение гормонально-метаболического статуса, гипергликемия, дислипидемия, активация

симпато-адреналовой системы, вызванные их воздействием, могут обуславливать раннее развитие дисфункции эндотелия (Мустафаева, 2018).

Помимо этого, активация симпато-адреналовой, а также гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы характерна и для стрессовой реакции организма. Стресс неразрывно связан с процессом всей жизнедеятельности, поэтому немаловажно знать, какие метаболические изменения он может спровоцировать.

В частности, иммобилизационный стресс, по результатам предыдущих исследований, вызывает формирование морфофункциональных изменений в структуре надпочечников, что соответствует их изменениям в процессе адаптации к стресс-фактору (Полина и др., 2020). Как следствие, наблюдается преобладание катаболических реакций над анаболическими, усиление липолитических процессов, накопление в печени и высвобождение в кровяное русло компонентов липидного спектра (Солин и др., 2013). Это может приводить к воспалительным и деструктивным процессам как в гепатоцитах, так и затрагивать структурную целостность сосудистого эндотелия и межклеточный матрикс соединительной ткани.

Соединительная ткань составляет около 50 % массы организма. Ее значение в развитии и протекании многих патологических процессов существенно, учитывая, что формирование любой ткани происходит путем взаимодействия клеточных структур с внеклеточным матриксом соединительной ткани (Шкурупий и др., 2017).

Одним из важнейших регуляторных белков межклеточного матрикса, играющих существенную роль в его взаимодействии с эндотелием сосудов, а также с гепатоцитами, является фибронектин. Фибронектин – неколлагеновый гликопротеин, состоящий из двух полипептидных цепей, выполняющий значимую функцию в пролиферации и миграции клеток, способствует адгезии и распространению клеток, участвует в репаративных процессах (Васильев и др., 2022). Однако информации об участии фибронектина в различного рода патологических процессах в литературе не так много.

Другим не менее важным неколлагеновым гликопротеином является ламинин – основной структурный белок базальной мембраны. Ламинины – это семейство гликопротеинов, насчитывающих на сегодняшний день 16 изоформ (Батюшин и др., 2016). Полимеризуясь, изоформы ламинина образуют своеобразную структуру гетерополимеров, лежащую в основе формирования матрикса базальной мембраны и отвечающую за межклеточное взаимодействие с поверхностными рецепторами клеток (Батюшин и др., 2016). С этих позиций представляет интерес изучение закономерностей в содержании ламинина при экспериментальных моделях МС, в условиях иммобилизационного стресса, учитывая, что данные о его изменениях при патологических процессах различного генеза в литературных источниках единичны.

Таким образом, содержание фибронектина и ламинина в крови и ткани печени может послужить маркером формирующихся изменений в межклеточном матриксе на фоне эндотелиальной дисфункции, нарушения целостности гепатоцитов в условиях гиперкалорийного питания и стрессогенных воздействий.

Одним из препаратов, обладающим выраженным липолитическим и ангиопротекторным действием, является сулодексид (Вессел Дуэ Ф, Alfa Wassermann, Италия). Данный препарат состоит из гепариноподобной фракции гликозаминогликанов (80%) и дерматансульфата (20%) (Лапина и др., 2022). По данным литературы, этот препарат обладает тропизмом к стенке сосудов и адсорбируется в сосудистой эндотелии, накапливаясь в ней, тем самым способствуя восстановлению ее структурной и функциональной целостности за счет нормализации плотности отрицательного заряда базальной мембраны (Gaddi et al., 2020). Помимо этого, по работам ряда авторов, сулодексид способен благотворно влиять на систему синтеза оксида азота, основного вазодилатора и антиоксиданта в сосудистой стенке, усиливая его экспрессию и синтез, снижая вместе с тем экспрессию основного вазоконстриктора – эндотелина (Куркин и др., 2022). Гиполипидемическое действие препарата заключается в повышении активности липопротеинлипазы и усилении распада атерогенных фракций липопротеинов (Лапина и др., 2022).

Таким образом, применение препарата сулодексид может быть эффективно для нормализации обменных нарушений, характерных для МС, а также содержания биополимеров межклеточного матрикса соединительной ткани, одними из маркеров дисфункции которого могут быть адгезивные белки – фибронектин и ламинин.

Цель исследования. Изучить изменения в содержании основных неколлагеновых белков межклеточного матрикса – фибронектина и ламинина – при экспериментальном метаболическом синдроме, иммобилизационном стрессе, их сочетаниях, а также на фоне введения сулодексида.

Задачи исследования.

1. Провести верификацию экспериментальных моделей метаболического синдрома, основанных на фруктозообогащенной и высокожировой диетах.
2. Изучить влияние фруктозообогащенной и высокожировой диет, иммобилизационного стресса и их сочетания на основные показатели липидного и углеводного обмена.
3. Проанализировать влияние фруктозообогащенной и высокожировой диет, иммобилизационного стресса и их сочетания на содержание фибронектина и ламинина в крови и ткани печени крыс.
4. Оценить эффект введения сулодексида на содержание фибронектина и ламинина в крови и ткани печени крыс при экспериментальном метаболическом синдроме, вызванном фруктозообогащенной и высокожировой диетами.

Научная новизна. Впервые изучены особенности обмена основных неколлагеновых гликопротеинов межклеточного матрикса соединительной ткани – фибронектина и ламинина в крови и ткани печени крыс при экспериментальном метаболическом синдроме, иммобилизационном стрессе и их сочетании. Показано увеличение уровня фибронектина и ламинина в крови и ткани печени крыс при экспериментальном метаболическом синдроме, вызванном фруктозообогащенной и высокожировой диетами, и его сочетании с иммобилизационным стрессом. Вместе с тем, при «изолированной»

иммобилизации рост изучаемых гликопротеинов в крови животных не наблюдался за исключением ткани печени крыс, где содержание фибронектина достигло статистически значимых от контроля отличий на 35-й день опыта.

Подтверждено, что в условиях фруктозообогащенной и высокожировой диет наблюдается увеличение содержания показателей липидного и углеводного обмена в крови крыс с формированием инсулинорезистентности, в то время как при иммобилизационном стрессе и его сочетании с изучаемыми диетами была характерна лишь дислипидемия.

Впервые выявлены изменения в содержании исследуемых биополимеров межклеточного матрикса в условиях фруктозообогащенной и высокожировой диет на фоне введения препарата сулодексид. Показано, что сулодексид нормализует измененные показатели липидного и углеводного обмена как при фруктозообогащенной, так и высокожировой диетах. Одновременно, сулодексид снижает содержание фибронектина и ламинина в крови и ткани печени крыс.

Теоретическая и практическая значимость работы. Результаты исследования носят фундаментальный характер. Они дополняют представления о биополимерах межклеточного матрикса соединительной ткани и их содержании при экспериментальном метаболическом синдроме, вызванном фруктозообогащенной и высокожировой диетами, иммобилизационном стрессе, их сочетании и на фоне коррекции сулодексидом.

Полученные результаты позволяют расширить методы диагностики компонентов межклеточного матрикса в условиях высококалорийного питания, метаболического синдрома, воздействия стресс-факторов, актуальных на сегодняшний день, и связанных с ними нарушений структурной и функциональной целостности гепатоцитов. Фибронектин и ламинин могут явиться одними из маркеров таких изменений и помочь в разработке новых способов ранней диагностики стеатоза, стеатогепатита и фиброза печени (Федоров и др., 2014; Лазебник, 2017).

Методология и методы исследования. В ходе проведенного экспериментального исследования была использована общенаучная методология,

основанная на методах эмпирического анализа, общелогических и специфических методах. В данной работе были поставлены экспериментальные серии на крысах, при этом наблюдались метаболические изменения в изучаемых показателях. Анализировалось влияние экспериментальных моделей метаболического синдрома, двухчасовой иммобилизации и их сочетания на обменные процессы у крыс; изучалось влияние препарата сулодексид на измененные показатели метаболизма у экспериментальных животных.

В работе использованы специфические биохимические методы исследования для оценки биохимических показателей в крови и ткани печени крыс; методы иммуноферментного анализа для определения содержания неколлагеновых гликопротеинов и гормонов. Проводилась статистическая обработка результатов исследования с помощью непараметрического критерия Манна-Уитни для двух независимых групп и Краскела-Уоллиса для сравнения трех или более выборок, коэффициента корреляции Спирмена. Постановка всех экспериментальных серий выполнена в соответствии с требованиями нормативных и законодательных актов об этических принципах работы с лабораторными животными.

Положения, выносимые на защиту.

1. Экспериментальный метаболический синдром на основе фруктозообогащенной и высокожировой диет сопровождается дислипидемией, гипергликемией, гиперинсулинемией, инсулинорезистентностью. «Изолированный» иммобилизационный стресс и стресс в сочетании с метаболическим синдромом приводят к дислипидемии, но не влияют на развитие гипергликемии.
2. Фруктозообогащенная и высокожировая диеты, в том числе в сочетании с иммобилизационным стрессом вызывают повышение содержания фибронектина и ламинина в крови и ткани печени крыс. «Изолированный» иммобилизационный стресс влияет только на рост фибронектина в ткани печени крыс.

3. Введение сулодексида способствует нормализации показателей липидного и углеводного обмена и уровня фибронектина и ламинина в крови и ткани печени крыс, повышенных на фоне фруктозообогащенного и высокожирового питания.

Внедрение результатов исследования в практику. Результаты исследовательской работы внедрены в учебную практику кафедры биологической химии ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России, кафедры медицинской биохимии и биофизики ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина» Министерства науки и высшего образования РФ, кафедры иммунологии и клеточной биологии ФГБОУ ВО «Удмуртский государственный университет», а также используются в учебном процессе на кафедрах нормальной физиологии; гистологии, эмбриологии и цитологии; патологической физиологии и иммунологии ФГБОУ ВО «Ижевская государственная медицинская академия» Минздрава России.

Достоверность полученных результатов. Теоретические установки экспериментального исследования основаны на анализе существенного объема научной литературы по изучаемой тематике работы. Для исследования были выбраны соответствующие современные методы исследования, достаточное для поставленных задач количество экспериментальных животных. В расчете достоверности отличий полученных результатов использовались адекватные непараметрические методы статистики. Наблюдаемая воспроизводимость данных исследования и сопоставимые с другими авторами результаты указывают на правильность сформулированных выводов. Положения, выносимые на защиту, заключительные выводы соответствуют поставленной цели и задачам.

Личный вклад автора заключается в непосредственном участии в выполнении всех этапов исследования. Формулировка научной проблемы и основной идеи, планирование научного исследования, анализ полученных результатов осуществлялись совместно с научным руководителем, доктором медицинских наук, профессором Е.Г. Бутолиным. Обзор литературы, проведение лабораторных исследований, статистическая обработка полученных результатов,

оформление диссертационной работы проводились соискателем самостоятельно. Публикации результатов работы в научной литературе, представление их в виде докладов на конференциях осуществлялись автором лично.

Апробация работы. Материалы научной работы были доложены на LXXX Научно–практической конференции с международным участием «Актуальные вопросы экспериментальной и клинической медицины – 2019» (Россия, Санкт-Петербург, апрель 2019); Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Медицинская биохимия – от фундаментальных исследований к клинической практике. Традиции и перспективы» (Россия, Тюмень, октябрь 2019); международном круглом столе «Питание и метаболический синдром» (Россия, Екатеринбург, ноябрь 2022); совместном научном заседании кафедр клинической биохимии и лабораторной диагностики, нормальной физиологии, патофизиологии, биохимии ФГБОУ ВО «Ижевская государственная медицинская академия» Минздрава России (Ижевск, 2022).

Публикации. По материалам диссертационной работы опубликовано 10 научных работ, из них 7 работ в журналах, рецензируемых ВАК Минобрнауки РФ, в том числе 3 работы индексируемых Scopus и Web of Science. 3 печатные работы опубликованы в материалах LXXX научно-практической конференции с международным участием «Актуальные вопросы экспериментальной и клинической медицины – 2019»; в сборнике научных трудов всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Медицинская биохимия – от фундаментальных исследований к клинической практике. Традиции и перспективы» и в сборнике тезисов VI Международной конференции «Современные синтетические методологии для создания лекарственных препаратов и функциональных материалов (MOSM 2022)».

Структура и объем диссертации. Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы, главы с материалами и методами исследования, главы с результатами исследований и их обсуждением, заключения, выводов и списка литературы. Работа изложена на 170 страницах печатного текста,

содержит 31 таблицу и 38 рисунков. Список литературы включает 240 источников (157 на русском и 83 на иностранном языках).

Благодарности. Автор выражает искреннюю благодарность специалистам, оказавшим большую помощь в выполнении диссертации: заведующей кафедрой гистологии, эмбриологии и цитологии ФГБОУ ВО «Ижевская государственная медицинская академия» Минздрава России, доктору медицинских наук, профессору Г.В. Шумихиной и сотрудникам кафедры, принимавшим участие в приготовлении, микроскопии и консультировании гистологических препаратов.

ГЛАВА 1 Обзор литературы

1.1 Межклеточный матрикс соединительной ткани: структура, метаболизм, биологическая роль

Соединительная ткань является основной тканью в организме, участвующей во взаимодействии всех остальных тканей и органов. Для нее характерно значительное количество межклеточного вещества и наличие особых биомолекул, которые формируют характерные специфические структуры и ответственны за выполнение основных биологических функций (Халимова, 2017). К соединительной ткани организма относятся: лимфа, кровь, ретикулярная, пигментная, жировая, плотная, рыхлая соединительная ткань, а также хрящевая, костная, эластичная ткани. Необходимо отметить функциональное разнообразие соединительной ткани. Например, лимфа, кровь в основном обеспечивают питание клеток организма, поэтому их часто называют трофическими тканями. Они же выполняют достаточно значимую роль в борьбе всего организма с инфекцией или чужеродными агентами. Некоторые клетки крови способны к уничтожению бактерий с помощью фагоцитоза и последующему синтезу антител. Остальные типы соединительной ткани осуществляют в основном механическую функцию – построение различного рода опорных систем организма, костей, хрящей, сухожилий и связок.

По современным представлениям, соединительная ткань в организме составляет более 50 % всей массы тела. «Она развивается из мезенхимы и выполняет репаративную, трофическую, опорно-двигательную, защитную, структурообразующую функции» (Хрушов, 1984). Нарушения и изменения в структуре и нормальном функционировании соединительной ткани могут привести к патологии и изменению функциональной активности не только опорно-двигательного аппарата в целом, но и любого органа в отдельности (Потехина, 2015).

По предназначению и строению выделяют следующие типы соединительной ткани: волокнистую, хрящевую, костную, специализированную, плотную неспециализированную, патологическую (Слущкий, 1969; Старостин и др., 1984; Гунин, 2017; Никонорова и др., 2022).

Отличительной и характерной особенностью соединительной ткани является небольшое число клеток – резидентов (гладкомышечные, тучные клетки, фибробласты, остеобласты и хондробласты) и клеток-мигрантов (лимфоциты, нейтрофилы, макрофаги), большое количество межклеточного матрикса, наличие волокон (Шкурупий и др., 2017). Образование соединительной ткани, как и любой другой, есть результат специфического взаимодействия клеточных комплексов, связанных с внутренним цитоскелетом и межклеточным матриксом.

Межклеточный матрикс соединительной ткани – это сложный ансамбль различных биологических макромолекул, образующих удерживающий каркас клеток и соответствующих тканей (Фаллер, 2017). Он состоит из волокон и основного (аморфного) вещества. Волокнистые структуры представлены такими белками как эластин, ретикулин, различные виды коллагена. В состав аморфного вещества входят неволокнистые образования – гликозаминогликаны (ГАГ), обычно связанные с белками с образованием протеогликанов (ПГ), адгезивные белки и гликопротеины (ГП) (фибронектин, ламинин, витронектин, тенасцин, остеонектин) (Слущкий, 1969; Серов, 1981; Фаллер, 2017).

Функции межклеточного матрикса достаточно разнообразны. ГП, ПГ, коллаген, входящие в его состав, играют значительную роль в модуляции морфогенеза, а также выполняют трофическую функцию и поддерживают рост и дифференцировку клеток (Ступникова и др., 2018; Суховских, 2018). Взаимодействуя с клеточными рецепторами – интегринами – белки внеклеточного матрикса являются активаторами факторов роста, высвобождаемых при повреждении тканей, инициаторами межклеточных взаимодействий, участвуют в процессах передачи сигналов, апоптоза (Штыркова, 2017).

Помимо обеспечения межклеточных контактов, внеклеточный матрикс участвует в образовании механически прочных высокоспециализированных структур, таких как базальные мембраны, сухожилия, связки, кости, зубы, хрящи и суставы, обеспечивая тем самым скольжение и движение в них. Кроме этого, он входит в состав фильтрующих мембран в почках, принимает непосредственное участие в процессах эмбрионального развития, формируя пути миграции клеток, вдоль которых они могут перемещаться.

С точки зрения биохимии «основное (аморфное) вещество межклеточного матрикса представляет собой своеобразную молекулярную решетку, состоящую преимущественно из гликопротеиновых комплексов, ячейки которой заполнены коллоидным веществом» (Потехина, 2016). Данная субстанция обладает способностью изменять агрегатное состояние и структурную целостность внеклеточного матрикса в зависимости от воздействия различных биологически активных веществ, включая серотонин, гистамин, и в том числе эндокринных и нервных медиаторов (Потехина, 2016).

Белки межклеточного матрикса секретируются в основном расположенными в нем клетками – фибробластами. Фибробласты являются преобладающими клетками соединительной ткани и играют ключевую роль в ее формировании (Schuster et al., 2021). По данным авторов, основными источниками фибробластов наряду с малодифференцированными фибробластами являются эпителиально-мезенхимальный переход и особое образование из прогениторных клеток (Romano et al., 2022). Основным источником принято считать малодифференцированные фибробласты. Под действием стимуляции они могут создавать новые фибробласты, основная роль которых заключается в образовании белков межклеточного матрикса, в частности коллагена (Штыркова, 2017).

Коллаген и построенные из него коллагеновые волокна являются наиболее распространенными структурными белками основного вещества соединительной ткани. Коллаген – это белок в полном его понимании, вопрос о его гомогенности или гетерогенности на сегодняшний день является спорным. Коллагеновое волокно в свою очередь представляет собой гетерогенную структуру и содержит в

своем составе помимо молекул коллагена, соединенных интермолекулярными связями в сеть молекул тропоколлагена, другие химические неколлагеновые компоненты, необходимые для его синтеза (Слущкий, 1969). ГАГ и протеогликаны взаимодействуют с молекулами коллагена и участвуют в формировании своеобразной сети коллагеновых фибрилл (Gulevsky et al., 2020).

Общеизвестно, что 50 % коллагена находится в скелете, 40 % – в коже и 10% – во внутренних органах (Слущкий, 1969). По данным литературы, «разрушение коллагеновых волокон в межклеточном веществе происходит под воздействием гидролаз, которые секретируются в основном макрофагами и нейтрофилами. Продукты гидролиза высвобождаются в форме пептидсвязанного гидроксипролина, свободного и белковосвязанного гидроксипролина» (Шараев и др., 2005). Количество образовавшегося свободного гидроксипролина может дать информацию о скорости распада коллагена, пептидсвязанного гидроксипролина – о скорости его метаболизма и фибриллогенеза в соединительной ткани в целом, а белковосвязанный гидроксипролин в свою очередь отражает общую реакцию организма на протекающее воспаление (Бутолин, 1993).

Дисбаланс между синтезом коллагена и его деградацией приводит к различным патологическим изменениям в соединительной ткани (Карякина и др., 2019). Так, его избыточный синтез и, соответственно, образование «лишних» коллагеновых волокон вызывает развитие фиброза и характеризуется выраженным разрастанием рыхлой волокнистой соединительной ткани, которая может переходить в плотную при различных хронических воспалительных процессах (Lepedda et al., 2021). Аналогичные явления наблюдаются в случае заживления ран при хроническом воспалении, вызывающем усиление пролиферации продуцирующих коллаген фибробластов. Помимо этого, факторами, приводящими к развитию фиброза, могут быть хронические токсины, микробная инвазия и некоторые другие. Если воздействие повреждающего фактора устраняется вовремя, дальнейшего ремоделирования фиброзной ткани можно избежать, и начнется ее инволюция. Если воздействие повреждающего фактора переходит в хроническое, фиброз становится необратимым и

прогрессирует до склероза или цирроза. Острое воспаление, которое возникает на ранних этапах заживления ран, наоборот, может ускорять деградацию или частичное разрушение коллагена (Слуцкий, 1969).

В. В. Серов и А. Б. Шехтер в 1981 году предложили «теорию регуляции роста соединительной ткани на основе обратной связи между распадом и синтезом коллагена» (Серов, Шехтер, 1981). Согласно данной теории «механизм ауторегуляции состоит из двух этапов. На первом этапе раневого процесса макрофаги путем фагоцитоза уничтожают продукты разрушения коллагена. Затем они начинают продуцировать фиброгенетический фактор, который усиливает синтез фибробластов и коллагена. На втором этапе образованные коллагеновые волокна воздействуют на мембраны фибробластов, угнетая биосинтез коллагена и усиливая его распад, предотвращая дальнейшее разрастание соединительной ткани, приводя к ее инволюции» (Серов, Шехтер, 1981).

В настоящее время всего известно порядка 19 различных типов коллагена. Все типы коллагена имеют отличия в первичной структуре белковой молекулы, распространенности в организме и в выполняемых функциях. Наиболее часто встречаются коллагены 1-го, 2-го и 3-го типа, они составляют 95% от общего коллагена в организме и являются структурными компонентами тканей, испытывающих повышенную механическую нагрузку (Карякина и др., 2019; Lepedda et al., 2021).

В процессе развития организма наблюдается определенная динамика в соотношении разных типов коллагена в соединительной ткани. В разном возрасте ткань может содержать как один тип коллагена, так и несколько, причем в разных количествах (Quaglino et al., 1993). Это определяется той ролью, которую играет коллаген в конкретный возрастной период в определенной ткани или органе. Кроме того, наблюдаются возрастные изменения в физико-химических свойствах коллагена. С возрастом он становится более жестким, устойчивым к действию специфических и неспецифических протеаз, но вместе с тем менее растворимым и эластичным (Quaglino et al., 1993; Shin et al., 2019). При этом фракции нейтрально-растворимого незрелого коллагена уменьшаются, а фракция коллагена, который

нерастворим даже в сильных химических растворах, увеличивается (Sipila et al., 2018).

Таким образом, коллаген, являясь преобладающим фибриллярным белком экстрацеллюлярного матрикса, выполняет в организме ряд важных функций. Во-первых, основная функция – опорная — определяет механические свойства тканей, зависящие от качественного состава белковой цепи коллагена и количества коллагеновых волокон. Во-вторых, коллаген участвует в регуляции морфогенеза тканей, свертывающей системы крови, воспалительных процессов. Все это способствует нормализации функциональной активности органов и организма в целом (Потехина, 2016).

Ретикулиновые волокна являются еще одним видом фибриллярных белков основного вещества соединительной ткани. Волокна имеют небольшой диаметр, порядка 2 мкм. Их основу составляет коллаген, но по своей структуре они более тонкие, ветвистые, образуют трехмерные сети. Разновидность ретикулиновых волокон – волокна дефинитивного характера – не превращаются в коллагеновые, сохраняя свои гистохимические особенности. Другие же – преколлагеновые – преобразуются в коллаген (Быков, 2022). Ретикулиновые волокна вырабатываются фибробластам, ретикулярными и жировыми клетками, гладкомышечными, а также клетками сердечной мышцы, основной их функцией считается опорная (Быков, 2022).

Эластин – основной белковый компонент, входящий в состав эластических волокон, составляет более 90% их массы. Эластин синтезируется фибробластами, хондробластами и гладкомышечными клетками. Он образует первый или молекулярный уровень организации эластического волокна. Второй уровень или надмолекулярный представлен эластиновыми протофибриллами, когда молекулы эластина соединяются в цепочки. Третий уровень – образование микрофибрилл из протофибрилл в сочетании с гликопротеином фибриллином. Четвертый уровень организации или зрелый – волоконный. Эластические волокна в зрелом состоянии содержат по периферии молекулы микрофибрилл и связанные белки, а в центре – 90 % аморфного компонента, состоящего из эластина. Волокна эластина придают

упругость и эластичность органам и распространены в основном в тканях и органах, подверженных деформации под действием нагрузок, с полным или частичным восстановлением формы после отмены нагрузки (Слущкий, 1969; Потееаев и др., 2021). Молекулы эластина располагаются в волокнах беспорядочно, что и определяет их эластические свойства (Елисеев, 1961).

По мнению Елисеева В.Г. (1961г.), коллагеновые волокна являются предшественниками эластических. Это связано с тем, что при развитии эмбриона, а также при заживлении раневых поверхностей вначале появляются коллагеновые волокна, и лишь позднее эластические (Елисеев, 1961).

Эластические волокна не образуют пучки и содержатся в соединительной ткани в меньшем количестве, чем коллагеновые, в основном в участках с повышенной подвижностью (Потееаев и др., 2021).

К основным функциям эластических волокон авторы относят следующие:

1. формирование архитектоники ткани;
2. обеспечение обратимой деформации ткани (возвращение к первоначальной структуре после отмены воздействия) (Потееаев и др., 2021).

Волокна коллагена, эластина и ретикулина погружены в гидратированный полисахаридный гель основного вещества, который образуют молекулы ГАГ и ПГ. Водная фаза геля обеспечивает передвижение различных веществ между клетками тканей и кровяным руслом. Волокна же способствуют укреплению и упорядочиванию матрикса.

Межклеточное вещество соединительной ткани содержит множество различных соединений органического и неорганического происхождения. От их качественного и количественного состава зависит консистенция ткани. Например, кровь и лимфа содержат плазму – жидкое межклеточное вещество. Матрикс хрящевой ткани имеет структуру геля, а матрикс костной ткани, волокон сухожилий представлен твердым веществом (Слущкий, 1969; Минаев и др., 2021).

Таким образом, внеклеточный матрикс является сложной физически и химически связанной сетью, состоящей из всех обозначенных структур. Эта основа необходима для организации клеток в пространственном расположении,

для их взаимодействия с окружающей средой, а также для осуществления клеточной регуляции и выделения отдельных тканевых пространств друг относительно друга. Воспринимая сигналы об окружающей среде посредством межклеточного матрикса, клетки тем самым способствуют изменению его качественного и количественного состава как результат ответной реакции, что свидетельствует о двунаправленном взаимодействии между ними (Мелконян и др., 2019).

1.1.1 Неколлагеновые белки межклеточного матрикса

К неколлагеновым белкам соединительной ткани относятся все белки межклеточного матрикса помимо коллагена, ретикулина и эластина. А именно протеогликаны (ПГ) и гликопротеины (ГП) (Старостин и др., 1984).

Одними из наиболее изученных компонентов ПГ являются гликозаминогликаны (ГАГ) – высокомолекулярные углеводы межклеточного матрикса соединительной ткани. ГАГ являются составной частью ПГ и составляют 95 % веса этой молекулы, остальные 5 % веса занимает белок (Ступникова и др., 2018; Суховских и др., 2018). В их состав обязательно входят остатки глюкозамина либо галактозамина, а также гексуроновая и идуроновая кислоты. ГАГ играют значимую роль в обмене ионов, дифференцировке тканей, иммунных реакциях. Они принимают непосредственное участие в транспортировке воды в тканях, активно связывают интерстициальную воду во всех межклеточных пространствах и повышают тем самым сопротивление сжатию большинства тканей (Суховских, 2018).

Гиалурионовая кислота является одной из разновидностей ГАГ. Она представляет собой биополимер, являющийся главным компонентом внеклеточного матрикса, который заполняет межклеточное пространство. Процентное содержание белка, связанного с гиалурионовой кислотой, в молекуле ПГ не превышает 1-2% (Хисматуллина, 2012). Наиболее значимой функцией гиалурионовой кислоты является связывание воды, в результате чего

межклеточное вещество приобретает своеобразную желеобразную структуру, поддерживающую клетки. Помимо этого, немаловажна ее регуляторная роль в обеспечении проницаемости тканей (Хисматуллина, 2012). Молекулы гиалуроновой кислоты по своей структуре гидрофильные и имеют отрицательный заряд за счет наличия в их структуре карбоксильных групп. Распад гиалуроновой кислоты в тканях происходит под действием лизосомальных ферментов, таких как гиалуроноглюкуронидаза и гиалуроноглюкозаминидаза, суммарная активность которых называется гиалуронидазной активностью (Кузнецова, 2009; Суховских и др., 2018).

В межклеточном матриксе присутствуют и сульфатированные формы ГАГ – хондроитин-4-сульфат и хондроитин-6-сульфат. Они имеют схожее строение, отличие лишь заключается в расположении сульфатной группы, в связи с чем указанные ГАГ различаются по физико-химическим свойствам даже в отношении разных типов соединительной ткани (Kondo et al., 1971; Stanescu et al., 1973; Хисматуллина, 2012; Суховских и др., 2018).

Дерматансульфат чаще всего встречается в коже. Его отличие от хондроитинсульфата заключается в меньшей чувствительности к действию гиалуронидазы. Еще одним отличием является наличие в составе дерматансульфата идурановой кислоты вместо глюкуроновой у хондроитинсульфата. Биологическая роль этого ГАГ заключается в стабилизации коллагеновых волокон (Хисматуллина, 2012).

К ГАГ относится и гепарин, известный в первую очередь как антикоагулянт. Его синтез осуществляется тучными клетками (Хисматуллина, 2012). В матриксе гепарин играет роль структурообразующей среды. Он представлен во многих тканях организма человека, участвует в регуляции адаптивных, патологических, гомеостатических процессов, а также способен к образованию комплексов с различными веществами, покидая одни образующиеся комплексные соединения и формируя другие (Кондашевская, 2021). В результате изменяется активность связанных с гепарином веществ, зависящая от сродства и концентрации обоих составляющих.

Гепарин способен регулировать поведение факторов роста, хемокинов, биомолекул экстрацеллюлярного матрикса, содержание ионов кальция. В результате чего происходит восстановление клеточных мембран, что нормализует функционирование отдельных тканей и органов (Кондашевская, 2021). Кроме того, гепарин способствует инициации ангиогенеза и пролиферации клеток, особенно при воспалительных реакциях без явных системных проявлений. Однако при выраженных симптомах он ингибирует ангиогенез, вместе с тем обеспечивая регенерацию и миграцию клеток. Помимо противосвертывающей функции, гепарин обладает антивирусными, противовоспалительными, противовопухолевыми, антигипертензивными свойствами (Кондашевская, 2021).

Одними из важных компонентов межклеточного матрикса являются адгезивные белки. Эти белки способны связывать все его составляющие, взаимодействовать с мембранными рецепторами и обеспечивать тем самым фиксацию клеток. Наибольшее значение в данной функции имеют обнаруженный на сегодняшний день в базальных мембранах ламинин и широко распространенный в соединительной ткани гликопротеин фибронектин.

Фибронектин – адгезивный гликопротеин неколлагеновой природы, присутствующий в экстрацеллюлярном матриксе, плазме и на поверхности отдельных клеток. Он содержит в своем составе 4-5% углеводов в форме олигосахаридов. Фибронектин способствует как клеточным взаимодействиям, так и взаимосвязи клеток с внеклеточным матриксом, а также активирует хемотаксис макрофагов (Ступникова и др., 2018). Помимо этого, данный гликопротеин принимает непосредственное участие в формировании и восстановлении тканей, служит строительным материалом для поддержания и управления тканевой организацией и составом межклеточного матрикса (Dalton et al., 2021; Klavert et al., 2021; Patten et al., 2021).

В организме фибронектин широко распространен. Он располагается на поверхности мембран клеток, которые синтезируют данный белок: фибробластов, эндотелиоцитов, макрофагов, гепатоцитов и других. Кроме того, фибронектин содержится как в межклеточном пространстве, так и во многих биологических

жидкостях (синовиальной, цереброспинальной, амниотической, грудном молоке, плазме, моче и сперме) (Matlin et al., 2017).

Множество функций данного гликопротеина обусловлено наличием в его структуре нескольких функциональных доменов. Такая структура обеспечивает возможность строго специализированных взаимодействий. Каждый домен включает по три многократно повторяющихся пептидных модуля. Всего насчитывается порядка 50 функциональных блока, которые кодируются одним экзоном в гене фибронектина.

Молекула фибронектина состоит из двух полипептидных цепочек (мономеров), имеющих вытянутую форму, с молекулярной массой около 500 кДа. Каждая полипептидная цепь синтезируется на рибосомах шероховатого эндоплазматического ретикулума и включает порядка 2500 аминокислотных остатка и состоит из 8 доменов. Для молекулы фибронектина характерна специфическая последовательность аминокислот – -аргинин-глицин-аспарагиновая кислота-серин-, которая является основной областью его взаимодействия с клетками. Вновь образующиеся мономеры содержат модуль, обеспечивающий связывание фибронектина с клеточными рецепторами интегринами, а значит и с клетками (Васильев и др., 2022). Помимо этого, на молекуле фибронектина имеются центры связывания с коллагеновыми волокнами, взаимодействие с которыми усиливается в присутствии ГАГ и ПГ (Рисунок 1).

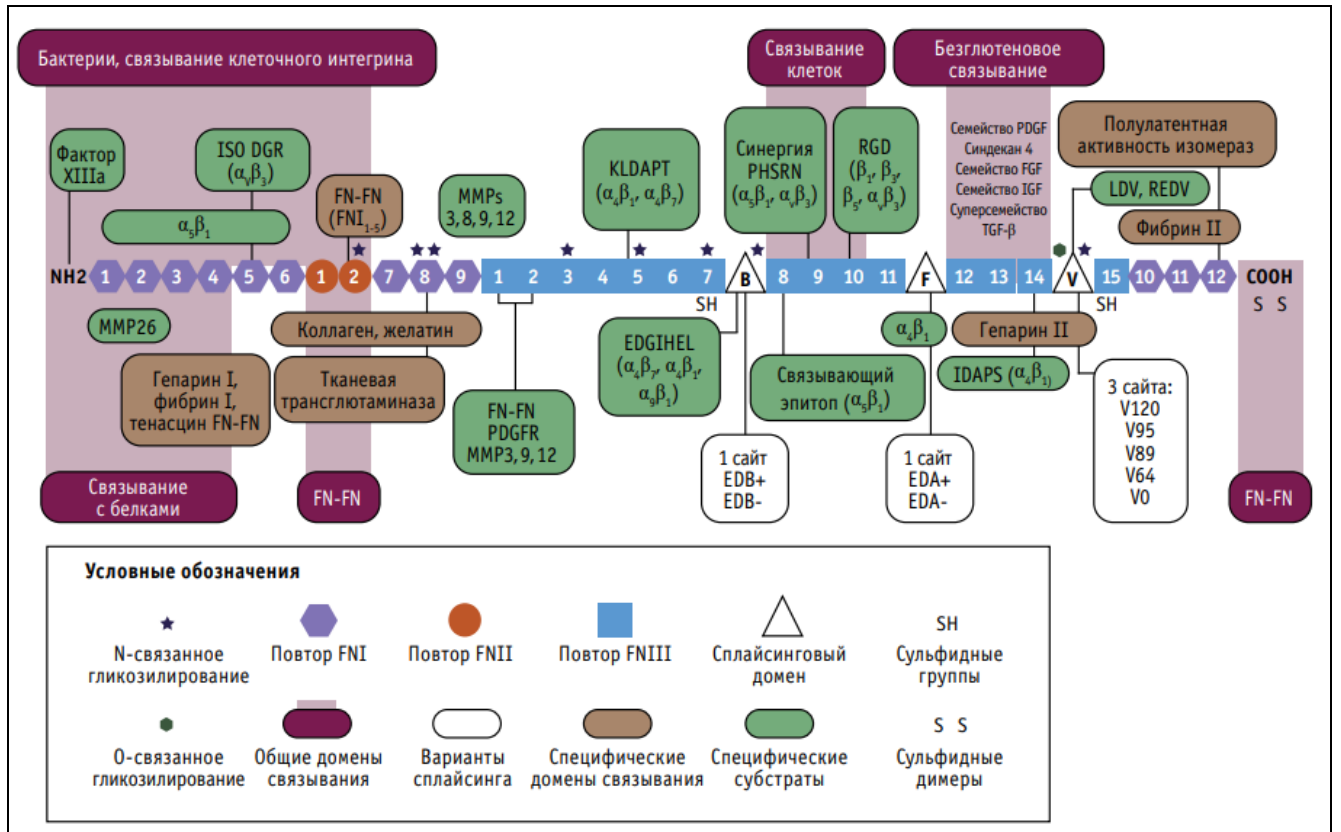


Рисунок 1 – Схематическое изображение мономерной структуры фибронектина, сайтов гликозилирования и различных вариантов сплайсинга (Васильев и др., 2022)

При дальнейшем прохождении через эндоплазматический ретикулум фибронектин-мономер подвергается посттрансляционным модификациям: фосфорилированию, сульфатированию и гликозилированию. Это придает молекуле дополнительную структурную сложность и способствует усилению миграции клеток в процессах регенерации тканей (Долгих и др., 2018; Васильев и др., 2022). Ранее установлено, что фибронектин без углеводных остатков уменьшает клеточную миграцию при восстановлении целостности тканей после повреждения (Hsiao et al., 2017).

У людей существует около 20 изоформ фибронектина, которые способны мигрировать из биологических жидкостей в отдельные ткани (Васильев и др., 2022).

Основная часть фибронектина, циркулирующего в плазме, синтезируется в печени. Это плазменный или растворимый фибронектин. Его содержание возрастает после травмирования сосудистой стенки, воспаления и при таких заболеваниях как атеросклероз, инсульт, ишемическая болезнь сердца (Долгих и др., 2018; Васильев и др., 2022).

Клеточный или нерастворимый фибронектин, находящийся в экстрацеллюлярном матриксе соединительной ткани и эндотелии кровеносных сосудов, вырабатывается клетками эндотелия, фибробластами и клетками гладкой мышечной ткани. Составляет 1-2% от общего количества и располагается в виде фибриллярных сетей на поверхностях клеток (Васильев и др., 2022; Singh et al., 2010). Согласно некоторым авторам, тканевой фибронектин входит в состав базальной мембраны многослойного плоского эпителия, собственной пластинки слизистой оболочки рта, часто располагается в межклеточном пространстве клеток костной ткани, стенках кровеносных сосудов, периосте и периодонтальной связке (Dean et al., 1997; Lemańska-Perek et al., 2019; Militi et al., 2019; Moretti et al., 2022).

Клеточная и внеклеточная формы фибронектина содержат разный количественный и качественный состав углеводных остатков, которые определяют его устойчивость к действию протеаз и электрофоретическую подвижность. Обе формы фибронектина выполняют различные и дискретные во времени роли по восстановлению тканей, обладают четкой структурой и скоростью сборки в трехмерные матрицы (Klavert et al., 2021; Васильев и др., 2022).

Функции фибронектина достаточно разнообразны. В литературе имеются отдельные публикации о его непосредственном участии в процессах фагоцитоза, регенерации, воспаления, регуляции межклеточных взаимодействий и свертываемости крови (Серов, Шехтер, 1981; Афанасьев и др., 2016; Черкасов и др., 2020; Васильев и др., 2022). Фибронектин, обладая адгезивными свойствами, совместно с интегринами принимает прямое участие в формировании и созревании волокон коллагена, поддерживая гомеостаз межклеточного матрикса

(Theocharis et al., 2019; Печерина и др., 2020). Он взаимодействует со многими белками внеклеточного матрикса и играет ключевую роль в образовании его структуры (Долгих и др., 2018; Васильев и др., 2022). Существует мнение, что при сердечно-сосудистых заболеваниях активация отдельных протеаз может привести к разобщению интегринов и разрушению гликопротеинов, вследствие этого возможна потеря полноценных взаимодействий клеток с матриксом (Taddei et al., 2012).

Важная роль фибронектина заключается в репарации тканей после повреждения за счет миграции, роста и пролиферации клеток. Ранее было показано, что формирование фиброза в камерах сердца после перенесенного инфаркта миокарда обусловлено накоплением отдельных компонентов внеклеточного матрикса, в частности фибронектина. Причем повышение его содержания в крови зависит от степени выраженности фиброза конкретного органа (Печерина и др., 2020). Необходимо отметить, что одновременное преобладание пептидно-связанной формы гидроксипролина над свободной может свидетельствовать об активном синтезе коллагена и его участии в процессе репарации совместно с фибронектином с формированием фиброза (Попов и др., 2019).

Таким образом, фибронектин в его морфологическом и функциональном отношении, изменении в содержании при различного рода патологических процессах требует активного изучения.

Ламинин – адгезивный неколлагеновый ГП, входящий в состав базальной мембраны. Расположен под однослойными структурами – эпителием, мезотелием и эндотелием (Matlin et al., 2017; Pozzi et al., 2017).

Существует большое разнообразие пространственных форм ламинина (Hohenester, 2019). В настоящее время у млекопитающих идентифицировано 16 изоформ (Батюшин и др., 2016). По ранее проведенным исследованиям было установлено, что «классическая форма ламинина, выделенная из опухолевых клеток Энгельбрета-Холма-Роя, состоит из сшитого дисульфидом тримера: $\alpha 1$ (400 000 Да), $\beta 1$ (210 000 Да) и $\gamma 1$ (200 000 Да). Эта форма способна связываться с

интегринами $\alpha 1\beta 1$, $\alpha 2\beta 1$, $\alpha 3\beta 1$, $\alpha 6\beta 1$ и $\alpha 7\beta 1$, а также с интегринами $\alpha v\beta 3$ и $\alpha II\beta 3$. Существует ряд других форм ламинина, состоящих из комбинаций цепей $\alpha 1$, $\alpha 2$, $\alpha 3$, $\alpha 4$ или $\alpha 5$, $\beta 1$, $\beta 2$ или $\beta 3$ и $\gamma 1$ или $\gamma 2$ » (Aumailley et al., 2013; Hohenester, 2019). Номенклатура названий ламинина основана на номерах цепей, входящих в его состав. Например, ламинин, «содержащий $\alpha 5$ -, $\beta 2$ - и $\gamma 1$ -цепи, носит название ламинин-521» (Aumailley et al., 2013; Hohenester, 2019) (Рисунок 2).

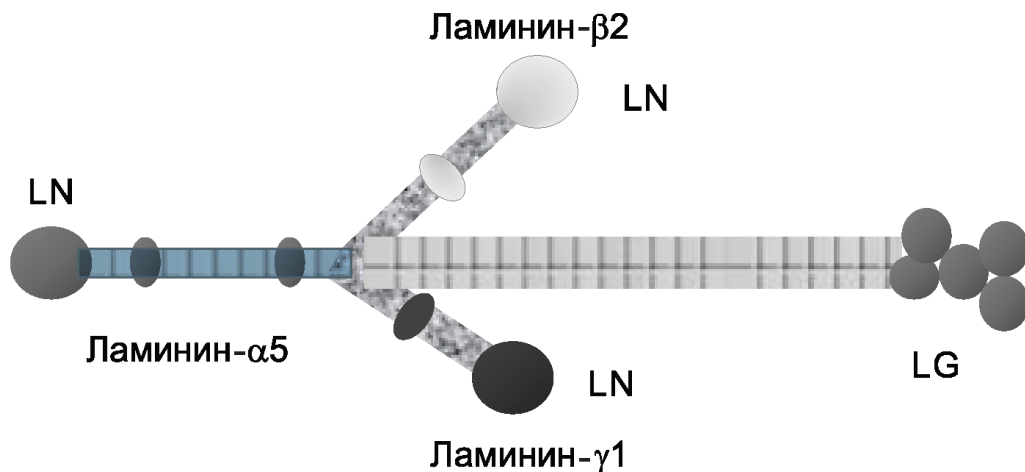


Рисунок 2 – Изоформа ламинина-521

Примечание: LG, LN – домены связывания с интегрином (Батюшин и др., 2016)

Большинство форм ламинина способствует росту и дифференцировке клеток (Hohenester, 2019). Ранее было изучено, что структурные домены ламинина, имея специфические центры связывания, могут взаимодействовать с клетками эндотелия и стимулировать тем самым ангиогенез, регулируя отдельные функции клеток (Yao, 2017). Ламинин в той или иной степени способен повлиять на подвижность, развитие, морфологию и дифференцировку клеток, изменять клеточное поведение, обеспечивая этим тканевой гомеостаз (Yao, 2017; Barros et al., 2020).

Ламинин способен к взаимодействию с большинством структурных компонентов базальной мембраны, такими как фибронектин, нидоген, коллаген и прочими (Юзефович и др., 2017; Монахова и др., 2020). Связываясь с интегрином, ламинин активирует его специфический цитоплазматический участок, в

результате чего происходит активация локальных адгезивных киназ (Chen et al., 2020). Согласно данным ряда авторов, ламинины могут связываться и с неинтегриновыми рецепторами, такими как дистрогликановый, эластиновый рецептор и другими (Батюшин и др., 2016; DiGiacomo et al., 2016; Cloutier et al., 2019).

Таким образом, ламинин является важным компонентом базальной мембраны. Многообразие структурных изоформ ламинина, связь с интегриновыми и неинтегриновыми рецепторами определяет его функциональный потенциал и взаимодействие с клеточными элементами. Это может послужить основой для более глубокого исследования данного гликопротеина.

Еще одним из представителей гликопротеинов межклеточного матрикса является сульфатированный гликопротеин нидоген. Нидоген располагается преимущественно в базальной мембране, способен образовывать достаточно плотный, нековалентно связанный комплекс с ламинином. Сила связывания нидогена с ламинином гораздо больше, чем с коллагеном. Данный белок состоит из одной полипептидной цепи, которая содержит три глобулярных домена. В одном из его доменов находится центр связывания ламинина, в другом домене расположен центр связывания коллагена. Таким образом, нидоген может участвовать в формировании тройных комплексов – ламинин-нидоген-коллаген, кроме того, служить связывающим мостом между отдельными компонентами межклеточного вещества. Помимо этого, нидоген обладает способностью присоединяться к поверхности клеток, имея в своей структуре особое сочетание аминокислот (Северин, 2020).

Наряду с адгезивными белками в межклеточном матриксе присутствуют неадгезивные ГП такие как остеоонектин, тенасцин и тромбоспондин (Северин, 2020).

Остеонектин состоит из четырех доменов, к двум из них присоединяются ионы кальция. Является кислым белком, содержит много остатков аминокислоты

цистеин. Было показано, что он обладает способностью ингибировать рост клеток эндотелия сосудов (Северин, 2020).

Тенасцин или антиген мышечных сухожилий является олигомерным ГП, содержит в своем составе две субъединицы, соединенные дисульфидной связью. Считается, что по своей структуре он похож на осьминога, имеющего 6 «рук», отходящих от центра (Потехина, 2015; Северин, 2020). Благодаря этому, тенасцин может связываться с довольно большим количеством лигандов – молекулами межклеточного матрикса.

Для тенасцина характерны и адгезивные, но в большей степени антиадгезивные свойства. Его синтез происходит в разных тканях эмбриона, причем наиболее интенсивно – в нервной ткани и в местах эпителиально-мезенхимальных контактов. Для зрелых тканей характерно небольшое число молекул тенасцина, в основном они располагаются в хрящах и сухожилиях. Наряду с этим, наблюдается увеличение его синтеза в заживающих ранах (Северин, 2020).

Тромбоспондин, как и остальные белки внеклеточного матрикса, способен взаимодействовать с такими лигандами как фибронектин, коллаген, протеогликаны, ламинин, ионы кальция. Для него характерна двойственность функций. Так, свои адгезивные свойства тромбоспондин преимущественно проявляет в клетках роговицы глаза и тромбоцитах, а в эндотелиальных клетках и фибробластах он ведет себя как антиадгезивный белок (Серов и др., 1995).

Таким образом, межклеточный матрикс соединительной ткани и его составляющие являются не только механическим каркасом, к которому прикрепляются клетки, но также и адгезивным субстратом, благодаря которому обеспечивается взаимодействие между клетками, а также передача сигнальной информации с помощью множественных молекулярных и биохимических взаимодействий (Мелконян и др., 2019).

1.1.2 Морфофункциональные особенности межклеточного матрикса печени

Печень является паренхиматозным органом, поэтому соединительной ткани в ней содержится не так много. Тем не менее, она играет ключевую роль в формировании структуры органа. Соединительная ткань печени состоит из клеточных элементов и межклеточного вещества. В состав межклеточного матрикса соединительной ткани печени входят коллагеновые, эластические и ретикулиновые волокна, между которыми располагаются протеогликаны и гликопротеины (Киселева и др., 2020). К клеточным элементам соединительной ткани печени наряду с фибробластами относятся: лейкоциты, тучные клетки, клетки Купфера, липоциты. В синусоидальных пространствах наряду с коллагеном содержатся тенасцин, ламинин и фибронектин, которые способствуют нормальному функционированию эндотелиальных клеток, росту и дифференцировке гепатоцитов, а также их взаимодействию между собой и циркулирующей плазмой (Косых и др., 2010).

Количество соединительнотканых элементов может увеличиваться при воспалительных процессах различной этиологии, приводя к формированию фиброза или даже цирроза печени (Косых и др., 2010; Киселева и др., 2020). Рядом исследователей проведено определение содержания компонентов соединительной ткани в печени – коллагеновых, неколлагеновых белков, гликопротеинов – на фоне экспериментальной патологии печени путем введения тетрахлорметана. По результатам эксперимента наблюдалось увеличение всех исследуемых показателей, причем у крыс с хроническим гепатитом нарушения в соединительной ткани почти не подвергались регрессу, а для животных с выраженным циррозом была характерна стабилизация возникшего патологического процесса (Косых и др., 2010; Киселева и др., 2020).

Сывороточные уровни белков межклеточного матрикса отражают взаимосвязь между фиброзом печени и фибролизом (Кулебина и др., 2021). Так, гиалуроновая кислота является наиболее точным маркером выраженного фиброза при неалкогольном стеатогепатите (Mahmoud et al., 2016; Plevris et al., 2018;

Rewisha et al., 2021). Наряду с этим, продукт распада коллагена - N-терминальный пептид проколлагена III – был предложен в качестве маркера фиброза печени уже в 1979 году (Rohde et al., 1979). Некоторые матриксные металлопротеиназы участвуют в обмене белков экстрацеллюлярного матрикса, поэтому могут использоваться в качестве тестов на развивающийся фиброз печени (Сурков и др., 2016; Кулебина и др., 2021).

По данным литературы, высокожировая диета в зависимости от состава рациона приводит к деструктивным изменениям в печени с развитием стеатоза, воспалительного процесса и фиброза (Байматов и др., 2018; Панькова, 2022). Показано, что кормление крыс в течение двенадцати недель кормом, содержащим растительное масло, сало и холестерин может привести к формированию жировой инфильтрации печени и стеатозу (Fan et al., 2003). Диета с высоким содержанием жиров растительного происхождения – 71% от суточного рациона – приводит к развитию воспалительной инфильтрации и стеатозу печени уже на 21-й день кормления (Lieber et al., 2004).

При воспалении происходит повреждение паренхиматозных клеток, экстрацеллюлярного матрикса, межклеточных взаимодействий, а также активация мезенхимальных или купферовых клеток, которые синтезируют коллаген и ГАГ. Более длительное или повторяющееся воздействие патогенного фактора в печени приводит к десинхронизации взаимодействий между клетками и составляющими основного вещества, что способствует формированию фиброза и затяжному процессу восстановления (Киселева и др., 2021).

Для фиброза характерно увеличение содержания коллагеновых волокон как реакция печени в ответ на возникшее повреждение. В результате формируется фиброзный рубец, который вызывает частичную деформацию органа и нарушает его функциональную активность, особенно у людей с хроническими заболеваниями (Цыркунов и др., 2018; Киселева и др., 2020). Существуют три основных пути развития фиброза. Главный путь – развитие фиброза в результате массивного или повторного некроза паренхиматозных клеток печени. Во втором пути происходит образование септ – соединительнотканых перегородок из

портальных трактов. Стимулом для их образования служат перипортальные инфильтраты и очаговые некрозы клеток. Третий путь развития фиброза характеризуется появлением трубчатых трабекул путем разрастания фиброзной ткани, в особенности вокруг желчных протоков (Косых и др., 2010).

Таким образом, межклеточный матрикс не является инертной составляющей, а играет значительную роль как в формировании структурной целостности печени, так и в процессах ее регенерации.

1.2 Экспериментальные модели метаболического синдрома

Метаболический синдром (МС) является комплексным заболеванием, включающим факторы риска, которые в последующем могут привести к прогрессирующему развитию ряда осложнений, ведущими из которых на сегодняшний день по летальности являются патологии сердечно-сосудистой системы. По данным National Cholesterol Education Program – Adult Treatment Panel III критериями МС являются три или более фактора: ожирение или избыточное накопление жира, инсулинорезистентность и сопутствующая гиперинсулинемия, гипергликемия и дислипидемия (Simmons et al., 2010; Лещенко и др., 2015).

Для подробного и детального изучения МС и последующих метаболических изменений особый интерес представляет создание экспериментальных моделей МС. В качестве экспериментальных моделей многие авторы ранее часто использовали крыс и мышей: у них относительно короткий срок беременности, большое по числу особей потомство, их достаточно недорого содержать и разводить, они доступны даже для небольших исследовательских лабораторий (Самотруева и др., 2019).

Ранее созданные учеными экспериментальные модели МС были основаны на высокоуглеводных диетах. Так, некоторые исследователи в своих работах показали, что повышенное потребление фруктозы увеличивает массу тела животных, показатели инсулинорезистентности, содержание триглицеридов в

сыворотке крови крыс и впоследствии риск развития стеатоза печени (Апратин и др., 2018; Leonardi et al., 2020).

Фруктоза является простым углеводом, моносахаридом. Она производится из дешевого и доступного сырья – кукурузы. Поэтому производители добавляют ее во многие продукты питания в качестве недорогого сахарозаменителя. Одновременно с ростом огромного интереса населения к разного рода сладостям – сокам, шоколаду, газированным напиткам - нарушился баланс макронутриентов в питании человека с нарастанием числа больных с патологией печени (Павлова и др., 2018).

Особенностью метаболизма фруктозы в организме, в отличие от глюкозы, является отсутствие в реакциях ее превращения стадии, катализируемой фосфофруктокиназой, которая является регуляторным ферментом в метаболических превращениях глюкозы. В результате, наблюдаются неконтролируемые процессы распада фруктозы с образованием продуктов реакции и последующим ресинтезом их как в энергетические эквиваленты, так и в избыточные жиры (Лещенко и др., 2015).

Ранее ученые показали, что диета с содержанием фруктозы от 20% до 66% от суточной калорийности у крыс вызывает развитие симптомов МС, таких как увеличение массы тела, гипергликемия и гипертензия (Tran et al., 2009; Пивоварова и др., 2020). Кроме того, обогащенная фруктозой диета вызывает расширение желудочков сердца, их гипертрофию наряду со снижением сократительной функции (Sukiasyan et al., 2021). Ряд ученых разработали модели на основе 20% или 25% раствора фруктозы в качестве питья вместо воды, другие же доказали большую эффективность в развитии основных признаков МС при потреблении твердых кормов, что может быть связано с необходимостью более длительного периода кормления в случае с жидкой формой (Mamikutty et al., 2014). Это подтверждают и другие исследователи, использовавшие фруктозу в эксперименте в виде 10% питьевого раствора в течение 4 недель (Решетняк и др., 2011). Исследовательские работы других авторов были основаны на изучении изменения отдельных параметров, характерных для МС, в результате потребления

30% раствора сахарозы в качестве питья у мышей разных генетических линий – инбредной, аутбредной линии и тетрагибрида DBCB. По результатам эксперимента, наибольшие изменения в биохимических, морфологических показателях были характерны для тетрагибрида DBCB в силу, вероятно, его генетических особенностей, и в дальнейшем потребуются более углубленные геномные и морфологические исследования (Апратин и др., 2018).

Немалый интерес представляют работы по созданию экспериментальных моделей МС, основанных на высокожировых диетах (Оберган и др., 2016). Было показано, что у большинства грызунов рацион с повышенным содержанием жиров (до 60% от суточной калорийности) растительного и животного происхождения стимулирует увеличение массы тела и развитие ожирения, вызывает гипергликемию, инсулинорезистентность, глюкозотолерантность, дислипидемию (Лещенко и др., 2015). Однако результаты исследований по моделированию МС на основе высокожировой диеты зависят от генетической линии, пола, возраста, вида и процентного содержания липидов в их диетах, продолжительности воздействия (Leonardi et al., 2020).

Таким образом, в проведенных ранее исследованиях было показано, что как фруктозообогащенная, так и высокожировая диета приводят к изменениям в биохимических показателях, характерных для МС, и потому могут быть использованы для его экспериментального моделирования.

1.3 Метаболизм биополимеров межклеточного матрикса при стрессогенных воздействиях

Концепция стресса Г. Селье (1936 г.) нашла широкое применение не только в клинической практике, но и в эксперименте (Жигулина и др., 2014). Его представления подтверждены в работах русских и иностранных ученых (Lu et al., 2021; Михайленко и др., 2022).

Стресс является реакцией организма на нарушение гомеостаза, и, как следствие, вызывает адаптивный ответ как физиологического, так и

поведенческого характера (Михайленко и др., 2022). Это особое состояние организма, которое формируется после его выведения из равновесия под действием различных факторов. Так называемая «триада Селье» включает: надпочечники, гипофиз и органы центрального и периферического иммунопозза (Полина и др., 2020). Стресс носит одновременно и патологический и компенсаторно-приспособительный характер (Эбзеева и др., 2022). Все начинается с возбуждения в центрах головного мозга под действием соответствующих раздражающих факторов, затем повышается активность симпато-адреналовой и гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы. Впоследствии происходят изменения абсолютно во всех клетках и органах человека (Полина и др., 2020).

Существуют различные типы стресса – биологический, психологический и эмоциональный. Биологический стресс является защитным механизмом, физиологической реакцией организма на различные типы воздействия. Это может привести к таким изменениям в организме как учащенное сердцебиение, дыхание, повышенное кровяное давление, усиленное кровообращение и прочим (Эбзеева и др., 2022). В биологической адаптации к стрессу можно выделить три стадии:

1. Стадия тревоги. В этот момент происходит экстренная мобилизация защитных механизмов организма.
2. Стадия сопротивляемости. Для нее характерно поддержание достигнутого ранее уровня адаптированности.
3. Стадия истощения. Этот период характеризуется упадком сил, появлением дезадаптации (Эбзеева и др., 2022).

Стресс вызывается многими стрессовыми ситуациями, или стрессорами, к которым относятся сильные физические и нервно-психические нагрузки: тяжелая работа, перегрев и переохлаждение, гипоксия, гипогликемия, операции, травмы, излишнее беспокойство, гнев (Эбзеева и др., 2022).

Однако, не совсем корректно отождествлять эмоциональный и психологический стресс. Эмоция является одной из составляющих психической деятельности, включает познавательные, волевые, мотивационные

характеристики. Под психологическим стрессом понимают целостное своеобразие психических состояний или психологических явлений, наблюдающихся в психике человека в определенное время. Психологический стресс в большей степени, чем биологический, определяется индивидуальным психологическим состоянием человека и в меньшей степени зависит от внешних воздействий. Он может возникать как самостоятельно, так и способствовать активации биологического стресса (Новикова, 2021).

Стресс бывает острый и хронический. К формированию острого стресса приводит кратковременное воздействие фактора стресса. Для хронического стресса характерно постоянное действие раздражителя в течение длительного времени.

Стресс приводит к подавлению иммунной системы за счет повышения уровня кортизола. Это увеличивает вероятность возникновения заболеваний инфекционного характера и аутоиммунной патологии (Комарова и др., 2020). При достаточно продолжительном стрессе могут развиваться патологические процессы в клетках и тканях за счет активизации перекисного окисления липидов (ПОЛ) и как следствие нарушения целостности мембран клеток (Меерсон, 1984).

Смещение прооксидантно-антиоксидантного равновесия в сторону запуска процессов ПОЛ в том числе служит активатором запуска стрессовой реакции как в клетках и субклеточных структурах, так и в различных биологических жидкостях (Tejchman et al., 2021). Сигналом для активного клеточного деления и разрушений в молекуле дезоксирибонуклеиновой кислоты и в структуре липидов и белков клеток является пероксид водорода (Абаленихина и др., 2022; Sies et al., 2022). Система антиоксидантной защиты, включающая антиоксиданты ферментативной и неферментативной природы – каталаза, глутатионпероксидаза, некоторые витамины – участвует в защите от гиперактивного ответа организма на стрессовые факторы (Волкова и др., 2021, Forman et al., 2021). Так, в ранее проведенных исследованиях авторы пришли к заключению, что длительный иммобилизационный стресс приводит к повреждению паренхимы печени, в большей степени выраженной у стресс-неустойчивых крыс по сравнению со

стресс-устойчивыми. Это связано с недостаточностью антистрессорной системы у такого типа животных. В тоже время опиоиды, обладая антиоксидантным эффектом, способны оказывать гепатопротективное действие на клетки печени (Солин и др., 2016).

В других работах также было подтверждено деструктивное воздействие ПОЛ, вызванное активацией процессов свободнорадикального окисления, гипоксией, ишемией на фоне иммобилизационного стресса, на гепатоциты с высвобождением ферментов печени (Ворвиль и др., 2021).

Достаточно широко исследована нервная, эндокринная система с позиций адаптации организма к стрессогенным факторам. Ряд ученых изучали роль соединительной ткани в защитных и адаптивных механизмах организма (Быкова и др., 2010). По проведенным исследованиям было показано, что стрессовое воздействие приводит к изменениям в кровяной ткани – наблюдается рост количества лейкоцитов, эритроцитов, гемоглобина через 6 часов после воздействия иммобилизационного стресса. Через 2 суток воздействия показатели возвращались к нормальным значениям. Для компонентов плазмы крови было характерно увеличение концентрации глюкозы и снижение триглицеридов на ранних сроках стресса, что авторы объясняют активацией симпато-адреналовой и гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы, приводящей к активации гликогенолиза и липолиза. В межклеточном матриксе костного мозга на раннем сроке эксперимента отмечалось понижение содержания глюкозы, активности аспаратаминотрансферазы; активность аланинаминотрансферазы не изменялась на всех сроках; активность щелочной фосфатазы в начале опыта была понижена, затем возвращалась к значениям контрольных животных (Быкова и др., 2010).

В плазме крови крыс длительный иммобилизационный стресс приводит к усилению процессов катаболизма в соединительной ткани и угнетению анаболических реакций (Жигулина, 2014). В результате, первоначально снижается содержание отдельных биополимеров соединительной ткани в крови животных, что коррелирует с увеличением уровня глюкокортикоидных гормонов, затем их уровень повышается (Жигулина, 2014). Результаты работ некоторых авторов

демонстрируют, что хронический иммобилизационный стресс стимулирует процессы катаболизма в миокарде и активирует анаболические реакции в ткани аорты (Елисеева и др., 2017). По данным литературы, длительный стресс способствует нарушению соотношения фибриллярных компонентов в структуре аорты – разрушению эластического каркаса стенки аорты и выраженному развитию фиброзных изменений (Жмайлова и др., 2015). Поэтому, усиление анаболических процессов в аорте можно объяснить высокой пролиферативной активностью фибробластов соединительной ткани (Елисеева и др., 2017). Помимо этого, ряд заболеваний соединительной ткани связывают с нарушениями в иммунной системе как результат реакции на стресс (Серов и др., 1995).

Помимо этого, стресс довольно существенно влияет на обмен гликопротеинов межклеточного матрикса, которые выполняют значимую роль в разнообразных процессах жизнедеятельности, в частности во взаимосвязи клеток и биополимеров экстрацеллюлярного матрикса, в процессах новообразования, а также в иммунных реакциях (Жигулина, 2014).

Таким образом, иммобилизационный стресс приводит к значительным изменениям в обмене биомолекул, в том числе в составе межклеточного матрикса. Активизируя процессы катаболизма и замедляя анаболические реакции, вместе с тем вызывает активацию фибробластов для синтеза компонентов внеклеточного матрикса. Это своего рода является ответной, адаптивной реакцией организма на стрессовое воздействие и патологические процессы, происходящие при этом.

1.4 Влияние препарата сулодексид на обменные процессы в организме

Сулодексид (торговое название «Вессел Дуэ Ф», Италия), представляет высокоочищенную смесь гликозаминогликанов – низкомолекулярного гепарина (ибуронат-2-сульфат + N-сульфо-D-глюкозамин-6-сульфат) (80%) и дерматансульфата (сульфатированный L-идуронат + N-ацетилгалактозамин) (20%), обладающую очень широким спектром биологической активности (Батюшин, 2015; Мелькумянц и др., 2021; Сокологорский и др., 2022). В отличие

от нефракционированного гепарина фармакологические эффекты сулодексида характеризуются длительным периодом полураспада, значительным снижением воздействия на систему свертывания крови и более высокой липолитической активностью. Сулодексид считается лекарственным средством, способным к абсорбции в сосудистой эндотелии, достигающей 90%, создавая при этом в нем уровень, который в 20-30 раз превышает его содержание в клетках различных органов и влияя тем самым на эндотелиальную дисфункцию (Li et al., 2017; Елагина и др., 2020). Присущее ему свойство восстанавливать и в высокой степени защищать структуру и активность эндотелия, а также его сродство к эндотелию подчеркивают важность назначения сулодексида в лечении атеросклероза (Masola et al., 2014), а также коронавирусной инфекции COVID-19 (Мелькумянц и др., 2021).

Механизмы действия сулодексида:

- «антитромботическое – препятствует адгезии тромбоцитов к сосудистой стенке и снижает их агрегационную способность за счет стимуляции поступления простациклина из сосудистого эндотелия в кровяное русло; ослабляет продукцию фактора активации тромбоцитов в лейкоцитах, а также стимулирует циклическую аденозинмонофосфат в тромбоцитах через оксид азота;
- профибринолитическое – активировать фибринолиз благодаря снижению активности ингибитора активации плазминогена в крови и повышению секреции и выходу тканевого активатора плазминогена из эндотелия сосудов;
- ангиопротективное – способен нормализовать отрицательный заряд пор базальной мембраны эндотелия, поддерживать структуру и функцию эндотелиальных клеток и субэндотелиальных образований;
- липолитическое – стимулирует липолитический фермент – липопротеинлипазу, гидролизующую триглицериды, входящие в состав преимущественно липопротеинов низкой плотности, нормализуя реологические свойства крови» (Нелаева и др., 2012).

В оценке влияния сулодексида на липидный обмен рядом авторов была исследована динамика содержания в сыворотке крови общего холестерина,

липопротеинов высокой и низкой плотности, триглицеридов, а также расчет коэффициента атерогенности до и после применения препарата (Козлова и др., 2012). Полученные данные свидетельствуют о том, сулодексид обладает антиатерогенным действием. По результатам исследования выявлено достоверное снижение концентрации холестерина, кроме того, отмечалась тенденция к снижению уровня липопротеинов низкой плотности, триглицеридов и коэффициента атерогенности с одновременным повышением содержания липопротеинов высокой плотности (Козлова и др., 2012).

Другие ученые исследовали влияние аналогичных препаратов на сходные обменные процессы. Так, изучалось внутрибрюшинное введение синтетического аналога адренокортикотропного гормона (АКТГ) пептида АКТГ (6-9)-Pro-Gly-Pro крысам-самцам Вистар (Ворвиль и др., 2021). Подобно семаксу (Елагина и др., 2020), этот пептид обладает широким спектром нейротропных эффектов, характеризуется антиоксидантным и ангиопротекторным, а также противотромбическим действием за счет своей способности повышать антикоагулянтную и фибринолитическую активность; при хроническом иммобилизационном стрессе проявляет себя как антиоксидант, а при остром стрессе оказывает в основном прооксидантное действие (Ворвиль и др., 2021).

Цель других исследований заключалась в оценке эффективности терапии сулодексидом в течение длительного времени у больных сахарным диабетом второго типа (Панюшкина и др., 2012). Наблюдали две группы исследуемых с установленным диагнозом сахарный диабет второго типа. По результатам исследования, у пациентов, принимавших сулодексид, были достоверно значимо лучше показатели среднего гликозилированного гемоглобина, показатель индекса массы тела, отмечалась динамика снижения показателей липидного обмена, а также микроальбуминурии. Авторы пришли к заключению, что длительное применение сулодексида в лечении больных сахарным диабетом второго типа позволит не только контролировать течение заболевания, но и снизить риск развития сердечно-сосудистых заболеваний и уменьшить вероятность диабетической нефропатии (Панюшкина и др., 2012).

Ряд других ученых изучали влияние сулодексида при внутримышечном введении на функциональное состояние сосудистого эндотелия у больных с диабетической ретинопатией (Булка и др., 2022). Анализ полученных результатов исследования эндотелиальных факторов (эндотелин, оксид азота) после проведения курса лечения сулодексидом показал, что у пациентов достоверно снизился уровень эндотелина и оксида азота почти до нормальных значений на фоне лечения. Через месяц после окончания курса лечения уровень эндотелина имел тенденцию к снижению, а содержание оксида азота сохранялось на прежнем значении. Вместе с тем, восстанавливалось состояние сосудов в сетчатке глаз. Все это свидетельствует о нормализации функциональной активности эндотелия сосудов у пациентов с диабетической ретинопатией после пройденного курса лечения препаратом на основе сулодексида – «Вессел Дуэ Ф». Авторы пришли к заключению о позитивном влиянии препарата на состояние сосудистого эндотелия при сахарном диабете за счет нормализации баланса эндотелиальных факторов – вазоконстрикторов и вазодилататоров (Булка и др., 2022).

Метаанализ 45 исследований с 2817 участниками (средний возраст 57 лет, 63% мужчин) показал, что сулодексид уменьшал проявления диабетической ретинопатии; приводил к увеличению дистанции безболезненной и максимальной ходьбы при заболеваниях периферических артерий; вызывал ускоренное заживление трофических язв, связанных с сахарным диабетом, уменьшил скорость экскреции альбумина у пациентов с нефропатией (Bignamini et al., 2021).

Таким образом, сулодексид способствует уменьшению содержания фибриногена, снижению уровня липопротеинов низкой плотности, количества холестерина в крови и вязкости крови (Батюшин, 2015). Наряду с этим, доказано, что в отличие от приема остальных ГАГ введение сулодексида активизирует фибринолиз и липолиз, обеспечивая дополнительный гемодинамический эффект и улучшая тем самым реологические свойства крови. Исходя из вышеперечисленного, можно отметить, что сулодексид (Вессел Дуэ Ф) обладает как антикоагуляционным, так фибринолитическим и ангиопротективным

действием, восстанавливает структурную и функциональную целостность сосудистого эндотелия (Carroll et al., 2019; Bignamini et al., 2021).

В заключении, к настоящему времени исследованы структурные и функциональные особенности отдельных биополимеров межклеточного матрикса, их обмен при иммобилизационном стрессе, разработаны экспериментальные модели метаболического синдрома на основе высокоуглеводных и высокожировых диет. Но, вместе с тем, остаются неизученными вопросы метаболизма основных регуляторных и структурных белков внеклеточного матрикса – фибронектина и ламинина – при иммобилизационном стрессе, экспериментальном метаболическом синдроме, на фоне коррекции сулодексидом, решением которых являются задачи данного исследования.

ГЛАВА 2 Материалы и методы исследования

2.1 Общая характеристика экспериментальных животных

Эксперимент был выполнен на 240 белых беспородных крысах - самцах с начальной массой тела 220-280 г.

Крыса является одним из наиболее распространенных животных в исследовательских лабораториях всего мира. По данным статистики Национальной ассоциации биомедицинских исследований США, мыши и крысы составляют 95% всех лабораторных животных (Стасевич, 2021). Они небольшого размера, всеядны, их легко содержать, быстро размножаются, имеют многочисленное потомство, неагрессивное поведение. С крысами просто иметь дело, изменения в них заметны невооружённым глазом. Наконец, грызуны эволюционно к нам ближе (Стасевич, 2021).

2.1.1 Описание экспериментальных групп животных

В научном эксперименте проведено 7 серий, включающих 7 опытных и 3 контрольные группы крыс по 8 особей в каждой группе в исследуемые временные интервалы (на 21-й, 35-й и 60-й дни опыта), распределенные случайным образом (Таблица 1).

Работу с животными выполняли в соответствии с Приказом Министерства здравоохранения Российской Федерации от 01.04.2016 №193н «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики». Исследование одобрено локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО «Ижевская государственная медицинская академия» Минздрава России (протокол заседания № 652 от 23.04.2019) (Гилева, 2020).

Крыс содержали в стандартных условиях вивария ФГБОУ ВО ИГМА в клетках при температуре плюс $20\pm 3^{\circ}\text{C}$, влажности 45-65%, режиме естественного освещения двенадцатичасового светового дня. Все крысы имели неограниченный

доступ к пище и воде. Животные контрольных групп находились на сбалансированном рационе вивария (ГОСТ Р 50258-92) из расчета 40г в сутки на одну крысу. Крысы опытных групп в течение первых 35 дней получали фруктозообогащенную и высокожировую диеты (серии 1, 2, 3, 4). Крысам опытных групп (серии 3, 4) дополнительно подкожно вводился препарат сулодексид, а контрольной группе (контроль 2) проводилась подкожная инъекция 0,25 М раствора хлористого натрия в течение 35 дней. С 36-го по 60-й день эксперимента животные всех опытных групп находились на стандартном рационе вивария (ГОСТ Р 50258-92) (Таблица 1).

Таблица 1 – Описание экспериментальных серий в исследовании

Номер серии эксперимента	Число особей, n	Описание экспериментальной серии
Экспериментальное моделирование метаболического синдрома		
Контроль 1	24	Стандартные условия вивария (ГОСТ Р 50258-92) (74,4 ккал в сутки на 1 крысу) (Бирулина и др., 2020).
1.	24	Фруктозообогащенная диета: 60% фруктозы, 20% белка, 9% клетчатки, 6% жира, 5% витаминно-минеральной смеси от суточного рациона (161,5 ккал в сутки на 1 крысу) (Ackerman et al., 2005; Kawasaki et al., 2009; Лещенко и др., 2015).
2.	24	Высокожировая диета: 44% свиного сала и 9% растительного масла, 47% комбикорма от суточного рациона (231,4 ккал в сутки на 1 крысу) (Лещенко и др., 2015; Lizuka, 2017).
Коррекция препаратом сулодексид		
Контроль 2	24	Стандартные условия вивария (ГОСТ Р 50258-92) и ежедневная подкожная инъекция 0,25 М раствора хлористого натрия (Перминова, 2006; Бирулина и др., 2020).
3.	24	Введение препарата сулодексид в дозировке 8,5 ЛЕ/кг (в перерасчете на массу тела животного) на фоне фруктозообогащенной диеты (Перминова, 2006; Лещенко и др., 2015).
4.	24	Введение препарата сулодексид в дозировке 8,5 ЛЕ/кг (в перерасчете на массу тела животного) на фоне высокожировой диеты (Перминова, 2006; Lizuka, 2017).
Серии с иммобилизационным стрессом		
Контроль 3	24	Стандартные условия вивария (ГОСТ Р 50258-92) (74,4 ккал в сутки на 1 крысу) (Бирулина и др., 2020).
5.	24	Иммобилизационный стресс путем фиксации на спине за четыре конечности в течение двух часов (Тигранян, 1988).
6.	24	Иммобилизационный стресс в условиях фруктозообогащенной диеты (Тигранян, 1988; Ackerman et al., 2005; Kawasaki et al., 2009; Лещенко и др., 2015).
7.	24	Иммобилизационный стресс в условиях высокожировой диеты (Тигранян, 1988; Лещенко и др., 2015; Lizuka, 2017).

Для серий эксперимента с иммобилизационным стрессом проводили отбор крыс по показателю стресс-устойчивости по общепринятой методике «открытое поле» (Коплик, 2002). Рассчитывался «коэффициент устойчивости к стрессу» или КСР, равный отношению суммы горизонтальной двигательной активности на периферии и в центре к сумме латентных периодов выхода в центр и первого движения (Коплик, 2002). Крысы с $КСР > 1,5$ были отнесены к высокой, с $КСР < 0,8$ – к низкой устойчивости к стрессу (Будкевич и др., 2011). Животных с промежуточным значением стресс-устойчивости КСР от значения 0,8 до 1,5 отбирали для текущего исследования (Гилева и др., 2021).

Всех отобранных крыс с промежуточным показателем стресс-устойчивости поделили на контрольную и три опытные группы (серии 5, 6, 7) (Таблица 1). Контрольная группа животных (контроль 3) содержалась в стандартных условиях вивария (ГОСТ Р 50258-92). Крысы опытной группы (серия 5) подвергались иммобилизационному стрессу путем ежедневной фиксации за 4 конечности в течение 35 дней. Крысы других опытных групп (серии 6, 7) наряду с иммобилизацией получали фруктозообогащенную и высокожировую диеты соответственно.

Динамику изменений исследуемых показателей углеводного, липидного обмена, а также содержание фибронектина и ламинина изучали на 21-й, 35-й и 60-й день с момента начала опыта (Лещенко и др., 2015). На 21-й день исследовали изменения в содержании аналитов в течение воздействия, на 35-й – по его окончанию. На 60-й день оценивали сформированность метаболических изменений в отдаленный период времени. На 21-й, 35-й и 60-й день животных взвешивали на лабораторных весах и выводили из эксперимента после двенадцатичасового голодания путем декапитации под кратковременным эфирным наркозом, кровь собирали из шейной вены в стеклянные пробирки. После проведения срединной лапаротомии исследуемый материал – печень – подвергался дальнейшему исследованию.

2.2 Экспериментальная модель метаболического синдрома на основе фруктозообогащенной диеты

Метаболический синдром (МС) очень часто предшествует формированию сахарного диабета второго типа и представляет наибольший риск в развитии сердечно-сосудистых заболеваний (Kasper et al., 2021). Помимо этого, МС затрагивает многие другие обменные процессы в организме. Еще в 1988 г. G.M. Reaven писал о сочетании инсулинорезистентности, ожирения и дислипидемии (Reaven, 1988).

Для изучения влияния МС на уровень отдельных гликопротеинов межклеточного матрикса нами была создана его экспериментальная модель на основе диеты с повышенным содержанием фруктозы. За основу мы взяли ранее разработанную другими исследователями схему питания (Kazumi et al., 1997; Ackerman et al., 2005; Kawasaki et al., 2009; Лещенко и др., 2015).

В пищевых продуктах фруктоза содержится в трех формах: фруктан – полисахарид, сахароза – дисахарид, состоящий из глюкозы и фруктозы, и фруктоза в свободной форме – моносахарид (Павлова и др., 2018). Полисахариды и дисахариды перед всасыванием в просвете кишечника расщепляются до моносахаридной формы. Из кишечника в кровяное русло моносахарид фруктоза переносится с помощью транспортеров GLUT5 (Glucose transporter 5) и GLUT2 (Glucose transporter 2), которые располагаются на апикальном и базолатеральном участках клеток кишечника соответственно (Merino et al., 2019). Дальнейшее всасывание из воротной вены осуществляется благодаря транспортеру GLUT2, локализация которого в большей степени выражена на гепатоцитах (Chadt et al., 2020).

Первым этапом в цепочке реакций превращения фруктозы является ее преобразование в фруктозо-1-фосфат под действием фермента фруктокиназы (Павлова и др., 2018) (Рисунок 3).

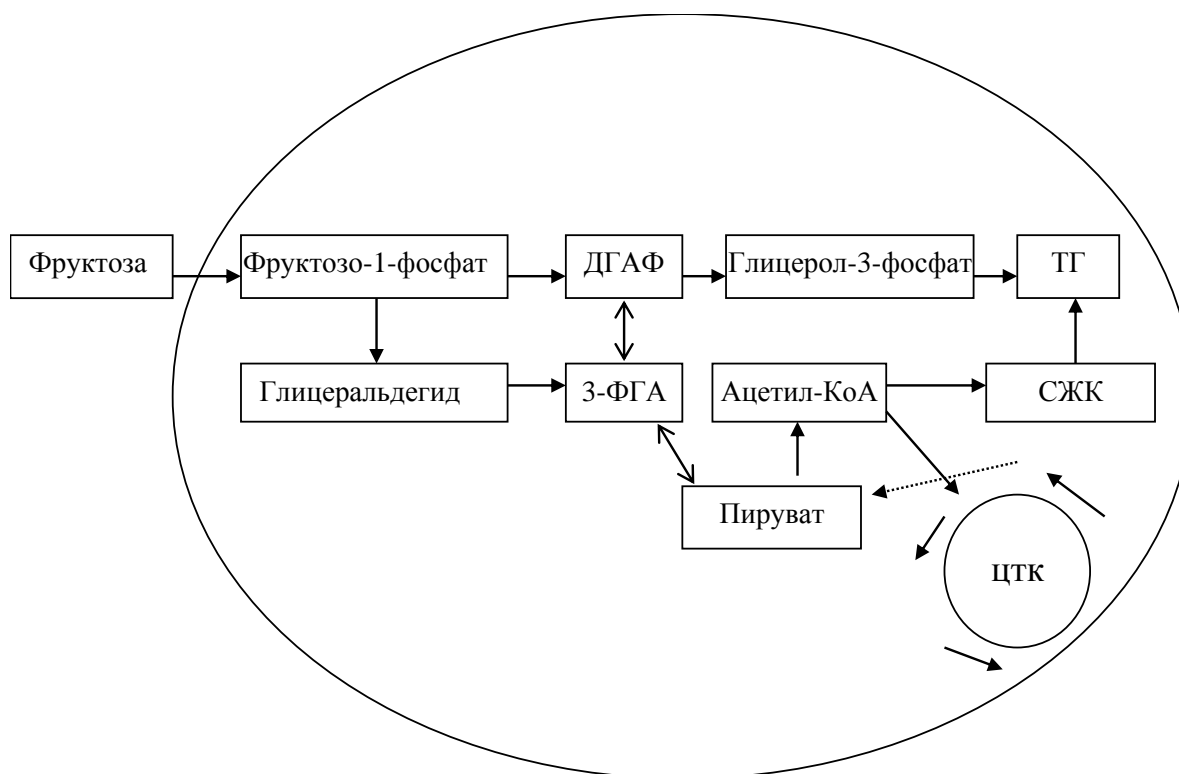


Рисунок 3 – Схема метаболизма фруктозы в клетке (Павлова и др., 2018). ДГАФ – дигидроксиацетонфосфат; 3-ФГА – 3-фосфоглицериновый альдегид; СЖК – свободные жирные кислоты; ЦТК – цикл трикарбоновых кислот; ТГ – триглицериды

Конечным продуктом серии реакций превращений фруктозы является пируват, способный проникать в митохондрии с образованием ацетил-КоА, который затем поступает в цикл трикарбоновых кислот для продукции энергии в форме АТФ (Павлова и др., 2018). Только после избыточного накопления АТФ ацетил-КоА вступает в реакции синтеза жиров (Lizuka, 2017). Наряду с липогенезом и гликолизом существует также глюконеогенез. Ранее с помощью радиоизотопного исследования было показано, что «около 30-50% молекул фруктозы превращается в глюкозу, 20% – в лактат и менее 1% непосредственно в триглицериды плазмы крови» (Павлова и др., 2018).

Включение фруктозы в метаболические превращения через фруктозо-1-фосфат минует стадию с участием регуляторного фермента фосфофруктокиназы, катализирующего реакцию превращения глюкозы. Поэтому наблюдается неконтролируемый синтез продуктов распада в форме ацетил-КоА с последующим

преобразованием их в энергетические эквиваленты в виде молекул АТФ, а затем в триглицериды (Kazumiy et al., 1997; Решетняк и др., 2011; Mamikutty et al., 2014). Избыточное накопление триглицеридов в свою очередь может привести к набору лишнего веса или ожирению, изменениям в липидном спектре в крови, а также к метаболическим нарушениям, захватывающим многие обменные процессы в организме.

Ранее ряд авторов экспериментально подтвердили формирование МС или его начальных стадий на диете, насыщенной фруктозой (Решетняк и др., 2011; Бирулина и др., 2020).

Таким образом, фруктоза в силу своих особенностей метаболизма приводит к развитию большинства симптомов МС и поэтому может быть выбрана для его экспериментального моделирования.

2.3 Экспериментальная модель метаболического синдрома на основе высокожировой диеты

Ожирение является комплексным многофакторным заболеванием, которое характеризуется повышенным накоплением жировой ткани как результат неподвижного или малоподвижного образа жизни и употребления высококалорийного питания (Дедов и др., 2021). Основной причиной развития ожирения считается нарушение энергетического баланса между поступлением энергии с пищей и уровнем ее расходования в течение жизнедеятельности.

В нашем исследовании для моделирования МС на основе высокожировой диеты мы использовали диету как основу ранее разработанной другими авторами (Лещенко и др., 2015).

При ожирении, вызванном алиментарным путем после потребления богатой жирами пищи, наблюдаются изменения в липидном обмене и избыточное накопление жиров. Нарушение липидного обмена приводит к развитию одной из частных причин сердечно-сосудистых осложнений – дислипидемии (Lizuka, 2017). В результате метаболических нарушений происходит активация липолиза в

адипоцитах с повышением содержания циркулирующих свободных жирных кислот в кровотоке и накоплением липидов в различных тканях организма. Внутриклеточное накопление триглицеридов, образованных из свободных жирных кислот, является одной из главных причин инсулинорезистентности и способствует развитию МС, сахарного диабета второго типа, артериальной гипертензии, ишемической болезни сердца, нарушению мозгового кровообращения (Федоров и др., 2014; Соколова, 2022). Инсулинорезистентность характеризуется уменьшением поглощения глюкозы тканями организма под действием инсулина в результате снижения чувствительности клеток печени, жировой и мышечной ткани к нему. При формировании инсулинорезистентности клеточный ответ на эндогенный инсулин изменен, что приводит к нарушению в метаболизме углеводов и липидов (Lee et al., 2022).

Источниками липидов в кровотоке человека являются как пища, так и их эндогенный синтез. В биологических жидкостях организма липиды транспортируются в виде липопротеинов (ЛП) – водорастворимых белковых комплексов, которые состоят из растворимой в воде белковой оболочки – апопротеина, с включенными в ее состав фосфолипидами и неэстерифицированным холестерином (Северин, 2020). Белковая оболочка покрывает ядро, состоящее из нерастворимых эфиров холестерина и триглицеридов.

В зависимости от плотности и скорости флотации в гравитационном поле во время ультрацентрифугирования различают четыре класса ЛП:

- хиломикроны (ХМ);
- липопротеины высокой плотности (ЛПВП);
- липопротеины низкой плотности (ЛПНП);
- липопротеины очень низкой плотности (ЛПОНП) (Хапалюк, 2013).

ХМ представляют собой транспортную форму экзогенных липидов, поступивших с пищей извне. Жиры пищи последовательно перевариваются с образованием жирных кислот и глицерола, которые затем всасываются

энтероцитами, где они подвергаются повторной эстерификации с образованием ТГ и эфиров ХС, входящих в состав ХМ (Комов, 2020) (Рисунок 4).

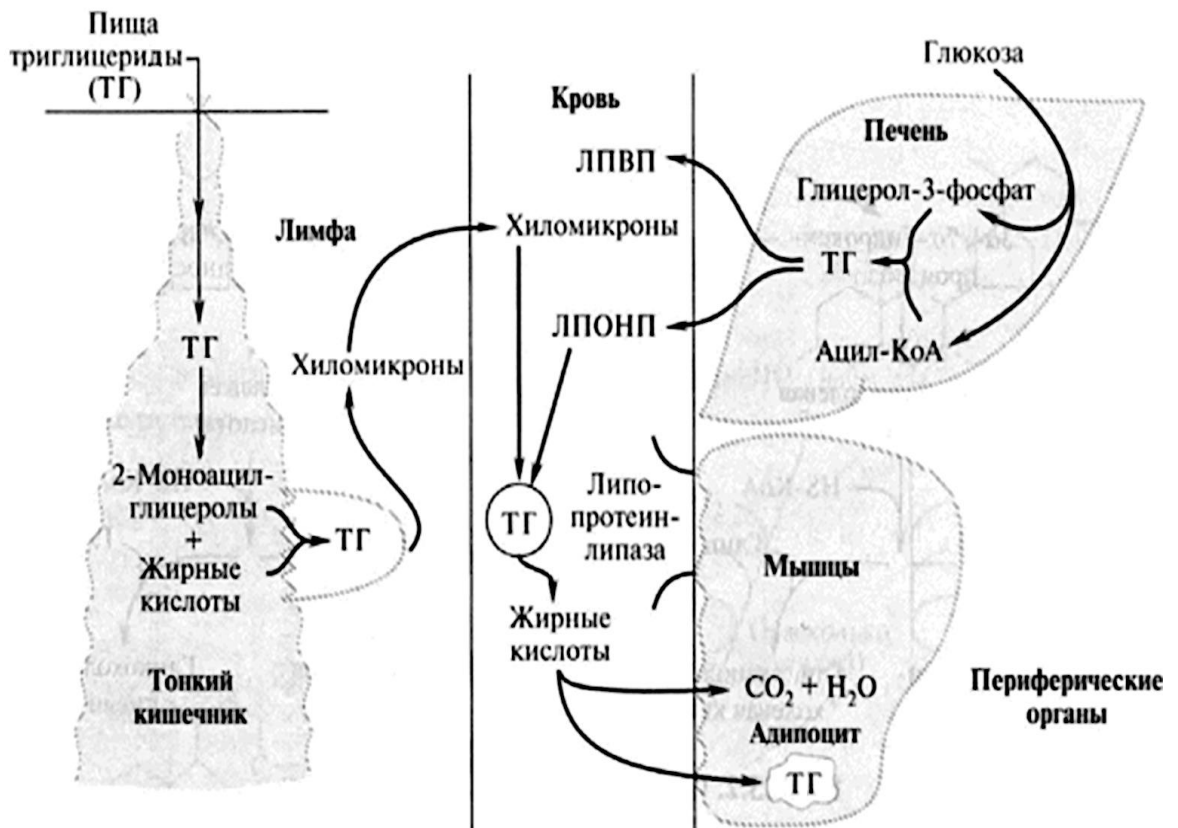


Рисунок 4 – Схема метаболического превращения липидов пищи (Комов, 2020)

ХМ по лимфатической системе через грудной лимфатический проток поступают в общий кровоток. Под действием фермента липопротеинлипазы, расположенной на поверхности эндотелия капилляров скелетной мускулатуры, миокарда, жировой ткани, ТГ в составе ХМ расщепляются до СЖК и глицерола, которые затем мигрируют в мышечную, жировую ткань и печень.

ЛПОНП синтезируются в печени, их функция заключается в транспортировке ТГ и ХС из печени в периферические ткани. В сосудистом эндотелии под действием липопротеинлипазы происходит распад триглицеридов до глицерина и СЖК и постепенное уменьшение размеров ЛПОНП с превращением их в ЛПНП. Образующиеся ЛПНП в норме переносят ХС из плазмы крови через встроенные в цитоплазматическую мембрану рецепторы в

эндотелиоциты, гепатоциты, клетки половых желез, макрофаги, фибробласты и другие (Хапалюк, 2013).

Избыток ХС в тканях может быть ликвидирован путем его переноса из клеток в печень с помощью ЛПВП, которые изначально синтезируются в печени и обеспечивают транспорт ХС из тканей в гепатоциты с последующей экскрецией в желчь в составе желчных кислот, а затем в кишечник (Хапалюк, 2013).

Повышенное накопление жиров, нарушение в липидном и углеводном обмене способствуют неферментативному аутоокислительному гликозилированию, а также окислительному стрессу (Дьяков и др., 2022). Ранее было показано, что хроническая гипергликемия за счет механизмов аутоокисления глюкозы приводит к увеличению образования свободных радикалов, инициирующих гликозилирование, образование окисленных белков и запуск механизмов повреждения β -клеток поджелудочной железы. Кроме того, это вызывает усиление процессов перекисного окисления липидов и модификацию липопротеинов с изменением их качественных характеристик (Занозина и др., 2010). Для окислительного стресса «характерно образование свободных радикалов, имеющих один неспаренный электрон, что придает им высокую реакционную способность, связанную со стремлением получить ими еще один электрон от других молекул, приводя к нарушению их структуры и функциональной активности» (Аметов и др., 2011; Занозина и др., 2013) (Рисунок 5).



Рисунок 5 – Свободнорадикальная теория гибели клеток (Занозина и др., 2010)

В условиях окислительного стресса преобладающими становятся процессы окислительной модификации белков, липидов и углеводов, приводящие к утрате их биологической активности – рецепторной, транспортной, ферментативной (Олефир и др., 2021). Результатом является потеря рецепторов клеток чувствительности к инсулину или инсулинорезистентности, а также повреждение β -клеток с компенсаторным усилением синтеза инсулина, приводящие к гипергликемии и гиперинсулинемии.

Таким образом, свободнорадикальное окисление биомолекул, нарушения в метаболизме липидов и углеводов на фоне питания с повышенным содержанием жиров приводят к возникновению инсулинорезистентности, гипергликемии, гиперинсулинемии, дислипидемии, ожирению, что является основными симптомами МС. Поэтому экспериментальное моделирование МС на основе высокожировой диеты становится возможным и позволит оценить изменения во многих метаболических процессах организма.

2.4 Проведение эксперимента с иммобилизационным стрессом у крыс

Стресс – это приспособительная реакция организма в ответ на внешнее воздействие (Михайленко и др., 2022). На сегодняшний день проблема адаптации организма к действию различных экстремальных факторов внешней среды остается одной из важнейших в медицине, биологии, физиологии. Достаточно хорошо исследована роль нервной, иммунной системы, эндокринной регуляции в механизмах адаптации. Особое значение имеет гипотеза академика А.А. Богомольца (1929г.) о роли соединительной ткани в обеспечении защитных и адаптивных свойств организма (Быкова и др., 2010). Другими авторами были выявлены генерализованные изменения в различных типах соединительной ткани при иммобилизационном стрессе (Быкова и др., 2010). Динамика процессов катаболизма и анаболизма отражает необходимость в определенных процессах во время формирования адаптивных механизмов в условиях иммобилизационного стресса в зависимости от длительности воздействия стресс-фактора.

В нашем исследовании мы воспользовались ранее сформулированной методикой проведения эксперимента с иммобилизационным стрессом (Тигранян, 1988; Бутолин, 1993). Согласно этой методике, крыс подвергали ежедневной двухчасовой иммобилизации за четыре конечности ежедневно в течение 35 дней.

В ранних публикациях исследователи приводили данные экспериментов, направленных на изучение содержания компонентов соединительной ткани при различных стрессогенных воздействиях. Животных ограничивали в подвижности путем фиксации на спине за 4 конечности в течение 2 часов каждый день, одновременно, на протяжении 10 дней в течение 8 часов крыс содержали в специальных тесных пеналах (Елисеева и др., 2017). И в той и другой модели авторы наблюдали снижение уровня свободного и повышение пептидосвязанного гидроксипролина в крови животных. Ученые пришли к заключению об активации процесса синтеза коллагена, что вероятно связано с усилением пролиферативной активности фибробластов (Елисеева и др., 2017).

Другие исследования были направлены на изучение показателей липидного обмена при длительном иммобилизационном стрессе, который моделировали путем фиксации на спине за 4 конечности в течение 6 часов (Солин и др., 2013). Содержание в плазме крови холестерина, триглицеридов, липопротеинов очень низкой, низкой и высокой плотности, неэстерифицированных жирных кислот оценивали через 39 часов, а также на 4-е и 7-е сутки после иммобилизации. По результатам эксперимента наблюдалось увеличение всех показателей липидного профиля через 39 часов после окончания опыта, а через 4 суток после воздействия происходило восстановление функциональной активности печени. Эти результаты согласуются с данными литературы, свидетельствующими о том, что максимальные нарушения развиваются в конце стадии тревоги, а на стадии резистентности иницируются компенсаторные механизмы (Корозин и др., 2011).

Таким образом, проведенные исследования демонстрируют влияние стрессогенных воздействий разного вида на обменные процессы в организме, в том числе и на метаболизм отдельных биополимеров соединительной ткани.

2.4.1 Иммобилизационный стресс в условиях фруктозообогащенной диеты

Учитывая особенности в обменных процессах в организме, в том числе в отношении отдельных биополимеров соединительной ткани как при иммобилизационном стрессе, так и при фруктозообогащенном питании, нами было изучено сочетанное влияние этих двух факторов на показатели липидного и углеводного обмена, специфических ферментов печени, а также содержание фибронектина и ламинина в крови и ткани печени крыс.

Данный эксперимент был основан на потреблении крысами диеты, обогащенной фруктозой, при ежедневной двухчасовой иммобилизации в течение 35 дней (Таблица 1). Анализ изучаемых показателей проводили на 21-й, 35-й и 60-й день эксперимента.

2.4.2 Иммобилизационный стресс в условиях высокожировой диеты

Как было показано ранее, высокожировая диета вызывает изменения в метаболических процессах в организме. Поэтому изучение сочетанного воздействия иммобилизационного стресса и высокожировой диеты проводили с помощью диеты с повышенным содержанием животного жира (44% от суточного рациона) и одновременной ежедневной двухчасовой иммобилизацией (Таблица 1). Изменения в показателях липидного, углеводного обмена, содержании фибронектина и ламинина оценивали на 21-й, 35-й и 60-й день опыта.

2.5 Проведение эксперимента с препаратом сулодексид

В последнее время большое внимание специалистов в исследовательской и клинической практике привлекает назначение препаратов на основе гликозаминогликанов. Эти препараты, как было показано в ряде исследований, наряду с воздействием на свертывающую систему крови, способны предотвращать гиперпродукцию отдельных компонентов межклеточного матрикса, пролиферацию мезангиума, а также нарушение проницаемости клеточных мембран (Козлова и др., 2012). Например, проводилось лечение сулодексидом больных сахарным диабетом первого типа с развивающейся диабетической нефропатией. Препарат вводили ежедневно в дозе 600 липопротеинлипазных единиц внутримышечно в течение 5 дней с последующим перерывом в 2 дня. В результате лечения наблюдалось снижение экскреции альбумина у больных как с протеинурией, так и микроальбуминурией с достоверным значением уже через 2 недели после лечения. Таким образом, авторы пришли к выводу, что гликозаминогликаны, а именно гепарин, эффективны в восстановлении структурно и функционально поврежденной

базальной мембраны клубочков почек. Кроме того, было показано, что они предотвращают процессы развития гломерулосклероза (Abbadì et al., 2020).

Другие авторы изучали влияние сулодексида на нейрокогнитивную функцию и состояние сонной артерии у пациентов с МС. В целом было отмечено благоприятное влияние сулодексида на состояние сосудов, периферического кровотока, а также на когнитивные функции, в частности, переключаемость внимания (Шалхарова и др., 2015).

Таким образом, было показано, что сулодексид благотворно влияет на обменные процессы в организме, в том числе на соединительнотканый метаболизм, поэтому интересно его действие в отношении регуляторных белков межклеточного матрикса на фоне высококалорийного питания, поскольку публикации в научной литературе о них на сегодняшний день единичны.

В нашем эксперименте крысам, находящимся на фруктозообогащенной и высокожировой диетах, препарат сулодексид (Вессел Дуэ Ф®) вводился подкожно в дозировке 8,5 ЛЕ/кг в перерасчете на массу тела животного ежедневно в течение 35 дней (Перминова, 2006).

2.6 Приготовление сыворотки крови и гомогенатов ткани печени

Исследование компонентов крови считается наиболее важным диагностическим методом. Картина крови является тонким отражением процессов, протекающих в организме в силу высокой чувствительности кроветворных органов к разного рода физиологическим воздействиям.

Выведение опытных и контрольных крыс из эксперимента осуществляли после 12-часового голодания на 21-й, 35-й и 60-й день опыта путем декапитации при помощи стерильных хирургических инструментов под кратковременной анестезией (Гилева, 2020). Кровь собирали в индивидуальные стеклянные пробирки с крышками. Отбор органов выполняли стерильными хирургическими инструментами. Определение массы органов (печень, надпочечники) проводили путем взвешивания на лабораторных весах (точность $\pm 0,01$ гр.) (Апратин и др.,

2018). После отбора печень сразу охлаждали на льду при температуре 0-2⁰С, отбирали участки правой доли печени для морфологического исследования и помещали их в 10% забуференный раствор формалина (0,1 М натрий-фосфатный буфер, рН 7,00±0,05).

Сыворотку крови животных получали путем центрифугирования пробирок с собранной кровью при 3000 об/мин в течение 15 минут. Затем отбирали сыворотку в индивидуальные промаркированные пластиковые пробирки типа «Eppendorf» и замораживали при -20⁰С для дальнейших исследований.

Для получения гомогената ткани печени на лабораторных весах взвешивали образцы правой доли печени массой 100 мг и растирали их в керамической ступке с помощью пестика в 1мл дистиллированной воды, с добавлением кварцевого песка в течение 20 минут. Затем гомогенат переносили в стеклянные пробирки и центрифугировали при 3000 об/мин в течение 15 минут. Отбирали полученный супернатант в пластиковые пробирки типа «Eppendorf» и замораживали при -20⁰С для дальнейшего анализа. Перед постановкой исследования образец размораживали и центрифугировали.

2.7 Биохимические методы исследования

В основе биохимических методов исследования лежит фотометрический анализ. Принцип фотометрического анализа заключается в способности химических соединений поглощать световой поток различной длины волны (Долгов, 2018). В результате биохимической реакции между искомым аналитом и химическим веществом в составе реагента образуется окрашенный продукт реакции со строго специфичным спектром поглощения. Определение содержания окрашенного продукта основано на законе Бугера-Ламберта-Бера, устанавливающего связь между оптической плотностью (абсорбцией) и концентрацией определяемого вещества (Долгов, 2018) (Рисунок 6).

$$D=C \cdot l \cdot \varepsilon$$

Рисунок 6 – Закон Бугера-Ламберта-Бера

Примечание: D – оптическая плотность вещества (абсорбция); C – концентрация вещества; l – длина пути проходящего света (толщина кюветы); ε – молярная экстинкция (Долгов, 2018)

Поглощение светового потока прямо пропорционально концентрации растворенного вещества. Изменение абсорбции может происходить при переходе окисленная-восстановленная формы аналита. На данном переходе основано определение концентрации многих биохимических субстратов и активности ферментов (Долгов, 2018).

2.7.1 Исследование сыворотки крови биохимическими методами

С помощью биохимических методов исследования в нашей работе в сыворотке крови крыс определяли концентрацию следующих веществ: глюкоза, холестерин общий (ХС), холестерин липопротеинов низкой плотности (далее в тексте с целью упрощения – ЛПНП), холестерин липопротеинов высокой плотности (далее в тексте – ЛПВП), триглицериды (ТГ), а также активность: аланинаминотрансферазы (АЛТ), аспартатаминотрансферазы (АСТ), щелочной фосфатазы (ЩФ), лактатдегидрогеназы (ЛДГ).

Анализы выполняли на автоматическом биохимическом анализаторе «AU-480» («Beckman Coulter», США) с использованием реактивов производства «Beckman Coulter», США в соответствии с инструкциями (Рисунок 7).



Рисунок 7 – Пример биохимических реактивов

Концентрацию ХС, ЛПНП, ЛПВП и ТГ выражали в миллимолях на 1 литр сыворотки крови (ммоль/л), активность АЛТ, АСТ, ЩФ и ЛДГ – в единицах активности ферментов в 1 литре сыворотки крови (Ед/л).

2.7.2 Исследование гомогенатов ткани печени биохимическими методами

В супернатанте, полученном после центрифугирования гомогената ткани печени, определяли концентрацию ХС, ЛПНП, ЛПВП, ТГ.

Анализы выполняли на автоматическом биохимическом анализаторе «AU-480» («Beckman Coulter», США) реагентами производства «Beckman Coulter», США. Содержание ХС, ЛПНП, ЛПВП и ТГ выражали в миллимолях на 100г сырой ткани (ммоль/100г).

2.7.3 Определение расчетных показателей

Оценку резистентности инсулинзависимых клеток к действию инсулина оценивали по соответствующим индексам инсулинорезистентности НОМА-IR

(Homeostatic model assessment of Insulin Resistance) (Matthews D.R., 1985г.) и Caro (F.Caro, 1991г.) (Долгов, 2018).

$$\text{НОМА-IR} = \text{инсулин натощак (мкЕд/мл)} \times \text{глюкоза натощак (ммоль/л)} / 22,5$$

$$\text{Caro} = \text{глюкоза натощак (ммоль/л)} / \text{инсулин натощак (мкЕд/мл)}$$

По этим показателям можно сделать вывод о формировании инсулинорезистентности в различных моделях сахарного диабета или метаболического синдрома на основании данных о содержании инсулина и глюкозы в сыворотке крови (Wallace et al., 2004). Помимо этого, Wallace Т.М. (2004г.) считает допустимым использование НОМА-IR как в клинической практике, так и при экспериментальном моделировании сахарного диабета (Wallace et al., 2004).

Индекс атерогенности (ИА) рассчитывали по измеренным концентрациям ХС и ЛПВП:

$$(\text{ИА}) = (\text{ХС (ммоль/л)} - \text{ЛПВП (ммоль/л)}) / \text{ЛПВП (ммоль/л)}.$$

ИА характеризует соотношение атерогенных и антиатерогенных фракций липидов и оценивает риск развития атеросклероза (Долгов, 2018).

Индекс массы надпочечников (ИМН)=масса надпочечников (г) / масса тела (г) * 100 (Долгов, 2018).

2.8. Иммуноферментные методы исследования

Принцип иммуноферментного анализа (ИФА) основан на специфическом взаимодействии антител с антигеном. К образовавшемуся комплексу антиген-антитело затем присоединяется конъюгат, представленный антивидовым антителом, меченный ферментом. На конечной стадии добавляется субстрат, который под действием фермента распадается с образованием окрашенного продукта реакции. Реакция останавливается добавлением стоп-реагента с появлением желтого окрашивания различной интенсивности (Рисунок 8).



Рисунок 8 – Внешний вид планшета при постановке методом ИФА одной из серий опыта

Регистрация продукта реакции происходит либо визуально, либо на фотометрах с вертикально проходящим лучом света определенной длины волны. Результаты выражают в единицах оптической плотности, которую затем по калибровочному графику прямой или обратной зависимости пересчитывают в концентрацию изучаемого вещества (Шалепо и др., 2018).

Оптическую плотность проб в эксперименте измеряли с помощью лабораторного фотометра «Stat Fax 2100» («Awareness Technology», США) при длине волны 450 нм. Значения оптической плотности пересчитывали в концентрацию исследуемых веществ в соответствии с инструкциями к наборам реагентов.

2.8.1 Исследование сыворотки крови методом иммуноферментного анализа

В эксперименте методом ИФА исследовали содержание фибронектина, ламинина, инсулина и кортикостерона в сыворотке крови крыс.

Содержание фибронектина анализировали с помощью тест-системы Rat Fibronectin, FN ELISA Kit, Cusabio, США, в соответствии с инструкцией. В данной постановке использовался количественный «сэндвич» метод ИФА. Антитела, имеющие специфичность к фибронектину крысы, были предварительно

засорбированы на микропланшете. Стандарты и исследуемые образцы наносили в лунки планшета, где находившиеся молекулы фибронектина связывались с иммобилизованными антителами. После удаления несвязавшихся молекул промыванием, в лунки добавляли конъюгированные с биотином антитела, специфичные к фибронектину. Затем после этапа промывки вносили конъюгат авидина с пероксидазой хрена. После удаления несвязавшегося авидин-ферментного комплекса добавляли раствор субстрата. Появлялось окрашивание, интенсивность которого прямо пропорциональна количеству связанного фибронектина на первом этапе.

Содержание ламинина исследовали с помощью тест-системы ELISA Kit for Laminin (LN) (Rat), США, в соответствии с инструкцией. Принцип метода аналогичен тест-системе на фибронектин, биотин-авидиновый «сэндвич» метод ИФА. Интенсивность поглощения вертикально проходящего излучения (450 нм) прямо пропорциональна содержанию ламинина, содержащегося в наносимом растворе изначально (Рисунок 9).



Рисунок 9 – Внешний вид планшета при постановке анализа на определение содержания ламинина (одна из серий опыта)

Концентрацию инсулина определяли тест-системой ELISA Kit for Insulin (INS) (Rat), США, в соответствии с инструкцией к набору. В основе данного метода лежит конкурентное ингибирование. Специфические моноклональные антитела к инсулину были предварительно нанесены на микропланшет.

Запускалась реакция конкурентного ингибирования между меченым биотином инсулином и немеченым инсулином (стандарты или образцы) с предварительно засорбированными антителами, специфичными к инсулину. После инкубации несвязанный конъюгат смывался. Затем в каждую лунку добавляли авидин, конъюгированный с пероксидазой хрена, инкубировали. Количество связанного конъюгата обратно пропорционально концентрации инсулина в пробе.

Концентрацию кортикостерона в сыворотке крови крыс определяли с помощью тест-системы Corticosterone (Human, Rat, Mouse) Elisa, Germany, в соответствии с инструкцией. Набор основан на конкурентном твердофазном ИФА. Лунки планшета покрыты антителами, специфичными молекуле кортикостерона. Кортикостерон, находящийся в образце, конкурировал с кортикостероном в составе конъюгата с ферментом пероксидазой хрена за связывание с антителами в лунках планшета. После промывания несвязавшиеся антитела удалялись. Интенсивность окрашивания после добавления субстрата обратно пропорциональна количеству кортикостерона в образце.

Концентрацию инсулина в крови крыс выражали в микроединицах на миллилитр сыворотки крови (мкЕд/мл), кортикостерона – в наномолях на литр сыворотки (нмоль/л), фибронектина – в микрограммах на миллилитр (мкг/мл), ламинина – в нанogramмах на миллилитр (нг/мл) сыворотки крови крыс.

2.8.2 Исследование гомогенатов ткани печени методом иммуноферментного анализа

Супернатант гомогената ткани печени размораживали, центрифугировали и определяли в нем содержание фибронектина и ламинина методом ИФА. Реактивы по определению данных метаболитов использовали те же, что и для анализа сыворотки крови. Для определения фибронектина – тест-систему Rat Fibronectin, FN ELISA Kit, Cusabio, США, для ламинина – ELISA Kit for Laminin (LN) (Rat), США. Результаты регистрировали на планшетном фотометре «Stat Fax 2100». По

калибровочному графику и оптической плотности рассчитывали концентрацию исследуемых веществ в соответствии с инструкциями к реактивам.

Содержание фибронектина в ткани печени выражали в микрограммах на 100 мг сырой ткани (мкг/100мг), ламинина – нанограммах на 100 мг сырой ткани (нг/100мг).

2.9 Гистологическое исследование препаратов ткани печени

Метаболический синдром на фоне высококалорийных диет на основе фруктозы и жира, и также иммобилизационный стресс приводят к нарушениям в обменных процессах в организме. Следствием таких изменений является окислительный стресс, затрагивающий многие ткани и органы, в том числе печень, как основного участника углеводного, липидного и белкового превращений. С целью оценки структурных изменений в печени крыс нами было проведено гистологическое изучение микропрепаратов печени крыс.

2.9.1 Приготовление гистологических препаратов печени

Приготовление и микроскопию гистологических препаратов выполняли на кафедре гистологии, эмбриологии и цитологии ФГБОУ ВО «Ижевская государственная медицинская академия» Минздрава России под руководством заведующей кафедрой, д.м.н., профессора Шумихиной Г.В. В каждой экспериментальной серии опыта исследуемые образцы правой доли печени помещались в 10% забуференный формалин (рН 6,8-7,0). Морфометрический анализ препаратов печени проводили на срезах толщиной 5 мкм, окрашенных гематоксилином - эозином, при увеличении в 400 раз (Автандилов, 1990).

Формалин является самым распространенным фиксирующим веществом, хорошо проникающим в ткани и сохраняющим ее структуру за счет образования устойчивых связей между формальдегидом и молекулами белка в составе ткани (Семченко и др., 2002).

2.9.2 Гистологическая картина препаратов печени

Для оценки гистологической картины препаратов печени изучали контрольные и опытные образцы печени. В контрольной группе крыс изменения в структуре печени были не ярко выражены. Наряду с основным содержанием гепатоцитов встречались единичные клетки Купфера (Рисунок 10).

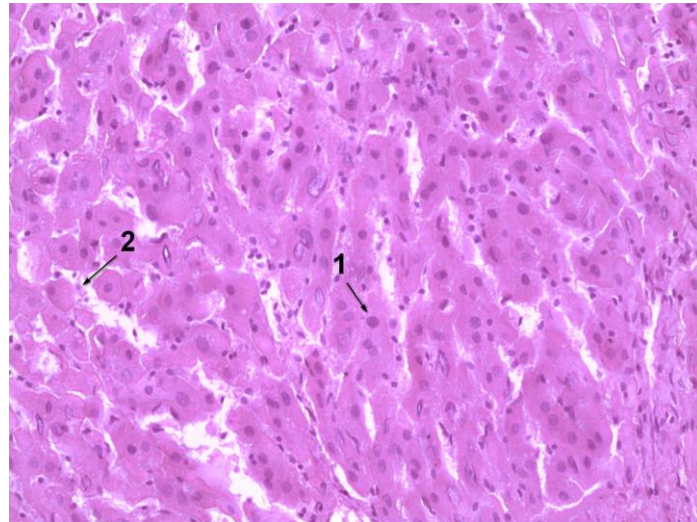


Рисунок 10 – Гепатоциты печени крыс контрольной группы. 1 – гепатоциты, 2 – клетки Купфера. Окраска гематоксилином и эозином. Ок. 10, об. 40

В первой экспериментальной серии по моделированию метаболического синдрома на основе высокожировой диеты наблюдались изменения в структуре печени. Так, на 35-й день эксперимента в цитоплазме гепатоцитов отмечалось умеренное количество жировых включений разного размера; перинуклеарное просветление в них; расширенные синусоидные капилляры; ядра клеток были сохранены. Во всех гепатоцитах обнаруживалась выраженная жировая дистрофия, пролиферация клеток Купфера (Рисунок 11).

На 60-й день эксперимента с фруктозообогатенной диетой в цитоплазме гепатоцитов количество жировых включений уменьшалось; перинуклеарное просветление сохранялось, как и расширенные синусоидные капилляры. В половине гепатоцитов обнаруживалась умеренная дистрофия, содержание клеток

Купфера снижалось. Это вероятно связано с отменой фруктозообогащенного питания и частичным восстановлением структуры гепатоцитов (Рисунок 12).

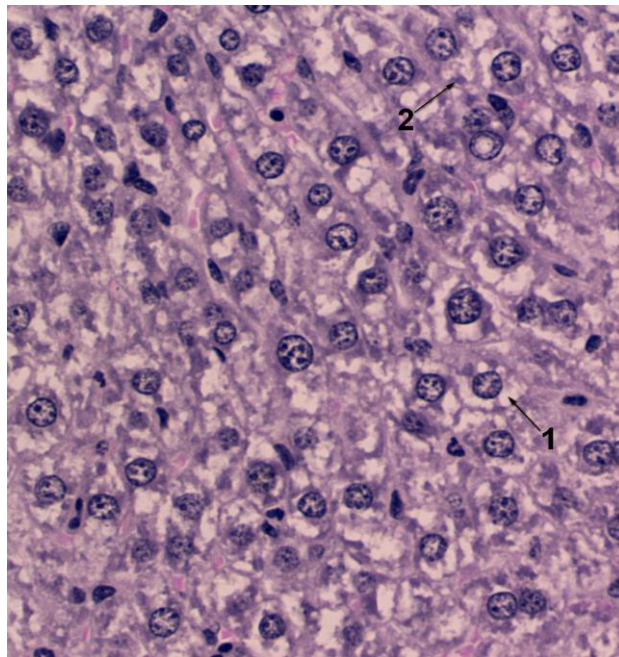


Рисунок 11 – Гепатоциты печени крысы на 35-й день высокожировой диеты. 1 – жировые включения в гепатоцитах, 2 – клетки Купфера. Окраска гематоксилин-эозином. Ок. 10, об. 40

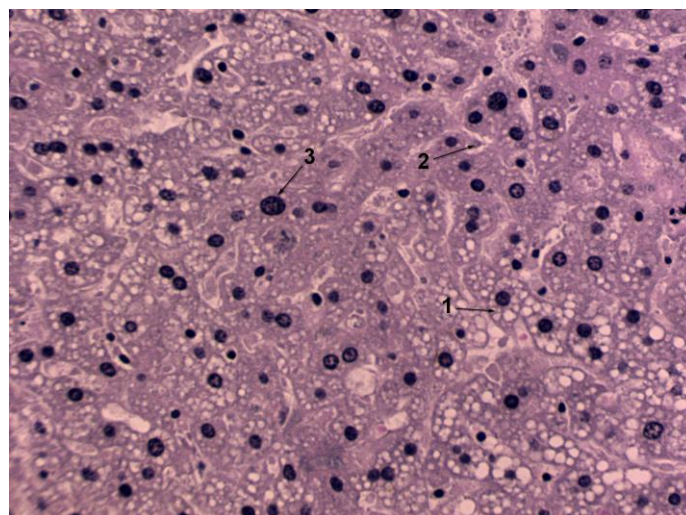


Рисунок 12 – Гепатоциты печени крысы на 60-й день фруктозообогащенной диеты. 1 – жировые включения в гепатоцитах, 2 – клетки Купфера, 3 – гипертрофированные ядра гепатоцитов. Окраска гематоксилином и эозином. Ок. 10, об. 40

Иммобилизация крыс с одновременным назначением высококалорийной диеты приводила к ярко выраженным дегенеративным процессам в гепатоцитах с сохранением к 60-му дню эксперимента (Рисунок 13).

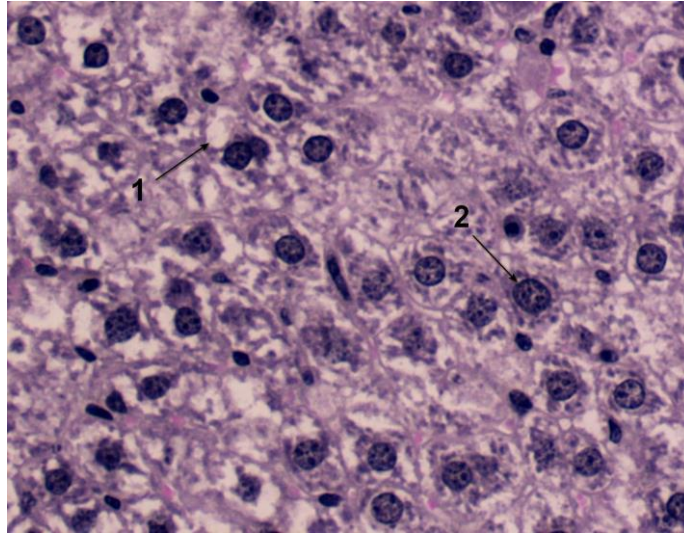


Рисунок 13 - Гепатоциты печени крысы при высокожировой диете и иммобилизационном стрессе на 60-й день опыта. 1 – гепатоциты с вакуолизированной цитоплазмой, 2 – увеличенные ядра гепатоцитов. Окраска гематоксилином и эозином. Ок. 10, об. 40

Была характерна тяжелая жировая дистрофия, деструктивные процессы в клетках печени. Цитоплазма клеток вакуолизирована, ядра увеличены, местами с гидропической дегенерацией.

После введения сулодексида крысам, находящимся на высококалорийной диете, наблюдались положительные изменения в структуре печени. Хотя жировые включения сохранялись в цитоплазме, но уменьшалось как их количество, так и размер. Так, на 60-й день на фоне коррекции сулодексидом в ткани печени отмечалась положительная динамика, однако в цитоплазме гепатоцитов встречались единичные мелкие вакуоли (Рисунок 14).

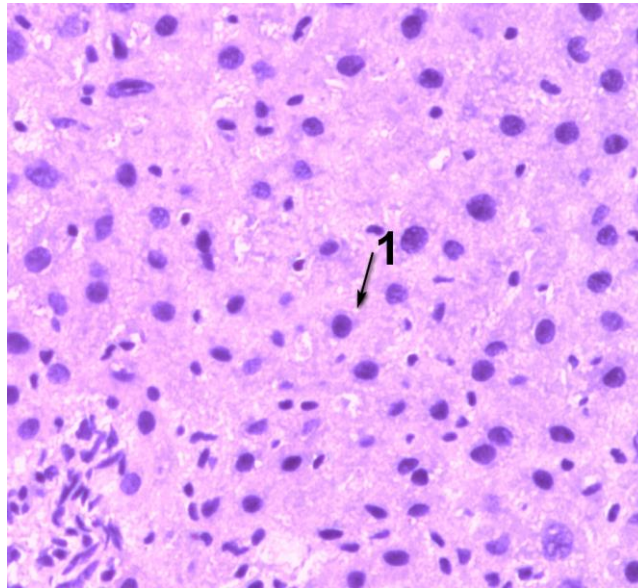


Рисунок 14 – Печень крысы на фоне введения сулодексида в условиях высокожировой диеты на 60-й день опыта. 1 – единичные жировые включения в гепатоцитах. Окраска гематоксилином и эозином. Ок. 10, об. 40

Таким образом, в результате нарушения клеточного и тканевого метаболизма, обусловленного высококалорийной диетой, а также воздействием иммобилизационного стресса и их совместным действием, были выявлены изменения в морфологической структуре гепатоцитов. Избыточный синтез жиров, их потребление и активация липолитических процессов приводили к накоплению липидов в гепатоцитах. Липидная инфильтрация была направлена на восстановление объема измененной клетки в результате действия повреждающего фактора (Цыркунов и др., 2017). Большинство морфологических изменений на ранней стадии обратимы и после отмены внешних воздействий, а также на фоне введения сулодексида исследуемый клеточный состав печени частично или полностью возвращался к норме (Цыркунов и др., 2017).

2.10 Статистическая обработка результатов

Статистическую обработку полученных результатов выполняли с помощью пакета «Statistica 8.0». Сначала оценивали нормальность распределения показателей по критерию Шапиро-Уилка. В связи с тем, что распределение

большинства изучаемых параметров не соответствовало нормальному распределению Гаусса, статистическую значимость отличий полученных результатов в выборках сравнения оценивали при помощи непараметрического критерия Краскела-Уоллиса для сравнения трех или более групп, а также U-критерия Манна-Уитни для двух независимых групп (Гржибовский и др., 2016). В случае, если по результатам теста Краскела-Уоллиса выявлялись различия, применяли множественное сравнение средних рангов для всех групп («Statistica 8.0»).

Взаимосвязь изучаемых показателей оценивали с помощью коэффициента ранговой корреляции Спирмена.

Данные исследования представляли в виде медианы Me , вариабельность изменений – в виде первого Q_{25} и третьего Q_{75} квартилей. Критический уровень значимости p при проверке статистических гипотез в исследовании принимали равным 0,05.

ГЛАВА 3 Результаты исследования и их обсуждение

3.1 Верификация экспериментальной модели метаболического синдрома на основе фруктозообогащенной диеты

По данным литературы, распространенность метаболического синдрома (МС) среди взрослого населения в мире составляет в среднем от 17 до 41% (Spahis et al., 2017; Fahed et al., 2022).

Стремительное распространение МС, принимающее характер неинфекционной эпидемии, значительно ускоряет прогрессирование заболеваний, в первую очередь сердечно-сосудистой системы, которые по данным Всемирной организации здравоохранения занимают лидирующее положение в причинах смерти населения даже в экономически развитых странах (Moore et al., 2017). МС является ключевым звеном, предшествующим формированию сахарного диабета второго типа и атеросклероза (Полозова и др., 2019). Полное представление о причинах развития МС, а также метаболических сдвигах при данной патологии поможет в создании и выборе адекватных методов профилактики и соответствующей тактики лечения.

К основным критериям диагностики метаболического синдрома относят: абдоминальное ожирение, инсулинорезистентность, гипергликемию, гиперинсулинемию, артериальную гипертензию, дислипидемию, микроальбминурию (Ройтберг, 2007).

Однако перечисленные признаки не всегда встречаются одновременно. Они могут встречаться как по отдельности, так и в сочетаниях, но с обязательным присутствием инсулинорезистентности (Anderson et al., 2011; Вербовой и др., 2021). Таким образом, ключевым звеном, объединяющим большинство симптомов, характерных для МС, является инсулинорезистентность или невосприимчивость периферических тканей различной локализации к действию инсулина, что взаимосвязано со значительным числом метаболических нарушений (Карпин, 2020).

Инсулинорезистентность и сопутствующая ей гиперинсулинемия могут привести к развитию дислипидемии, гипергликемии, активации симпатoadреналовой и ренин-ангиотензин-альдостероновой системы, гормональным изменениям, эндотелиальной дисфункции, а также к ряду других нарушений в механизмах обменных процессов (Мустафаева, 2018). К основным причинам формирования инсулинорезистентности относятся следующие: снижение количества инсулиновых рецепторов, изменение их структуры или сродства к инсулину, нарушение функционирования глюкозного транспортера, эффект липотоксичности, обусловленный снижением активности фермента фосфатидилинозитол-3-киназы рецептора инсулина, чаще всего под действием свободных жирных кислот (СЖК) (Сяоян и др., 2016; Полозова и др., 2019).

В наших опытах по моделированию МС на основе фруктозообогащенной диеты наблюдался рост массы тела крыс опытной группы по сравнению с контрольной ($p < 0,05$) (Таблица 2).

Таблица 2 – Масса тела крыс опытной и контрольной группы при фруктозообогащенной диете в динамике эксперимента, Ме [25%; 75%]

День эксперимента	Контрольная группа, г	Опытная группа, г
1-й	259 [242;299]	255 [239,8;262,8]
21-й	265,5 [257,3;294]	281,5 [269,8;287,8]
35-й	269,5 [241,8;259,8]	300,5* [287,3;314,5]
60-й	282 [252,3;273,3]	294 [284,8;290]

Примечание: * - $p < 0,05$ статистическая значимость различий по отношению к контролю

По данным литературы, питание у крыс, обогащенное фруктозой, не всегда приводило к увеличению веса, поэтому такое повышение вполне допустимо (Решетняк и др., 2011; Лещенко и др., 2015).

В содержании глюкозы в сыворотке крови животных отмечалось ее достоверно значимое увеличение с 21-го дня и до конца эксперимента (Гилева, 2019) (Рисунок 15).

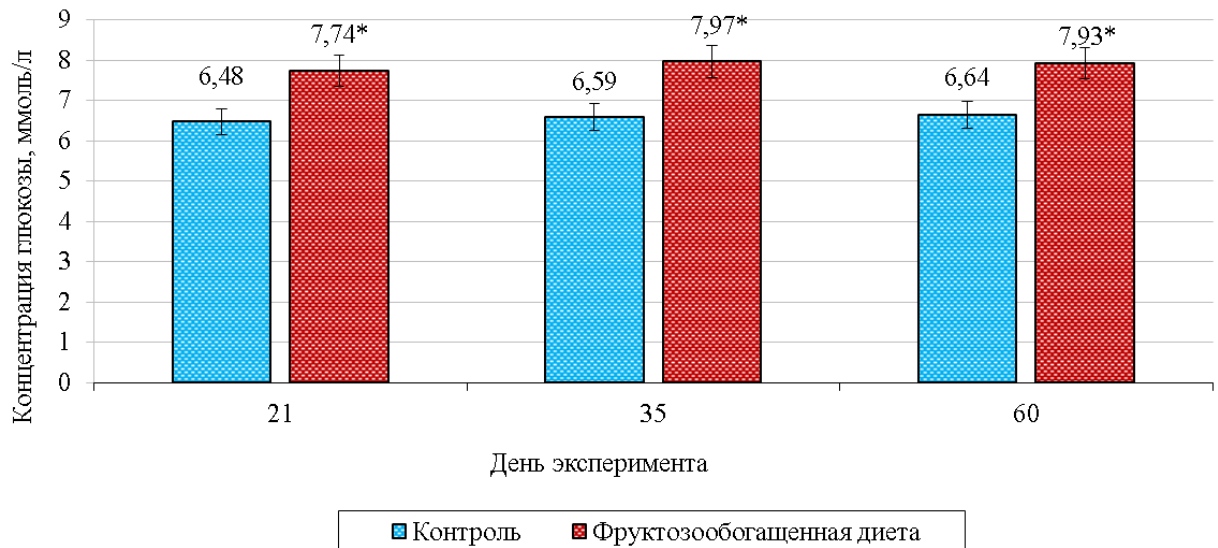


Рисунок 15 – Содержание глюкозы в крови опытной и контрольной групп крыс при фруктозообогащенной диете в динамике эксперимента

Примечание: * - $p < 0,05$ статистическая значимость различий по отношению к контролю

Повышение содержания глюкозы в крови в ходе эксперимента возможно связано с преимущественным образованием глюкозы из фруктозы в реакциях глюконеогенеза и изомеризации (Павлова и др., 2018).

Помимо этого, в силу уникальности своей структуры включение фруктозы в реакции метаболизма происходит через фруктозо-1-фосфат. Дальнейшее превращение фруктозы, в отличие от глюкозы, минует стадию, катализируемую регуляторным ферментом гликолиза – фосфофруктокиназой (Лещенко и др., 2015). Учитывая, что конечным продуктом данного обмена является ацетил-КоА, возможен его бесконтрольный синтез и образование большого количества по мере поступления фруктозы в организм (Рисунок 16).

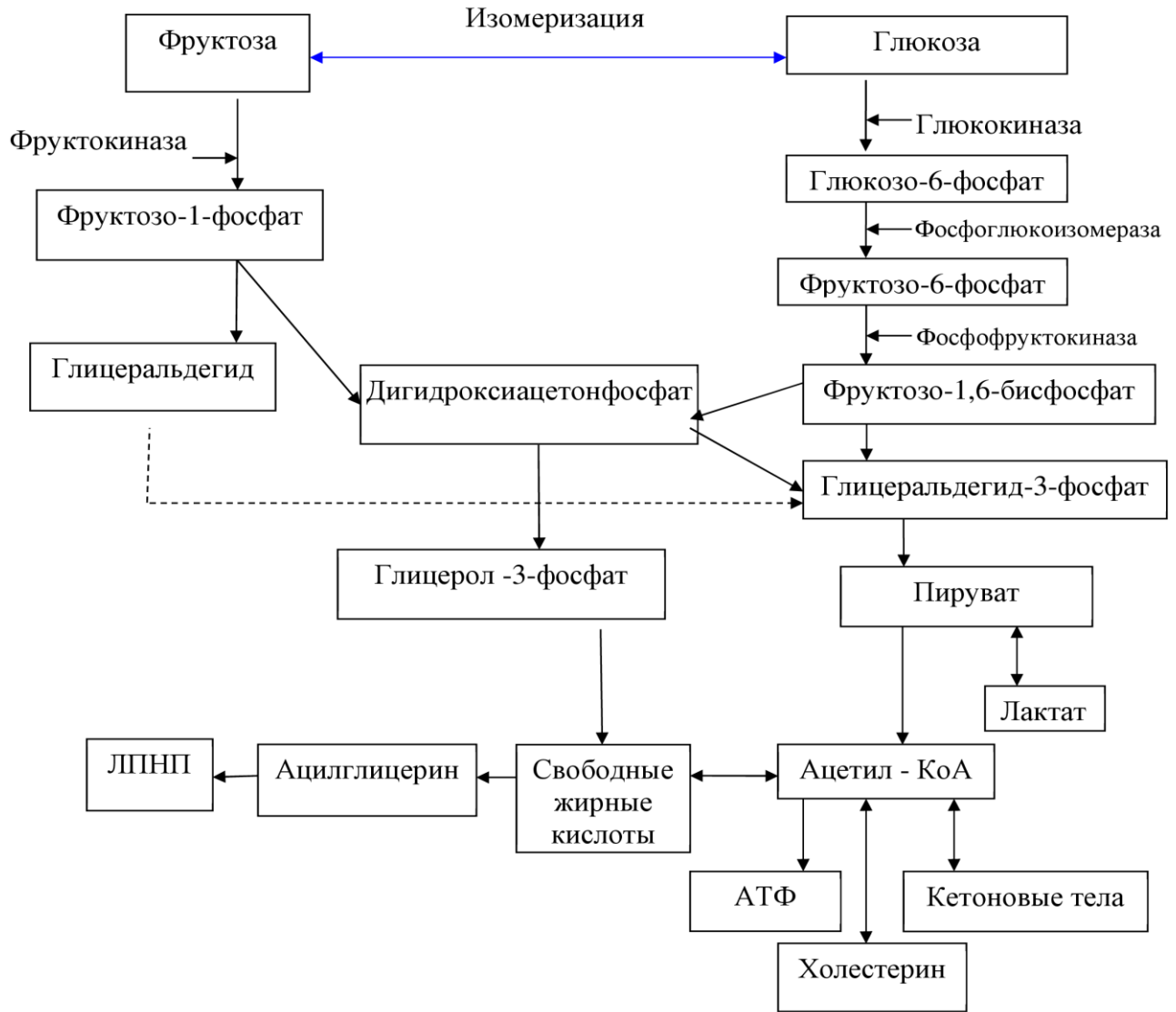


Рисунок 16 – Схема метаболизма фруктозы и глюкозы (Linda et al., 2009)

Образующийся ацетил-КоА в первую очередь расходуется на синтез аденозинтрифосфата (АТФ) для обеспечения необходимых энергетических затрат (Павлова и др., 2018). После образования достаточного и необходимого количества АТФ, избыток ацетил-КоА может расходоваться на синтез холестерина, СЖК, кетоновых тел (Павлова и др., 2018).

Утилизация СЖК в печени происходит, в том числе, путем активации глюконеогенеза, обуславливая тем самым гипергликемию (Сяоян и др., 2016).

За счет активации жирными кислотами фермента фосфатазы, участвующей в реакциях дефосфорилирования, необратимо нарушается фосфорилирование

инсулиновых рецепторов по аминокислоте тирозин и, как следствие, понижается активность ключевого фермента рецептора инсулина – фосфатидилинозитол-3-киназы, в результате чего нарушается транспорт глюкозы в клетку (Апратин и др., 2018; Lee et al., 2018). Это приводит к формированию инсулинорезистентности, что еще более усугубляет гипергликемию и влечет повышение концентрации инсулина в сыворотке крови.

Кроме того, в связи с повышенным количеством СЖК возможно нарушение механизма их окисления, активация перекисного окисления липидов (ПОЛ) и образование продуктов окисления, запускающих формирование оксидативного стресса и оказывающих липотоксическое воздействие на печень и сосудистый эндотелий (Добровольская и др., 2021). Данные процессы могут способствовать модификации клеточных мембран, в том числе затрагивая структуру инсулиновых рецепторов и снижая чувствительность инсулина к ним.

Как результат, в нашем эксперименте в условиях формирования МС на основе фруктозообогащенной диеты на 21-й, 35-й и 60-й день опыта отмечалось достоверно значимое увеличение концентрации инсулина в крови крыс (Гилева и др., 2022). Его уровень возрос на 42,9%, 59,5% и 124,5% относительно контрольных значений в соответствии с днями эксперимента, индексы инсулинорезистентности отличались от контроля статистически значимо ($p < 0,05$) (Таблица 3).

Таблица 3 – Биохимические показатели в сыворотке крови крыс при фруктозообогащенной диете, Ме [25%; 75%]

Показатели	21-й день эксперимента		35-й день эксперимента		60-й день эксперимента	
	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт
Инсулин, мкЕд/мл	1,68 [1,57;1,79]	2,4* [2,3;2,55]	1,63 [1,40;2,24]	2,6* [2,11;2,72]	1,47 [1,22;2,13]	3,3* [3;3,5]
НОМА, у.е.	0,48 [0,42;0,52]	0,85* [0,79;0,92]	0,49 [0,45;0,63]	0,91* [0,80;1,04]	0,42 [0,38;0,55]	1,17* [0,95;1,23]
CARO, у.е.	3,85 [3,43;4,16]	3,16* [3,04;3,36]	4,19 [2,82;4,78]	3,08 [0,58;3,20]	4,24 [3,11;5,95]	2,35* [2,19;2,58]

Примечание: * - $p < 0,05$ статистическая значимость различий по отношению к контролю

Инсулин обладает выраженной способностью к стимуляции липогенетических и липолитических процессов (Мисникова, 2016). Поэтому при высоком содержании инсулина СЖК активнее расходуются на синтез триглицеридов (ТГ), связываясь с продуктами углеводного метаболизма, в частности глицерол-3-фосфатом, с образованием ацилглицерина (Рисунок 3).

Вновь синтезированные ТГ взаимодействуют в печени с белковыми молекулами, ХС и образуют липопротеины очень низкой плотности (ЛПОНП). Образовавшиеся ЛПОНП затем транспортируются в сосудистое русло и под воздействием эндотелиальной липопротеинлипазы, расщепляющей входящие в их состав ТГ, превращаются в атерогенные липопротеины низкой плотности (ЛПНП), содержащие ХС, рост концентрации которых наряду с индексом атерогенности наблюдался в нашем эксперименте (Гилева и др., 2019) (Рисунок 17).

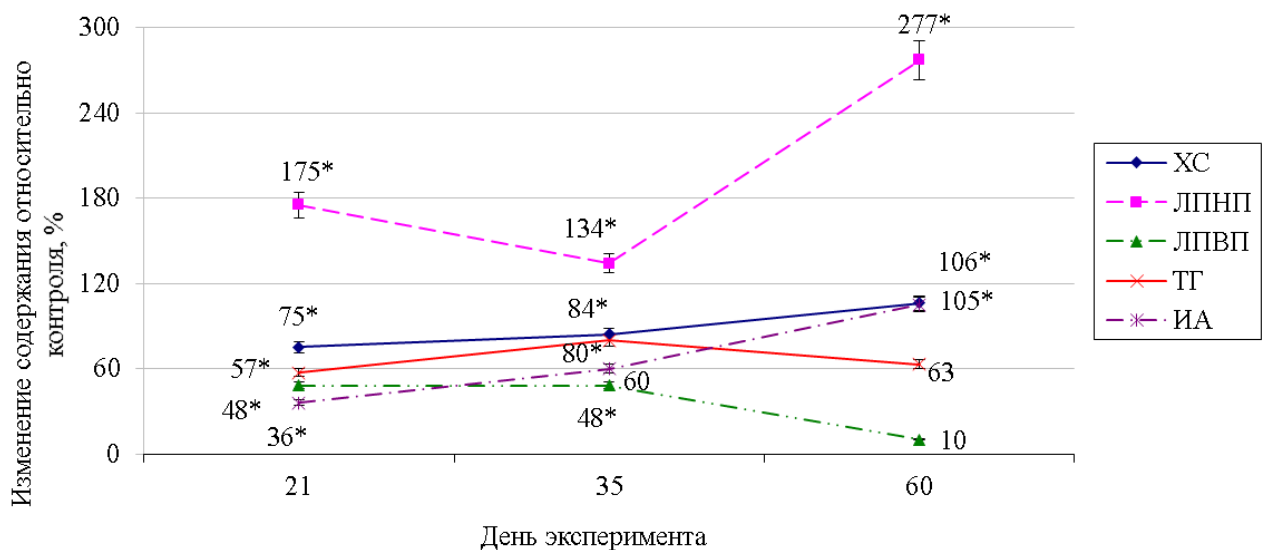


Рисунок 17 – Изменение показателей липидного профиля в крови опытных крыс при фруктозообогащенной диете в динамике эксперимента

Примечание: * - $p < 0,05$ статистическая значимость различий по отношению к контролю

На данном графике представлена общая тенденция возрастания уровня исследуемых компонентов липидного профиля. Наибольший рост был характерен

для ЛПНП в связи, вероятно, с выполнением ими транспортной функции и переносе упакованных молекул липидов из печени в ткани (Гилева, 2019). Возрастание уровня ЛПВП на 21-й день опыта, возможно, носило компенсаторный характер, учитывая генетическую предрасположенность крыс к преимущественному синтезу данных липопротеинов (Лещенко и др., 2015).

На 60-й день опыта концентрация ТГ и ЛПВП снижалась, приближаясь к контрольным значениям. Это могло быть связано с прекращением поступления метаболитов для синтеза ТГ и отсутствием прежней необходимости в ЛПВП в результате отмены фруктозообогащенной диеты, но с одновременной циркуляцией в крови ранее сформированных липидных структур.

Повышение уровня ИА, как маркера риска развития атеросклероза, в течение эксперимента могло свидетельствовать о некотором закреплении патологических изменений, вызванных нарушениями в липидном и углеводном обмене на фоне высокофруктозного питания.

В ткани печени в условиях фруктозообогащенной диеты наблюдалась тенденция роста содержания ХС, а также ЛПНП, ЛПВП и ТГ, однако достоверных изменений не отмечалось в течение всего эксперимента. Отсутствие достоверно значимого роста исследуемых показателей липидного обмена в печени могло быть связано с ускоренной элиминацией вновь образующихся соединений в кровяное русло.

Таким образом, экспериментальное моделирование МС на основе высокофруктозной диеты позволило воспроизвести основные признаки МС, а именно, тенденцию к увеличению массы тела животных, рост уровня показателей углеводного и липидного метаболизма в крови и положительную динамику в образцах ткани печени, формирование инсулинорезистентности. В связи с этим, моделирование метаболического синдрома на основе фруктозообогащенной диеты может послужить фундаментом для проведения исследований в дальнейшем.

3.2 Верификация экспериментальной модели метаболического синдрома на основе высокожировой диеты

Для оценки метаболических изменений в липидном и углеводном обмене нами была дополнительно выбрана диета с высоким содержанием животного жира. При высокожировой диете отмечалась тенденция увеличения массы тела крыс со статистически значимым отличием от контроля на 11,3% на 35-й день опыта ($p < 0,05$) (Таблица 4).

Таблица 4 – Масса тела крыс опытной и контрольной группы при высокожировой диете, Ме [25%; 75%]

День эксперимента	Контрольная группа, г	Опытная группа, г
1-й	259 [242;299]	251 [221,8;245,3]
21-й	265,5 [257,3;294]	266 [244;289,3]
35-й	269,5 [241,8;259,8]	300* [272,8;353,8]
60-й	282 [252,3;273,3]	287 [259,3;338,8]

Примечание: * - $p < 0,05$ статистическая значимость различий по отношению к контролю

Жир, попадая с пищей в организм, проходит ряд стадий преобразования до более простых продуктов реакции, из которых впоследствии синтезируются соединения, необходимые для организма в данный момент времени (Кольман и др., 2019). Основным продуктом метаболизма является ацетил-КоА, который после синтеза необходимого количества энергетических эквивалентов в форме АТФ, расходуется в том числе на образование молекул ХС, СЖК (Рисунок 3). СЖК и ХС в дальнейшем входят в состав транспортных форм липопротеинов в виде ЛПНП, которые циркулируют в кровяном русле.

Таким образом, чем больше экзогенных липидов поступает в организм, тем большее количество их конечных метаболитов образуется. Это отражалось в

возрастании содержания ХС, ЛПНП, ТГ и ЛПВП в крови крыс при высокожировой диете (Гилева и др., 2022) (Рисунок 18).

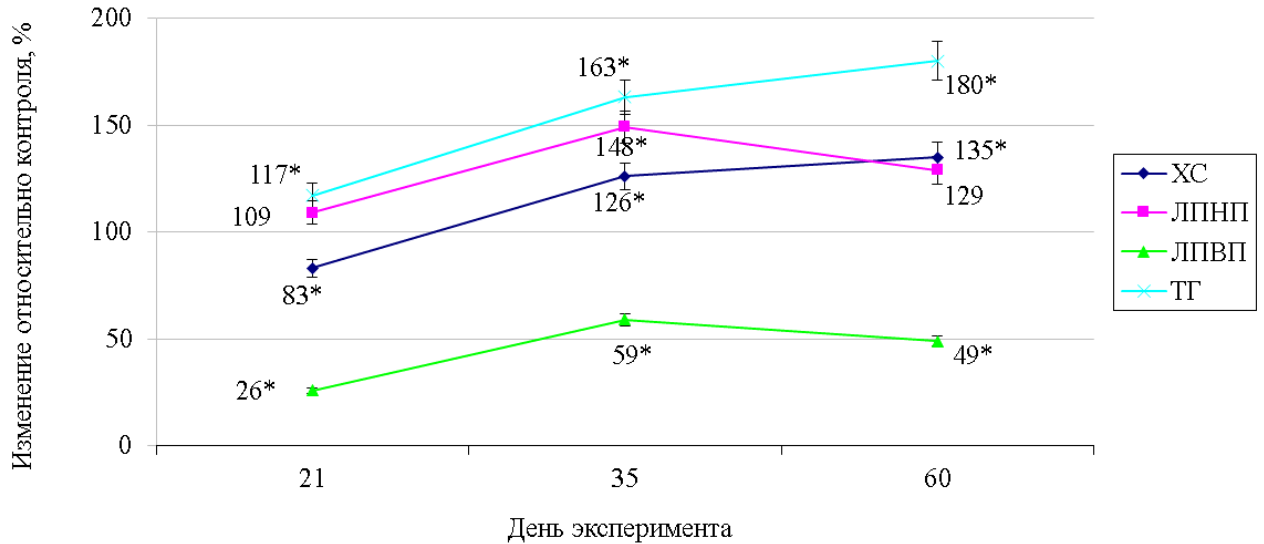


Рисунок 18 – Изменение показателей липидного профиля в крови крыс в динамике эксперимента при высокожировой диете

Примечание: * - $p < 0,05$ статистическая значимость различий по отношению к контролю

Исходя из полученных данных, отмечался выраженный рост всех исследуемых показателей липидного обмена, в особенности ТГ. Это вероятно связано с поступлением большого количества липидов с пищей и усилением процессов ассимиляции с образованием соответствующих метаболитов. Наблюдаемое возрастание ИА даже с незначительным снижением ЛПНП к концу эксперимента может свидетельствовать о преобладании атерогенных фракций липопротеинов в сравнении с антиатерогенными (Рисунок 19).

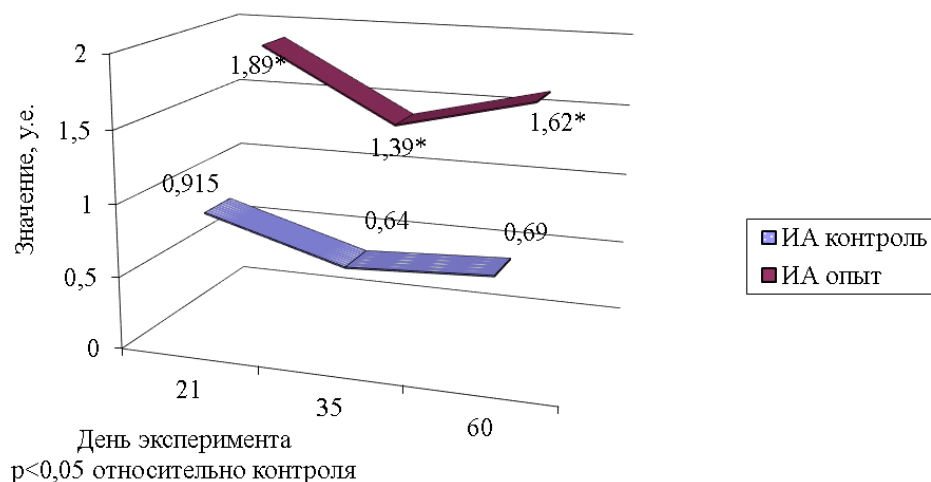


Рисунок 19 – Значения ИА в крови опытных и контрольных крыс в эксперименте в условиях высокожировой диеты

Примечание: * - $p < 0,05$ статистическая значимость различий по отношению к контролю

Жировая ткань кроме выполнения резервной функции является и эндокринным органом, секретирующим помимо гормонов еще и цитокины или адипокины. Известно, что адипоциты за счет экспрессии ими фактора некроза опухоли альфа, снижающего активность тирозинкиназы рецептора инсулина, могут привести к инсулинорезистентности путем ингибирования инсулинового сигнала в тканях-мишенях, либо угнетения опосредованного инсулином захвата глюкозы (Демьяненко и др., 2021; Самойлова и др., 2021).

Помимо этого, компоненты липидного обмена при избыточном поступлении в организм способны к активации реакции свободнорадикального окисления и оксидативного стресса с образованием продуктов перекисного окисления липидов, белков (Капустин и др., 2017; Добровольская и др., 2021). Это затрагивает в первую очередь составляющие клеточных мембран и входящие в их состав рецепторные структуры. Модификация рецепторов может привести к тяжелым последствиям для функционирования клеток, тканей, систем органов, причиной которых в своем большинстве является инсулинорезистентность, в практической деятельности определяемая ее расчетными коэффициентами – индексами инсулинорезистентности (HOMA и CARO) (Wallace et al., 2004).

Учитывая, что в норме индекс НОМА ниже контрольного значения, а CARO превышает его, то рассчитанные индексы явились подтверждением сформировавшейся инсулинорезистентности и сопутствующей гиперинсулинемии в условиях высокожировой диеты в нашем эксперименте (Терещенко и др., 2021) (Таблица 5).

Таблица 5 – Биохимические показатели в сыворотке крови крыс при высокожировой диете, Ме [25%; 75%]

Показатель	21-й день опыта		35-й день опыта		60-й день опыта	
	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт
Инсулин, мкЕд/мл	1,68 [1,57;1,79]	2,1 [1,88;2,3]	1,63 [1,4;2,24]	2,15 [2,1;3,13]	1,47 [1,22;2,13]	3,4* [3,3;4,13]
НОМА, у.е.	0,48 [0,42;0,52]	0,77* [0,66;0,85]	0,49 [0,45;0,63]	0,96* [0,91;1,30]	0,42 [0,39;0,55]	1,47* [1,29;1,72]
CARO, у.е.	3,85 [3,43;4,16]	3,87 [3,63;4,05]	4,19 [2,82;4,78]	4,53 [3,50;4,63]	4,24 [3,12;5,98]	2,3* [1,99;2,85]

Примечание: * - $p < 0,05$ статистическая значимость различий по отношению к контролю

Перечисленные метаболические изменения способствовали развитию гипергликемии, значимо выраженной на 21-й и 35-й день опыта ($p < 0,05$) (Рисунок 20).

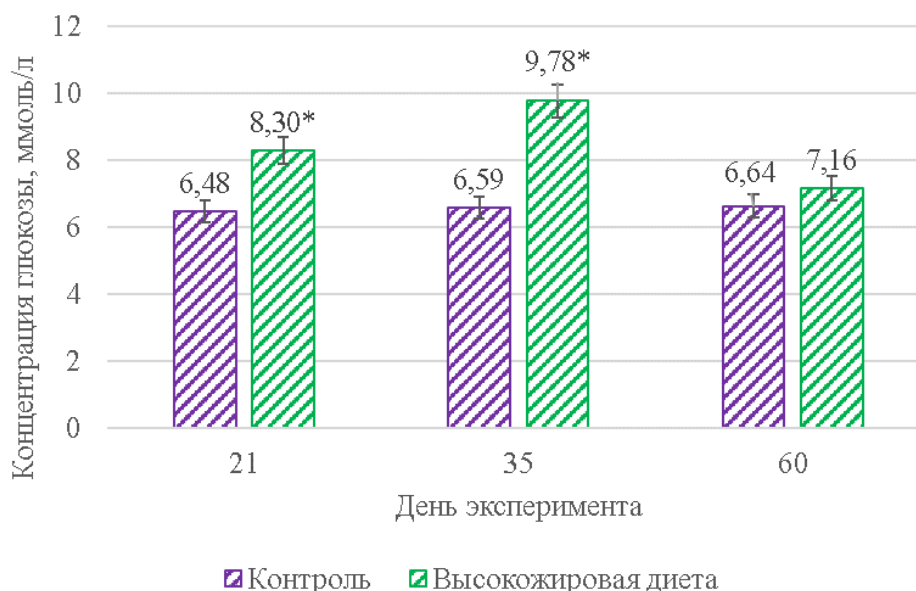


Рисунок 20 – Содержание глюкозы в крови опытных и контрольных крыс в условиях высокожирового питания

Примечание: * - $p < 0,05$ статистическая значимость различий по отношению к контролю

Необходимо отметить, что на фоне снижающейся концентрации глюкозы уровень инсулина к окончанию эксперимента возрастал. Это могло быть связано с гиперфункцией β -клеток поджелудочной железы в результате резкого подъема содержания глюкозы в начале эксперимента.

По данным литературы, при наличии избыточного жира в адипоцитах нарушается их функция по накоплению ТГ. В результате чего ТГ, а также ХС начинают накапливаться в других клетках, включая миоциты и гепатоциты (Мисникова, 2016). В нашем эксперименте уровень ХС и ТГ в ткани печени опытных крыс достоверно возрастал, отличаясь от значений интактных животных на 21-й и 35-й день опыта, остальные показатели демонстрировали положительную динамику, за исключением ЛПВП, хотя и не достигали статистически значимых отличий от контроля в течение эксперимента (Таблица 6).

Таблица 6 – Изменение показателей липидного обмена в ткани печени при высокожировой диете относительно контроля, %

Показатели	21-й день опыта	35-й день опыта	60-й день опыта
ХС	18*	24*	9
ЛПНП	35	6	37
ТГ	81*	72*	5
ЛПВП	-3	21	-8
ИА	61	30	25

Примечание: * - $p < 0,05$ статистическая значимость различий по отношению к контролю

Снижение ХС и ТГ на 60-й день эксперимента вероятно связано с формированием ЛПНП, увеличение которых наблюдалось к концу опыта, включением в их состав ранее синтезированных ХС, ТГ и их дальнейшая транспортировка в кровяное русло.

Таким образом, при высокожировой диете отмечалась тенденция к увеличению массы тела крыс с достоверно отличным от контроля значением на 35-й день опыта. Помимо этого, был характерен выраженный рост ХС и ТГ как в крови, так и в ткани печени крыс. Концентрация глюкозы, увеличиваясь на 21-й и 35-й день опыта, к его окончанию достигла уровня интактных животных, тогда

как содержание инсулина только в этот период возросло до статистически отличных от контроля значений. Такие изменения характерны для метаболического синдрома, поэтому данная диета может быть использована для его экспериментального моделирования.

3.3 Активность специфических ферментов печени в сыворотке крови крыс при экспериментальных моделях метаболического синдрома

Инсулинорезистентность, гиперинсулинемия и ассоциированные с ними нарушения липидного и углеводного обмена с секрецией адипоцитокинов, окислительным стрессом на фоне фруктозообогатенной и высокожировой диет являются начальным звеном деструктивных процессов в клеточных структурах, причем на ранних стадиях преобладающих в гепатоцитах (Денисов и др., 2017; Селиванова и др., 2021). Гиперинсулинемия усиливает липолиз, глюконеогенез, влияет на структурные и функциональные характеристики клеточных органелл. Помимо этого, стимулирует липогенез, снижает синтез ЛПОНП и ЛПНП в гепатоцитах и их выведение в кровяное русло. Все это способствует накоплению липидов в клетках печени и последующему развитию цитолиза гепатоцитов (Денисов и др., 2017; Селиванова и др., 2021).

Основными специфическими маркерами цитолиза гепатоцитов являются ферменты – АЛТ, АСТ, ЩФ и ЛДГ, возрастание активности которых отмечалось в ходе нашего эксперимента (Гилева, 2020). Так, в условиях высокофруктозной диеты наблюдалось увеличение активности изучаемых ферментов в сыворотке крови крыс на 21-ый день опыта с наибольшим возрастанием ЛДГ – на 35-й день и ЩФ – на 60-й день опыта (Рисунок 21).

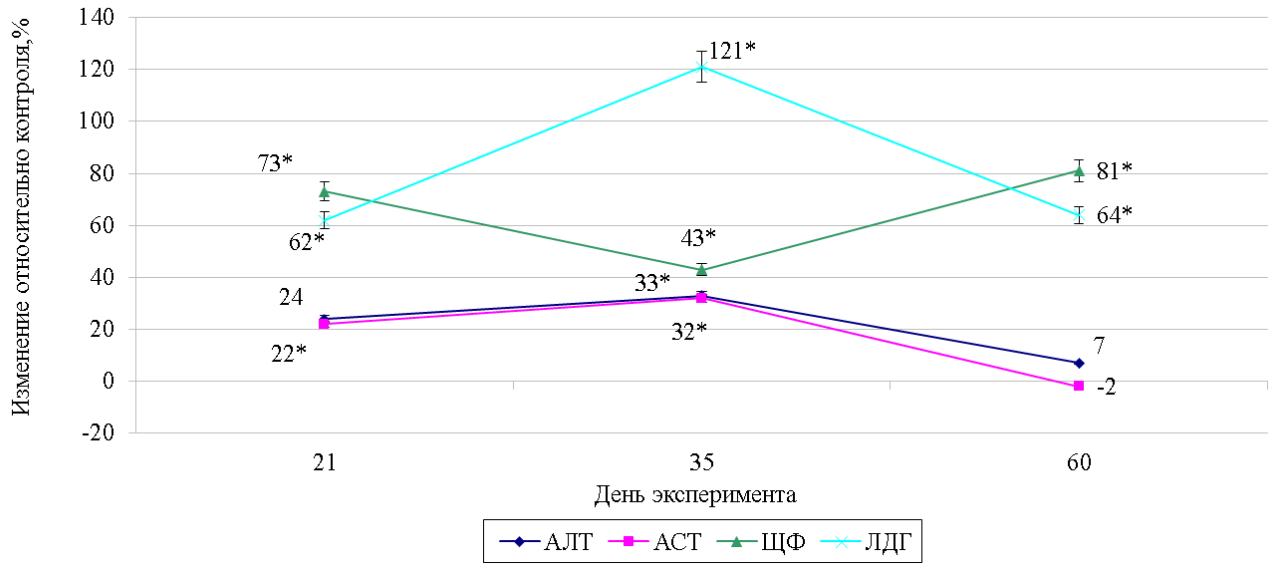


Рисунок 21 – Изменение активности ферментов в крови крыс при фруктозообогащенной диете в динамике эксперимента

Примечание: * - $p < 0,05$ статистическая значимость различий по отношению к контролю

Выраженное возрастание ЛДГ и ЩФ возможно обусловлено их содержанием и в других органах, вероятно также подвергнувшихся деструктивному воздействию назначенной диеты. Значения активности АСТ и АЛТ к окончанию эксперимента возвращались к показателям интактных животных, что может быть связано с восстановлением структурной целостности гепатоцитов.

В условиях высокожировой диеты в крови животных наблюдался рост активности ЩФ и ЛДГ преимущественно на 35-й день, АЛТ – на 21-й день опыта (Рисунок 22). Это могло свидетельствовать о возможной активации деструктивных процессов как в гепатоцитах, так и, вероятно, в клетках других локализаций в данных условиях эксперимента.

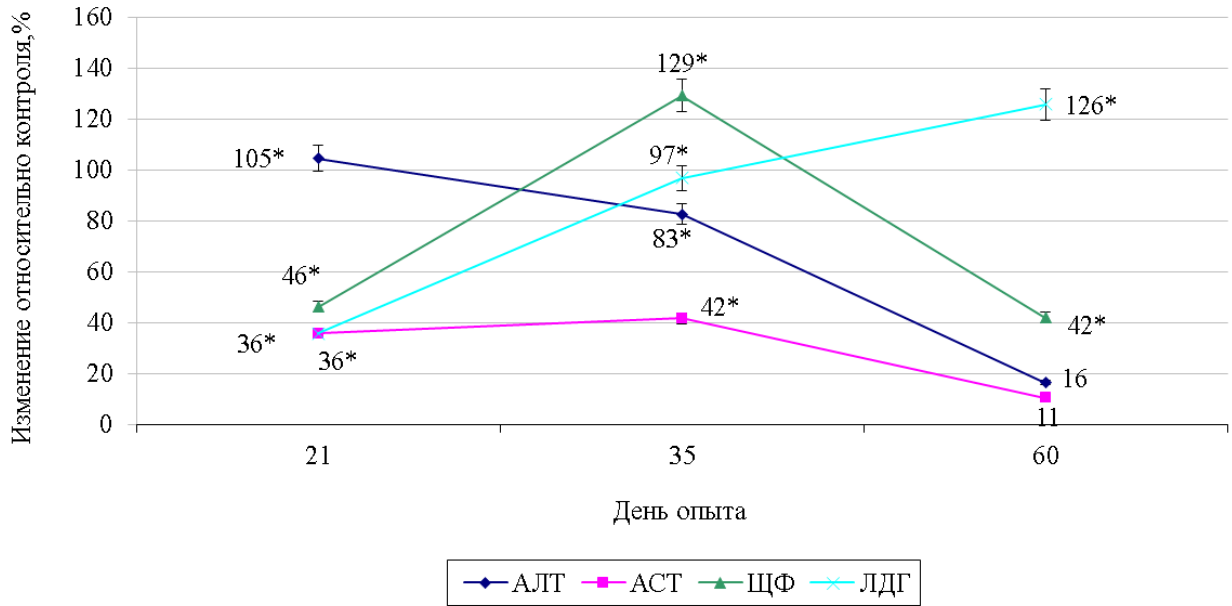


Рисунок 22 – Изменение активности ферментов в крови крыс при высокожировой диете

Примечание: * - $p < 0,05$ статистическая значимость различий по отношению к контролю

Активность АСТ в крови животных имела наибольшее значение на 35-ый день опыта и снижалась, как и АЛТ, до уровня активности изучаемых ферментов контрольных животных к концу эксперимента. Значения активности ЩФ и ЛДГ оставались достоверно отличными от контроля на 60-ый день опыта (Рисунок 22).

Таким образом, как фруктозообогащенная, так и высокожировая диета вызывала изменения в показателях активности специфических ферментов печени в крови крыс. При этом изменения в активности изучаемых энзимов в сыворотке крови при высокожировой диете носили более выраженный характер, чем при фруктозообогащенной, в особенности на 21-й и 35-й дни опытов. Как известно, эти ферменты являются индикаторами цитолитических реакций в гепатоцитах. Поэтому возрастающая активность изучаемых ферментов в сыворотке крови животных может свидетельствовать о нарушении структурной целостности гепатоцитов на фоне изучаемых высококалорийных диет.

3.4 Оценка основных показателей липидного и углеводного обмена, активность ферментов печени при длительном иммобилизационном стрессе

При стрессовой реакции организма активируется гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковая система (Жигулина, 2014). В результате такой активации возникает формирование адаптационного синдрома, характеризующегося изменениями в надпочечниках и высвобождением в кровь так называемых гормонов стресса, основным из которых у крыс является кортикостерон (Гостюхина и др., 2022). Причем известно, что увеличение количества глюкокортикоидных гормонов снижает интенсивность анаболических и повышает выраженность катаболических процессов в организме (Жигулина, 2014).

В нашем эксперименте при двухчасовой иммобилизации крыс с промежуточным показателем стресс-устойчивости отмечалась тенденция к увеличению содержания кортикостерона в сыворотке крови на 21-й день опыта с наибольшим статистически значимым отличием от контроля на 35-й день (+18,8%; $p < 0,05$) (Гилева и др., 2021) (Таблица 7).

Увеличение концентрации кортикостерона в крови соответствовало достоверному нарастанию массы надпочечников у крыс опытной группы на 35-й день эксперимента на 79,7% ($p < 0,05$) в сравнении с контрольной, что согласуется с литературными данными (Полина и др., 2020).

Одним из доказательств интенсификации катаболических реакций может являться наблюдаемое выраженное снижение массы тела животных в нашем эксперименте на 35-й день опыта в 1,17 раза относительно контроля ($p < 0,05$) (Таблица 7).

Таблица 7 – Содержание кортикостерона в сыворотке крови, масса надпочечников, индекс массы надпочечников и масса тела крыс при иммобилизационном стрессе, Ме [25%; 75%]

Показатель	21-й день опыта		35-й день опыта		60-й день опыта	
	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт
Кортикостерон, нмоль/л	325 [245,2;362,2]	349 [347,5;351,2]	313 [285;323,9]	372* [369,7;374,1]	322 [287,4;364,3]	367 [336,7;372,4]
Масса надпочечников, мг	29,5 [24;33,3]	36 [28,5;39,5]	29,5 [23,3;33,3]	53* [50,5;78,3]	30 [21;34,5]	31 [23,3;41,8]
Масса тела крыс, г	224 [215,7;243,8]	218 [213,3;223,5]	247 [232,5;264]	210,5* [204,8;220,5]	258,5 [249;279,3]	241 [216,8;260,5]
Индекс массы надпочечников, %	13,7 [9,8;14,45]	16,5 [13,13;17,73]	12,2 [9,93;12,75]	24,9* [23,33;34,28]	10,9 [8,65;13,38]	13,2 [9,85;17,13]

Примечание: * - $p < 0,05$ статистическая значимость различий по отношению к контролю

К окончанию эксперимента концентрация кортикостерона снижалась, хотя и оставалась выше значений интактных животных ($p > 0,05$).

По данным литературы, выброс большого количества катехоламинов в кровь ведет к активации гликогенолиза в печени и развитию гипергликемии (Жигулина, 2014; Полина и др., 2020). Однако, на первом временном отрезке концентрация как глюкозы, так и инсулина была ниже их уровня контрольной группы животных (Таблица 8).

Это вероятно обусловлено ускоренным потреблением энергетических эквивалентов на начальном этапе стресса, наиболее подходящим источником которых являются молекулы глюкозы. Ко второму исследуемому временному диапазону содержание глюкозы и инсулина незначительно возрастало, на 60-й день наблюдалась тенденция к его снижению ($p > 0,05$). Это согласуется с представлениями об инициации симпатoadреналовой системы в период стресса и замедлением синтетических процессов (Быкова и др., 2010).

Еще одним энергетическим субстратом, участвующим в процессах адаптации к стрессогенному фактору, могут быть ТГ, уровень которых в крови

был достоверно ниже контрольного на 40,9% и 26,8% на 21-й и 35-й день опыта соответственно ($p < 0,05$) (Таблица 8).

Таблица 8 – Показатели липидного и углеводного обмена в крови крыс при иммобилизационном стрессе, Ме [25%; 75%]

Показатель	21-й день опыта		35-й день опыта		60-й день опыта	
	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт
Глюкоза, ммоль/л	6,76 [5,91;7,23]	6,11 [6,04;6,25]	6,69 [5,52;8,17]	7,73 [6,68;8,36]	6,84 [5,44;7,48]	7,25 [5,99;8,01]
Инсулин, мкЕд/мл	1,75 [1,45;2,13]	1,65* [0,8;1,93]	1,6 [1,35;1,9]	1,85 [1,48;2,4]	1,6 [1,2;2,33]	1,65 [0,85;1,9]
ТГ, ммоль/л	1,1 [1,02;1,12]	0,65* [0,61;0,68]	0,97 [0,90;1,03]	0,71* [0,69;0,76]	1,10 [0,74;1,13]	0,74 [0,49;0,81]
ХС, ммоль/л	1,05 [1,02;1,1]	1,73* [1,62;1,79]	1,0 [0,92;1,14]	1,21* [1,17;1,24]	1,09 [1,03;1,13]	1,06 [0,91;1,58]
ЛПНП, ммоль/л	0,14 [0,07;0,26]	0,37* [0,26;0,44]	0,18 [0,08;0,27]	0,35* [0,31;0,36]	0,16 [0,14;0,23]	0,31 [0,19;0,46]
ЛПВП, ммоль/л	0,55 [0,49;0,58]	1,02* [0,97;1,05]	0,53 [0,39;0,61]	0,5 [0,49;0,55]	0,52 [0,41;0,55]	0,46 [0,38;0,63]
ИА, у.е.	0,93 [0,86;1,03]	0,66* [0,62;0,73]	0,96 [0,76;1,42]	1,33 [1,17;1,46]	1,15 [0,94;1,59]	1,44 [1,16;1,64]
НОМА, у.е.	0,49 [0,41;0,54]	0,45 [0,22;0,52]	0,51 [0,42;0,55]	0,72 [0,45;0,82]	0,49 [0,35;0,6]	0,46 [0,25;0,67]
САРО, у.е.	3,59 [2,71;5,2]	3,77 [3,2;7,58]	4,03 [3,22;5,92]	4,39 [3,49;4,64]	4,26 [3,0;4,45]	4,18 [3,98;6,84]

Примечание: * - $p < 0,05$ статистическая значимость различий по отношению к контролю

Содержание ХС в крови крыс достоверно возросло на 64,8% и 164,3%, а ЛПНП – на 21% и 94,4% относительно контроля на 21-й и 35-й день эксперимента соответственно ($p < 0,05$). Увеличение содержания ХС и ЛПНП возможно связано с усилением их синтеза в ответ на дегенеративные изменения в клеточных структурах. Помимо этого, накопление перекисей липидов, ингибирующих фермент 7-гидроксилазу, ключевого в метаболизме ХС, тормозит его распад в гепатоцитах (Солин и др., 2013; Vlaardingerbroek et al., 2014). Накопление атерогенных липопротеинов способствовало незначительному возрастанию ИА на 35-й и 60-й день опыта ($p > 0,05$) (Таблица 8). При этом длительный иммобилизационный стресс не привел к формированию инсулинорезистентности.

Влияние гормонов стресса на общий метаболизм отражалось в изменении активности изучаемых специфических ферментов печени в сыворотке крови крыс.

За счет усиления процессов трансаминирования при стрессе имела тенденцию к повышению активность АЛТ и АСТ с выраженным увеличением активности АЛТ на 35-й день опыта – на 36,9% относительно контроля ($p < 0,05$) (Таблица 9).

Таблица 9 – Активность ферментов в сыворотке крови крыс при иммобилизационном стрессе, Ме [25%; 75%]

Показатель	21-й день опыта		35-й день опыта		60-й день опыта	
	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт
АЛТ, Ед/л	40,4 [39,5;44,1]	52,6 [47,2;57,9]	39,8 [35,6;42,1]	54,5* [51,6;56,2]	34,9 [32,4;40,9]	35,4 [28,5;43,9]
АСТ, Ед/л	149 [129,7;180,4]	157,6 [147,2;175,5]	144,1 [133,3;175,3]	197,1 [173,1;200,1]	146,7 [141,7;157,2]	141,4 [138,7;156,5]
ЩФ, Ед/л	110 [89;120,2]	117,5 [110,8;140,8]	100 [90,3;120,8]	141,5* [116,5;158,3]	86 [75,5;105]	87 [77,5;113,3]
ЛДГ, Ед/л	1600 [1493;1788]	2091* [1958;2128]	1759 [1557;1876]	2049 [1913;2087]	1610 [1539;1677]	1699 [1546;1787]

Примечание: * - $p < 0,05$ статистическая значимость различий по отношению к контролю

Значительное влияние на изменение активности ферментов вероятно оказал оксидативный стресс на фоне избыточного накопления соединений липидного профиля. В результате увеличилась проницаемость клеточных мембран и выход ферментов в кровяное русло (Быкова и др., 2010).

Наряду с трансаминазами ферментами клеточного цитолиза, в частности гепатоцитов, являются ЛДГ и ЩФ, активность которых в крови крыс возрастала в ходе эксперимента. Причем активность ЛДГ существенно повышалась уже на 21-й день опыта на 30,7% по сравнению с контролем ($p < 0,05$), что, по-видимому, обусловлено ее участием в окислительно-восстановительных реакциях, усиливающихся при иммобилизационном стрессе. Это подтверждают данные литературы о преобладании анаэробного окисления глюкозы над аэробным и избыточного накопления лактата на фоне развивающейся гипоксии в результате ограничения двигательной активности животных (Айрапетян и др., 2017).

Выраженный подъем активности ЩФ в сыворотке крови на 41,5% выше уровня контроля ($p < 0,05$) на 35-й день эксперимента может быть обусловлен помимо печеночной фракции элиминацией ЩФ из костной ткани вследствие ее

распада и высвобождения ферментов и других минеральных компонентов (Быкова и др., 2010). После отмены воздействия стресс-фактора активность ЩФ и ЛДГ снижалась, достигая значений активностей интактных животных ($p > 0,05$) (Таблица 9).

В ткани печени крыс отмечалась тенденция к накоплению исследуемых показателей липидного обмена с положительной динамикой на 21-й день эксперимента и нормализацией к его окончанию (Таблица 10).

Таблица 10 – Показатели липидного обмена в ткани печени крыс при иммобилизационном стрессе, Ме [25%; 75%]

Показатель	21-й день эксперимента		35-й день эксперимента		60-й день эксперимента	
	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт
ХС, ммоль/100г	1,63 [1,32;1,79]	2,04 [1,73;2,20]	1,72 [1,31;1,86]	2,13 [1,27;2,31]	1,72 [1,27;2,02]	1,71 [1,12;1,83]
ЛПНП, ммоль/100г	0,27 [0,02;0,61]	0,41 [0,21;0,63]	0,34 [0,19;0,79]	0,36 [0,14;0,62]	0,49 [0,15;0,95]	0,39 [0,09;0,69]
ЛПВП, ммоль/100г	0,83 [0,76;0,89]	0,78 [0,62;0,95]	0,71 [0,51;0,89]	0,94 [0,86;0,99]	0,69 [0,61;0,81]	0,68 [0,49;0,89]
ТГ, ммоль/100г	0,98 [0,69;1,09]	1,14 [0,92;1,82]	0,92 [0,80;1,02]	1,22 [0,65;1,53]	0,94 [0,84;1,0]	0,84 [0,71;0,97]

Таким образом, при проведении эксперимента с иммобилизационным стрессом реализовались основные изменения в биохимических показателях, характерные для стрессового воздействия. Наблюдалось возрастание концентрации кортикостерона, увеличение массы надпочечников, снижение массы тела крыс. Вместе с тем, можно отметить первоначальное снижение уровня изучаемых показателей углеводного обмена и ТГ в крови крыс с последующей их тенденцией к увеличению. Наряду с этим, такие компоненты липидного спектра как ХС и ЛПНП возрастали на первом временном интервале опыта и снижались к его окончанию. Активность исследуемых специфических ферментов печени в заданных условиях иммобилизации в целом имела общую направленность к увеличению. Наблюдаемые нарушения соответствовали ранее описанным в теоретических и практических материалах, поэтому эксперименты с

иммобилизацией в качестве стресс-фактора могут иметь место в исследовательской практике.

3.4.1 Основные показатели липидного и углеводного обмена, активность ферментов печени при иммобилизационном стрессе и фруктозообогатенной диете

Метаболические нарушения на фоне стрессогенного воздействия в виде иммобилизации с дополнительным назначением фруктозообогатенной диеты в нашем исследовании отражались в изменениях исследуемых показателей следующим образом. Так, уровень кортикостерона возрастал на 21-й день эксперимента и достигал статистически значимых отличий от уровня контрольной группы животных на 35-й день опыта (+9,4%; $p < 0,05$) (Таблица 11).

Таблица 11 – Содержание кортикостерона в сыворотке крови, масса надпочечников, индекс массы надпочечников и масса тела крыс при фруктозообогатенной диете и иммобилизационном стрессе, Ме [25%; 75%]

Показатель	21-й день опыта		35-й день опыта		60-й день опыта	
	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт
Кортикостерон, нмоль/л	325 [245,2;362,2]	356 [349,5;364,5]	313 [285;323,9]	349* [346,5;354,8]	322 [287,4;364,3]	345 [338,3;346,6]
Масса надпочечников, мг	29,5 [24;33,3]	38,5* [35,8;43,3]	29,5 [23,3;33,3]	45,5* [37;53,3]	30 [21;34,5]	39* [34,5;42,5]
Масса тела крыс, г	224 [215,8;243,8]	270,5* [291,3;344,5]	247 [232,5;264]	261,5 [221,3;306,5]	258,5 [249;279,3]	262,5 [202;309]
Индекс массы надпочечников, %	13,7 [9,8;14,45]	15,5 [12,65;17,25]	12,2 [9,93;12,75]	16* [14,3;18,28]	10,9 [8,65;13,38]	13,5 [12,5;20,08]

Примечание: * - $p < 0,05$ статистическая значимость различий по отношению к контролю

По-видимому, совместное воздействие иммобилизации и обогащенной фруктозой диеты вызывало стрессовую реакцию у крыс. Это подтверждало достоверное увеличение массы надпочечников на 30,5%, 54,2% и 30% по

сравнению с контрольной группой на 21-й, 35-й и 60-й день эксперимента соответственно ($p < 0,05$) (Таблица 11).

Набор веса на 20,8% больше контрольного значения на 21-й день опыта может быть обусловлен особенностями метаболизма фруктозы, связанными с ее превращением в липиды, приводящие к дополнительному накоплению жира и последующему увеличению массы тела (Таблица 11).

Помимо этого, в условиях иммобилизации и высокофруктозного питания выявилась тенденция роста содержания глюкозы и инсулина в крови на 35-й день опыта (Рисунок 23).

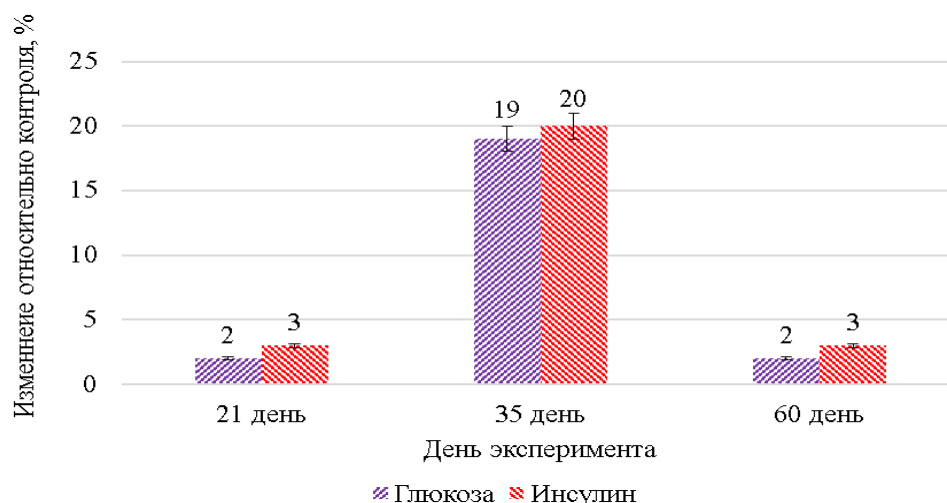


Рисунок 23 – Динамика изменения содержания глюкозы и инсулина в крови крыс при иммобилизации в условиях фруктозообогащенной диеты

Положительная направленность роста исследуемых показателей углеводного обмена при сочетании иммобилизации и высокофруктозной диеты, возможно, была связана как с воздействием иммобилизационного стресса и активацией катаболических реакций, так и с усилением превращения фруктозы в глюкозу в реакциях изомеризации при данной диете.

В исследуемых показателях липидного обмена в крови крыс в целом можно отметить их возрастание с существенным ростом на 35-й день эксперимента (Рисунок 24).

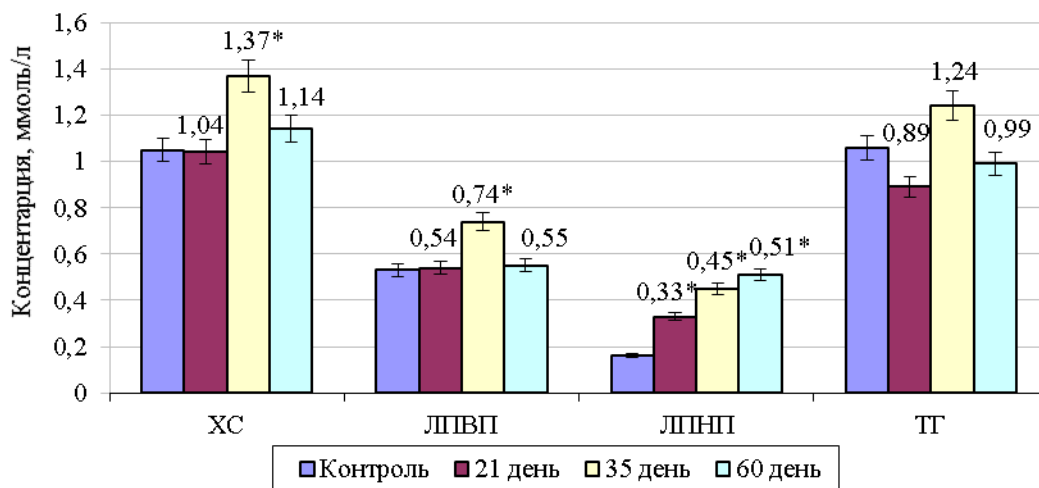


Рисунок 24 – Содержание компонентов липидного профиля в крови крыс в условиях иммобилизации и фруктозообогащенной диеты

Примечание: контроль – среднее значение контрольных групп по трем временным точкам,

* - $p < 0,05$ статистическая значимость различий по отношению к контролю

Так, рост ХС, ЛПВП и ЛПНП в крови крыс при иммобилизации и фруктозообогащенной диете на 35-й день опыта составил 30,5%, 39,6% и 181,3% по отношению к контролю соответственно ($p < 0,05$). На 60-й день опыта статистически значимое увеличение имело лишь ЛПНП (+218,7%; $p < 0,05$) Содержание ТГ имело тенденцию к увеличению на 35-й день эксперимента, но не достигло статистически значимых отличий от интактной группы крыс. В индексах инсулинорезистентности достоверных отличий от контроля не было.

В показателях цитолиза гепатоцитов в сыворотке крови животных наблюдалась динамика увеличения активности печенъспецифических ферментов к 35-му дню эксперимента (Рисунок 25).

Как видно из рисунка, наибольший рост активности был характерен для ЩФ на 35-й день опыта с 100 до 134,5 Ед/л, что возможно обусловлено ее локализацией как в печени, так и в других тканевых структурах (Северин, 2020).

В гомогенате ткани печени крыс при иммобилизации в условиях фруктозообогащенной диеты прослеживалась положительная динамика изменения содержания исследуемых компонентов липидного профиля. На 35-й

день отмечалось незначительное нарастание уровня ХС, ЛПНП, ТГ и ЛПВП с последующим снижением и нормализацией к 60-му дню (таблица 12).

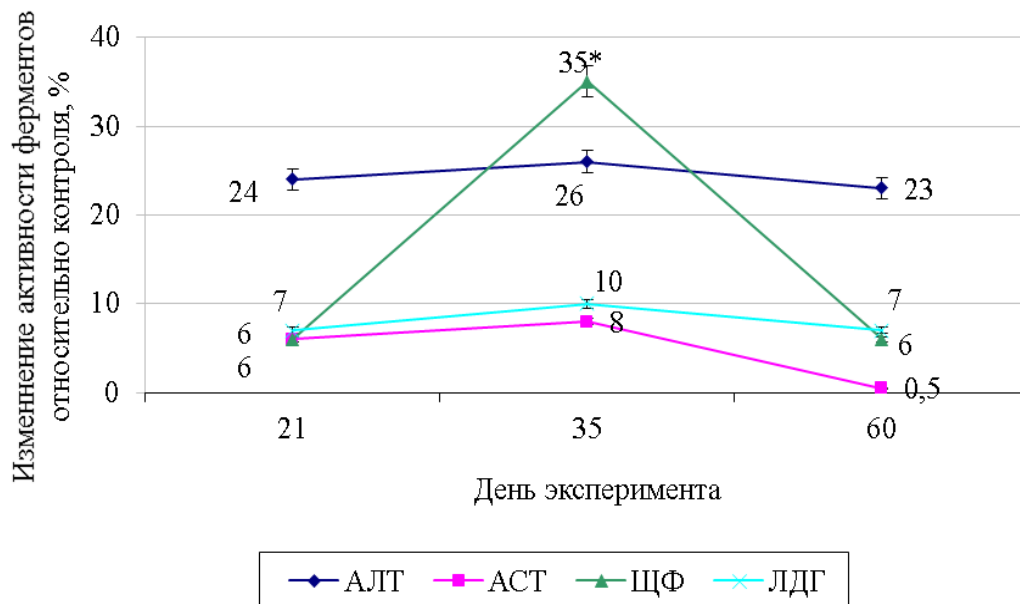


Рисунок 25 – Динамика изменения активности ферментов в крови крыс при иммобилизации в условиях фруктозообогащенной диеты

Примечание: * - $p < 0,05$ статистическая значимость различий по отношению к контролю

Таблица 12 – Показатели липидного обмена в ткани печени крыс при иммобилизационном стрессе и фруктозообогащенной диете, Ме [25%; 75%]

Показатели	21-й день эксперимента		35-й день эксперимента		60-й день эксперимента	
	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт
ХС, ммоль/100г	1,63 [1,32;1,79]	1,78 [1,42;2,04]	1,72 [1,31;1,86]	1,97 [1,72;2,05]	1,72 [1,27;2,02]	1,75 [1,56;1,99]
ЛПВП, ммоль/100г	0,83 [0,76;0,89]	0,89 [0,73;1,03]	0,71 [0,51;0,89]	1,01 [0,76;1,04]	0,69 [0,61;0,81]	0,71 [0,62;0,89]
ЛПНП, ммоль/100г	0,27 [0,02;0,61]	0,28 [0,26;0,39]	0,34 [0,19;0,79]	0,44 [0,19;0,75]	0,49 [0,15;0,95]	0,49 [0,21;0,66]
ТГ, ммоль/100г	0,98 [0,69;1,09]	1,14 [0,64;1,63]	0,92 [0,8;1,02]	1,26 [1,13;1,29]	0,94 [0,84;1]	0,98 [0,77;1,17]

Таким образом, совместное воздействие фруктозообогащенной диеты и иммобилизационного стресса приводило к увеличению концентрации кортикостерона, массы надпочечников и массы тела крыс. Причем масса тела и надпочечников крыс достоверно возрастали на 21-й день опыта. В то же время при «изолированном» иммобилизационном стрессе наибольшее возрастание кортикостерона, массы тела крыс и массы надпочечников наблюдалось к 35-му дню эксперимента. Помимо этого, при сочетанном воздействии изучаемой диеты и иммобилизации отмечалась положительная динамика возрастания содержания глюкозы и инсулина и значительный рост компонентов липидного спектра в крови крыс на 35-й день, а ЛПНП – и на 60-й день - эксперимента. Напротив, в условиях только двухчасовой иммобилизации показатели углеводного обмена и ТГ снижались на 21-й день опыта с дальнейшей тенденцией к возрастанию, а такие показатели липидного профиля как ХС и ЛПНП существенно возрастали на 21-й и 35-й дни эксперимента. Инсулинорезистентность не сформировалась. Как результат выявленных обменных нарушений, наблюдалась положительная динамика в изменении активности специфических ферментов печени в сыворотке крови крыс. К окончанию эксперимента все исследуемые показатели как при иммобилизационном стрессе, так и в сочетании с фруктозообогащенной диетой, за исключением ЛПНП, от контроля существенно не отличались.

3.4.2 Основные показатели липидного и углеводного обмена, активность ферментов печени при иммобилизационном стрессе и высокожировой диете

Особенности высокожировой диеты связаны с дополнительным поступлением жира из внешних источников, что сказывается на общем метаболизме. Стрессовая нагрузка в форме иммобилизации приносит еще больше изменений в обменные процессы. Но, являясь значительным источником энергии, экзогенные жиры в некотором роде покрывают энергетические затраты организма, необходимые для адаптации к стресс-фактору. Поэтому в условиях

нашего эксперимента прослеживались некоторые особенности в изучаемых показателях.

Масса тела крыс достоверно возрастала на 22,8% относительно контроля ($p < 0,05$) на 21-й день нашего эксперимента, что вероятно обусловлено высокоэнергетическим питанием, преобладавшим над катаболическими процессами в условиях стрессовой реакции. На 35-й день масса тела животных практически не изменилась, а к окончанию опыта незначительно увеличилась (Таблица 13).

Таблица 13 – Содержание кортикостерона в крови, масса надпочечников, индекс массы надпочечников и масса тела крыс при высокожировой диете и иммобилизационном стрессе, Ме [25%; 75%]

Показатели	21-й день опыта		35-й день опыта		60-й день опыта	
	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт
Кортикостерон, нмоль/л	325 [245,2;362,2]	334 [326,7;340,2]	313 [285;323,9]	344* [340,5;353,9]	322 [287,4;364,3]	337 [314;342,7]
Масса надпочечников, мг	29,5 [24;33,3]	34,5 [26,8;42]	29,5 [23,3;33,3]	65* [58;75]	30 [21;34,5]	44* [32,3;58]
Масса тела крыс, г	224 [215,7;243,8]	275* [259,5;295]	247 [232,5;264]	276,5 [231,8;335,3]	258,5 [249;279,3]	310 [231,8;335,3]
Индекс массы надпочечников, %	13,7 [9,8;14,45]	12,7 [10,93;14,88]	12,2 [9,93;12,75]	22,9* [19,68;30]	10,9 [8,65;13,38]	15,4* [11,93;20,63]

Примечание: * - $p < 0,05$ статистическая значимость различий по отношению к контролю

Одновременно, на 35-й день сочетанного воздействия высокожировой диеты и иммобилизации возрастал уровень основного гормона стрессового воздействия у крыс – кортикостерона – в 1,1 раза в сравнении с контролем ($p < 0,05$) (Таблица 13), что соответствует данным литературы (Протасова и др., 2008). Помимо этого, на 35-й день, а затем и к окончанию опыта увеличилась масса надпочечников крыс данной опытной группы – на 120,3% и 46,7% относительно контроля соответственно ($p < 0,05$).

При сочетании иммобилизации и высокожировой диеты тенденция к увеличению концентрации глюкозы в сыворотке крови наблюдалась на 21-й и 35-й дни опыта. Уровень инсулина, увеличиваясь с 21-го дня, достигал наибольшего отличия от контроля к 35-му дню эксперимента (+53,1%; $p < 0,05$), что отражалось аналогичным образом в изменении индекса НОМА (Таблица 14).

Таблица 14 – Показатели углеводного обмена в сыворотке крови при иммобилизационном стрессе и высокожировой диете, Ме [25%; 75%]

Показатели	21-й день опыта		35-й день опыта		60-й день опыта	
	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт
Глюкоза, ммоль/л	6,76 [5,91;7,23]	6,84 [6,15;8,03]	6,69 [5,52;8,17]	7,85 [7,08;8,3]	6,84 [5,44;7,48]	6,96 [6,12;8,25]
Инсулин, мкЕд/мл	1,75 [1,45;2,13]	1,85 [1,45;2,05]	1,6 [1,35;1,9]	2,45* [2,23;4,1]	1,6 [1,2;2,33]	1,85 [1,53;2,23]
НОМА, у.е.	0,49 [0,41;0,54]	0,58 [0,43;0,67]	0,5 [0,42;0,55]	0,91* [0,67;1,26]	0,49 [0,35;0,6]	0,53 [0,47;0,8]
CARO, у.е.	3,59 [2,71;5,2]	4,22 [3,38;4,89]	4,03 [3,22;5,92]	2,98 [1,92;3,79]	4,26 [3,0;4,45]	4,02 [3,25;4,56]

Примечание: * - $p < 0,05$ статистическая значимость различий по отношению к контролю

Согласно литературным данным, для восполнения энергодефицита при стрессе происходит переключение углеводного обмена на липидный (Быкова и др., 2010). Учитывая усиленное поступление экзогенных липидов в наших условиях эксперимента, вполне объяснимо увеличение уровня исследуемых компонентов липидного профиля уже на 21-й день эксперимента (Рисунок 26).

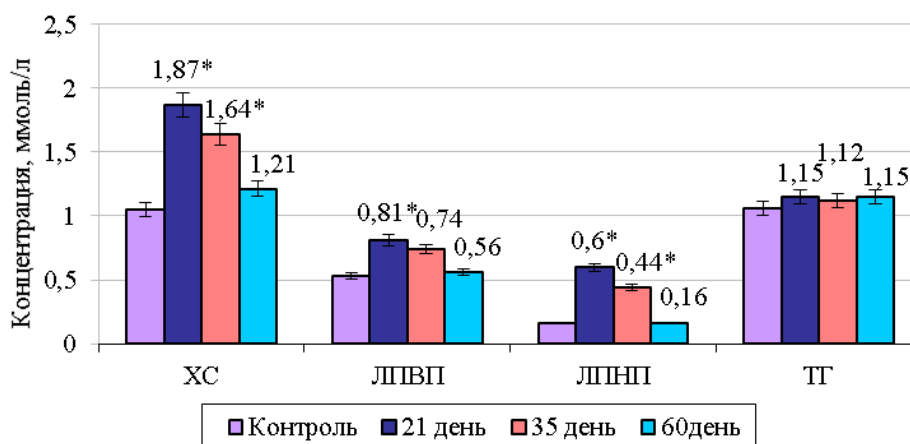


Рисунок 26 – Содержание показателей липидного профиля в крови крыс в условиях иммобилизации и высокожировой диеты

Примечание: * - $p < 0,05$ статистическая значимость различий по отношению к контролю

Так, содержание ХС, ЛПВП, ЛПНП и ИА в крови крыс статистически значимо возрастало на 21-й день опыта соответственно на 78,1%, 52,8%, 275% и 41,4% по отношению к контролю ($p < 0,05$). Затем, по мере увеличения энергетических затрат и активации липолитических процессов, их концентрация постепенно снижалась к концу эксперимента.

В результате развивающейся гипоксии на фоне ограничения в подвижности, вероятно, активизировался переход на анаэробный гликолиз, что отражалось в повышении активности ЛДГ в сыворотке крови крыс на 21-й день опыта с 1600 до 1890,5 Ед/л ($p < 0,05$) (Рисунок 27).

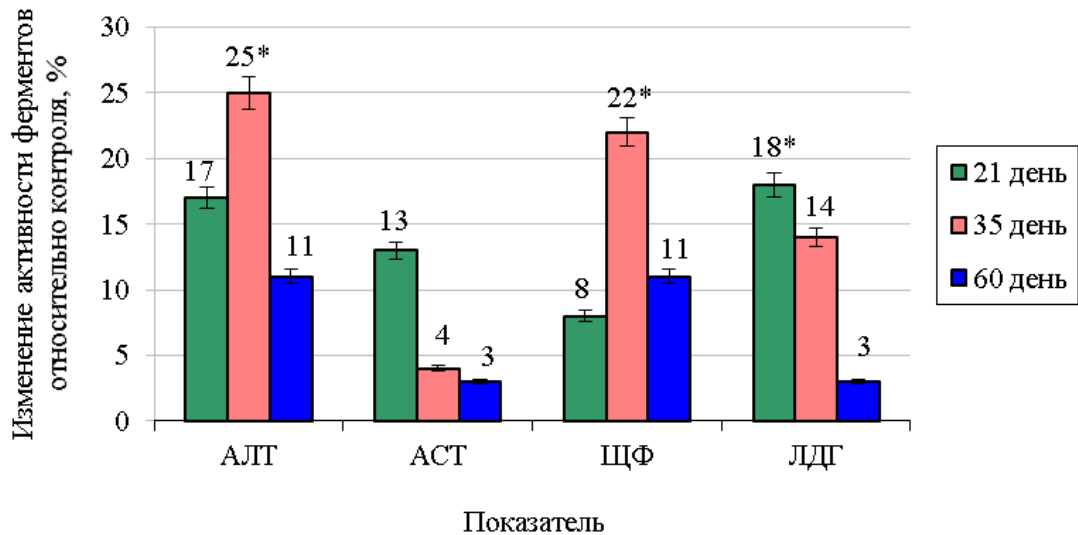


Рисунок 27 – Динамика изменения активности ферментов в сыворотке крыс при иммобилизации и высокожировой диете

Примечание: * - $p < 0,05$ статистическая значимость различий по отношению к контролю

Деструктивное воздействие на печень двух смоделированных факторов на 35-й день опыта проявлялось ростом активности ферментов – маркеров цитолиза гепатоцитов – АЛТ и ЩФ: с 39,7 до 49,7 Ед/л и со 100 до 121,5 Ед/л ($p < 0,05$) соответственно. Характерно, что тенденция к возрастанию АСТ наблюдалась уже на 21-й день опыта – с 149 до 168,5 Ед/л. Это могло характеризовать вовлечение в патологический процесс помимо печени клеточных структур других локализаций, содержащих АСТ (Рисунок 27).

В ткани печени крыс к 21-му дню в условиях иммобилизации и высокожировой диеты прослеживалась тенденция к возрастанию показателей липидного спектра. На 35-й день эксперимента содержание показателей липидного профиля незначительно возросло, к концу опыта практически достигло уровня интактных животных (Таблица 15).

Таблица 15 – Биохимические показатели в ткани печени крыс при иммобилизационном стрессе и высокожировой диете, Ме [25%; 75%]

Показатели	21-й день опыта		35-й день опыта		60-й день опыта	
	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт
ХС, ммоль/100г	1,63 [1,31;1,79]	1,8 [1,5;1,99]	1,72 [1,31;1,86]	2,04 [1,35;2,32]	1,72 [1,27;2,02]	1,74 [1,39;2,06]
ЛПВП, ммоль/100г	0,83 [0,76;0,89]	0,86 [0,58;1,08]	0,71 [0,51;0,89]	0,74 [0,59;1,02]	0,69 [0,61;0,81]	0,72 [0,47;0,84]
ЛПНП, ммоль/100г	0,27 [0,02;0,61]	0,33 [0,09;0,53]	0,34 [0,19;0,79]	0,55 [0,12;0,94]	0,49 [0,15;0,95]	0,52 [0,29;0,77]
ТГ, ммоль/100г	0,98 [0,69;1,09]	1,19 [1,07;1,30]	0,92 [0,8;1,02]	1,1 [0,98;1,21]	0,94 [0,84;1]	0,95 [0,82;1,04]

Таким образом, при сочетании высокожировой диеты и иммобилизации отмечалось увеличение массы надпочечников крыс с возрастанием кортикостерона в крови животных. Масса тела крыс, увеличиваясь на первом временном отрезке, незначительно снижалась к 35-му дню и вновь имела тенденцию к возрастанию к окончанию опыта, в отличие от «изолированного» иммобилизационного стресса, где масса крыс имела наибольшее увеличение на 35-й день опыта. Показатели углеводного обмена имели положительную направленность в изменении содержания с существенным увеличением инсулина и формированием инсулинорезистентности на 35-й день опыта, тогда как в условиях только двухчасовой иммобилизации наблюдалось их снижение на 21-й день эксперимента с последующей тенденцией к увеличению. Содержание компонентов липидного профиля в крови увеличилось уже на 21-й день эксперимента, в отличие от сочетания фруктозообогащенной диеты и иммобилизации, где возрастание наблюдалось на 35-й день опыта, но аналогично

«изолированной» иммобилизации, за исключением ТГ, уровень которых был ниже контрольного в первый временной отрезок эксперимента при иммобилизационном стрессе. Как результат, наблюдалось возрастание активности печенеспецифических ферментов в сыворотке крови на 21-й и 35-й дни опыта. Следовательно, высокожировая диета усиливала негативное воздействие иммобилизационного стресса на обменные процессы у крыс, оказывая неблагоприятное влияние на основные показатели углеводного, липидного обмена, а также на целостность гепатоцитов. Причем данные изменения проявлялись уже на начальных этапах проводимого исследования, возвращаясь к значениям интактных животных к концу эксперимента.

3.5 Содержание фибронектина и ламинина в крови и ткани печени крыс

3.5.1 Содержание фибронектина и ламинина в сыворотке крови и ткани печени крыс при экспериментальных моделях метаболического синдрома, основанных на фруктозобогащенной и высокожировой диетах

Фибронектин является неколлагеновым гликопротеином, присутствующим в межклеточном матриксе, на поверхности клеток, а также в кровяном русле. Большая часть фибронектина синтезируется в печени. Он называется плазменным, находится в плазме крови в неактивной форме. Существует и клеточный фибронектин, который вырабатывается в основном фибробластами, а также эндотелиальными, синовиальными клетками, миоцитами и хондроцитами (Musiiime et al., 2021). Известно, что увеличению содержания фибронектина в плазме крови способствуют деструктивные и воспалительные процессы, приводящие к повреждениям в сосудистой стенке и в структуре клеток, наиболее выраженные при атеросклерозе и сопутствующих сердечно-сосудистых заболеваниях (Cojan-Minzat et al., 2021; Ling et al., 2021).

МС непосредственно связан с дисфункцией эндотелия. Эта взаимосвязь обусловлена усилением синтеза провоспалительных цитокинов на фоне

изменений при МС, смещением гормонально-метаболического равновесия, повышения уровня компонентов липидного спектра и определяемый этим окислительный стресс (Мустафаева, 2018). Это было подтверждено в работе Солдатовой О.А. по изучению дисфункции эндотелия на основе фруктозной модели МС (Солдатова, 2015). Наблюдалось нарушение липидного спектра в крови крыс, активация ПОЛ, усиление которого вызывало повреждение эндотелиоцитов.

Многочисленные исследования последних лет демонстрируют важность эндотелия в сосудистом гомеостазе, поддержании баланса между факторами вазоконстрикции и вазодилатации, регуляции ремоделирования сосудов, взаимосвязи между клеточными и внеклеточными структурами (Мустафаева, 2018; Юпатов и др., 2022) (Рисунок 28).

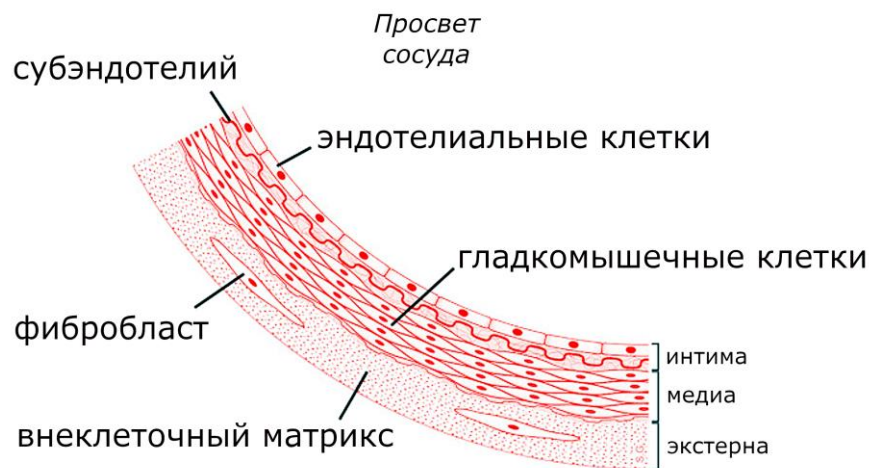


Рисунок 28 – Краткая схема строения сосуда (Егоров, 2022)

В ряде публикаций было показано, что гипергликемия и последующая инсулинорезистентность способствуют эндотелиальной дисфункции сосудистой стенки (Torimoto et al., 2018; Maruhashi et al., 2021). Например, при сахарном диабете были обнаружены поражения стенки сосудов с соответствующими изменениями экстрацеллюлярного матрикса эндотелия, характеризующиеся накоплением фибронектина, ламинина и коллагена (Могильницкая, 2015; Theocharis et al., 2019).

Фибронектин играет значительную роль в процессах репарации сосудистой стенки за счет связывания с интегрином (клеточным рецептором) эндотелиальных клеток, прикрепления их к стенке сосуда и встраивания клеток в место ее повреждения (Лыков и др., 2014; Frangogiannis, 2019).

Помимо этого, на фоне повышенного содержания жирных кислот и обусловленной ими активации перекисного окисления липидов с модификацией клеточных мембран и рецепторов, затрагивается и структурная целостность гепатоцитов. Это может привести к увеличению риска развития стеатогепатоза и фиброза печени (Сучкова, 2017). Поэтому фибронектин, основной регуляторный белок внеклеточного матрикса, может послужить маркером патологических процессов в клетках печени и эндотелиоцитах.

В наших экспериментах как при фруктозообогащенной, так и высокожировой диетах наблюдался статистически значимый рост содержания фибронектина в крови крыс, начиная с 21-го дня опыта и до его окончания (Гилева и др., 2020) (Рисунок 29).

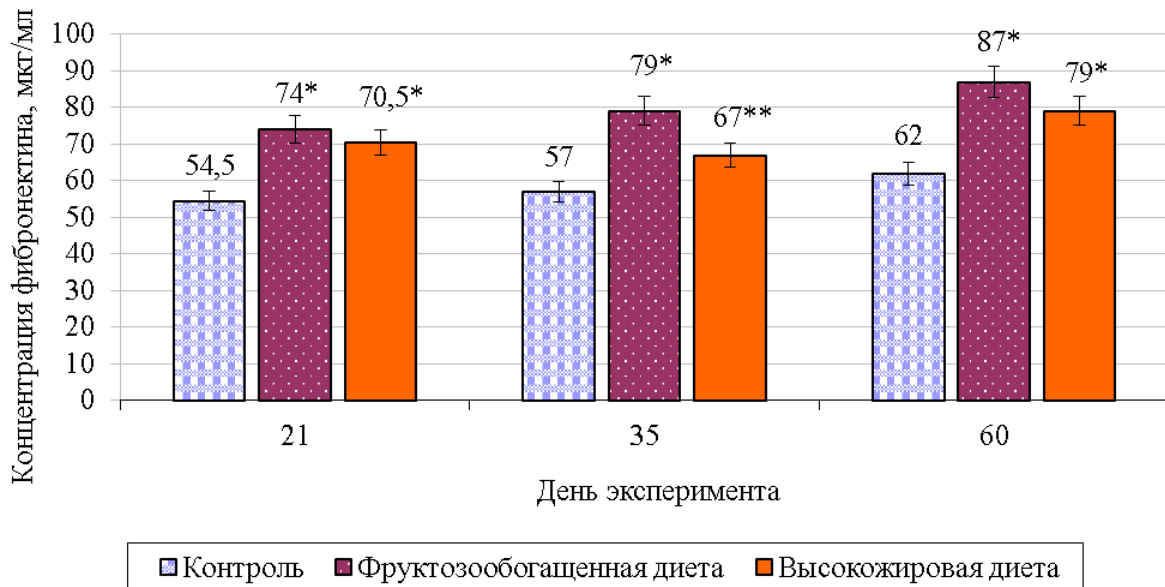


Рисунок 29 – Содержание фибронектина в крови крыс в условиях фруктозообогащенной и высокожировой диет

Примечание: статистическая значимость различий * - относительно контроля,

** - относительно группы на фруктозообогащенной диете, $p < 0,05$

Так, уровень изучаемого белка в сыворотке крови крыс при фруктозообогащенной диете возрастал на 35,8%, 38,6% и 40,3% относительно контроля на 21-й, 35-й и 60-й день эксперимента соответственно. При получении животными высокожировой диеты содержание фибронектина в крови увеличилось на 29,4%, 17,5% и 24,7% на 21-й, 35-й и 60-й день опыта соответственно по сравнению с контрольной группой крыс.

Причем при фруктозообогащенной диете концентрация фибронектина в крови на 35-й день опыта была на 17,9% выше, чем при высокожировой ($p < 0,05$), что могло быть обусловлено особенностями метаболизма фруктозы: превращением фруктозы как в липиды, так и в глюкозу, повышением их содержания в крови и последующим влиянием на клеточный метаболизм (Лещенко и др., 2015) (Рисунок 16).

Это подтверждали результаты исследования содержания фибронектина в ткани печени крыс в условиях фруктозообогащенной диеты, которые также свидетельствовали о росте фибронектина в динамике эксперимента (Рисунок 30).

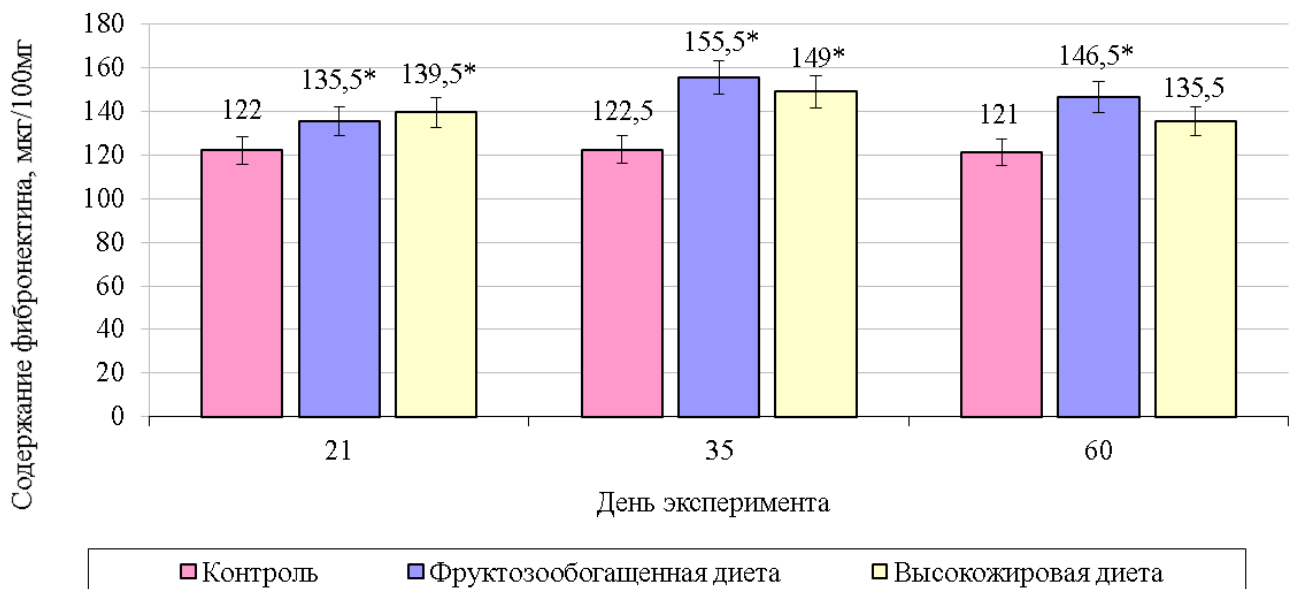


Рисунок 30 – Содержание фибронектина в ткани печени в условиях фруктозообогащенной и высокожировой диет

Примечание: * - $p < 0,05$ статистическая значимость различий по отношению к контролю

На представленном рисунке видно, что при фруктозообогащенной диете уровень фибронектина в печени увеличился на 21-й день опыта на 11,1% ($p < 0,05$) по сравнению с контролем, имел наибольшее значение на 35-й день эксперимента (+26,9%; $p < 0,05$) и постепенно снижался к его окончанию – на 21,1% в сравнении со значением контрольной группы ($p < 0,05$). При высокожировой диете достоверные отличия от контроля составили: +14,3%, +21,6% на 21-й и 35-й день опыта ($p < 0,05$) соответственно, на 60-й день различия с контролем имели недостоверный характер ($p > 0,05$).

Продолжительный рост уровня фибронектина может свидетельствовать, вероятно, с одной стороны о развивающемся фиброзе печени в условиях насыщенного фруктозой и жирами питания, а с другой – о формирующейся эндотелиальной дисфункции (Гилева и др., 2019). Ранее в работах Могильницкой Л.А (2015г.) было показано, что между уровнем гипергликемии и содержанием фибронектина в крови больных сахарным диабетом существует прямая статистически значимая корреляция. Кроме того, прямая корреляция наблюдалась и между дислипидемией и уровнем фибронектина (Могильницкая, 2015).

Помимо этого, наблюдаемое в нашем эксперименте выраженное возрастание содержания фибронектина как в крови, так и в печени крыс при фруктозообогащенной диете по сравнению с высокожировой, вероятно, могло быть связано в том числе с повышенной концентрацией глюкозы, образующейся в результате реакции изомеризации и глюконеогенеза (Рисунок 16). Глюкоза, в свою очередь, возможно тем или иным способом влияла на процессы гликозилирования, необходимые для построения целостной структуры фибронектина, что могло привести к изменениям в его синтезе.

Таким образом, продолжительное поступление фруктозы с пищей в силу особенностей ее метаболизма, могло оказывать деструктивное воздействие как на гепатоциты, так и вероятно на экстрацеллюлярный матрикс эндотелия сосудов. Одним из показателей такого действия может послужить гликопротеин внеклеточного матрикса фибронектин, играющий ключевую роль в регуляции взаимодействий его компонентов. Помимо этого, повышенное содержание

глюкозы в данной диете могло повлиять и на структурную организацию молекулы фибронектина с изменением его синтеза.

Наряду с фибронектином, важная роль в функционировании внеклеточного матрикса принадлежит еще одному адгезивному гликопротеину – ламинину, входящему в состав базальной мембраны. Изоформы ламинина путем полимеризации и формирования сетчатой структуры обеспечивают структурную и функциональную целостность базальной мембраны, а также связь молекул межклеточного матрикса с клеточными рецепторами (Батюшин, 2016). Главной функцией ламинина является обеспечение тканевого гомеостаза посредством влияния на клеточную морфологию, подвижность и дифференцировку клеток и модулируя их поведение (Yao, 2017; Barros et al., 2020).

Проведенные нами исследования продемонстрировали рост уровня ламинина в крови, в особенности при высокожировой диете. По-видимому, обусловленное данной диетой высокое содержание ТГ в большей степени затрагивало структуру базальной мембраны с активацией синтеза ламинина (Рисунок 31).

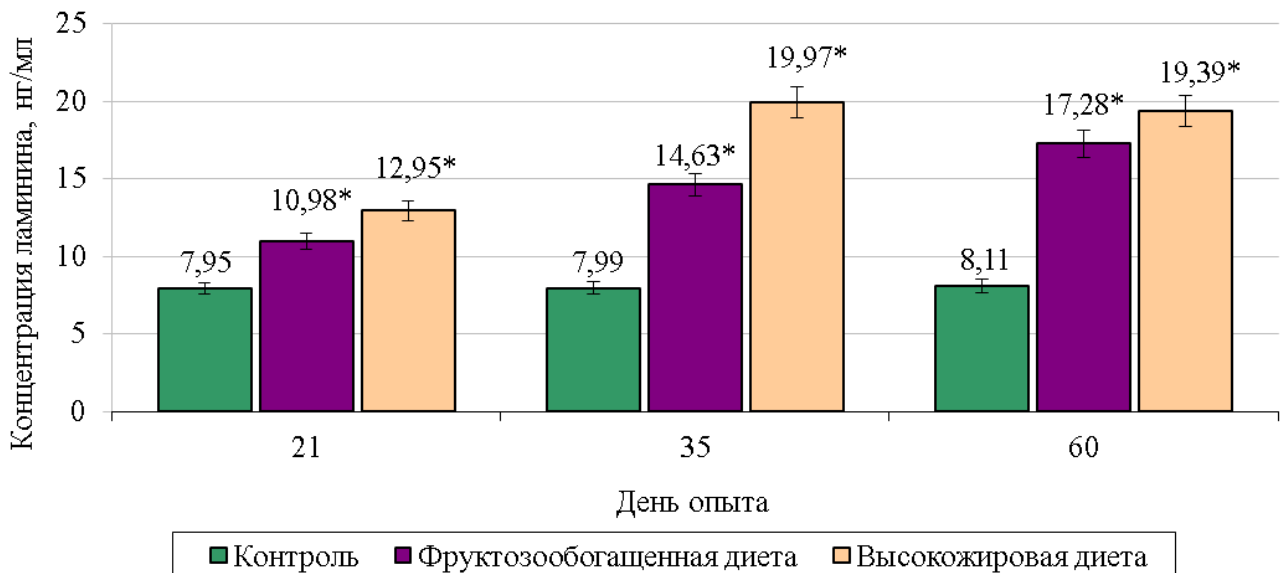


Рисунок 31 – Содержание ламинина в сыворотке крови крыс в условиях фруктозообогащенной и высокожировой диет

Примечание: * - $p < 0,05$ статистическая значимость различий по отношению к контролю

Так, в условиях высокожировой диеты содержание ламинина в крови крыс увеличилось на 62,9%, 149,2% и 139,1% относительно контроля в динамике эксперимента ($p < 0,05$). При фруктозообогатенной диете уровень ламинина повышался на 38,1%, 83,1% и 113,1% по сравнению с контролем на 21-й, 35-й и 60-й день эксперимента соответственно ($p < 0,05$) (Gileva et al., 2022). Помимо этого, наблюдалась прямая корреляционная взаимосвязь между содержанием ТГ и ламинина ($r = 0,976$, $p < 0,01$).

Аналогичная динамика содержания ламинина прослеживалась и в гомогенатах ткани печени крыс (Рисунок 32).

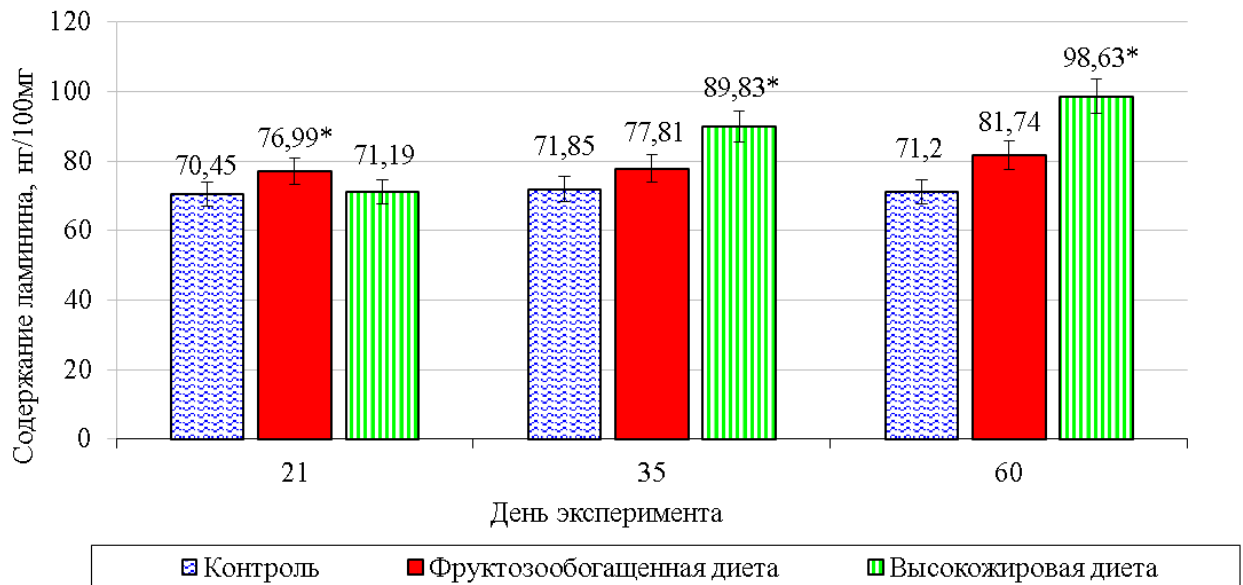


Рисунок 32 – Содержание ламинина в ткани печени в условиях фруктозообогатенной и высокожировой диет

Примечание: * - $p < 0,05$ статистическая значимость различий по отношению к контролю

Достоверно увеличиваясь в ткани печени на 21-й день опыта на 9,3% по сравнению с контролем при фруктозообогатенной диете ($p < 0,05$) и сохраняя положительную динамику в дальнейшем, уровень ламинина незначительно возрастал к окончанию эксперимента ($p > 0,05$). При высокожировой диете содержание ламинина достигло статистически значимого от контроля уровня на

35-й день эксперимента (+25%, $p < 0,05$) с последующим ростом на 60-й день на 38,5% ($p < 0,05$) относительно контрольных величин.

Таким образом, влияние высокожировой и фруктозообогащенной диет на уровень ламинина, основного гликопротеина базальной мембраны, отличалось. Более значимым было повышение его содержания при высокожировой диете в течение всего эксперимента. Это, вероятно, определялось избыточным накоплением ТГ в крови и ткани печени крыс в условиях высокожировой диеты (Рисунок 18) и как следствие, усилением синтеза ламинина.

По-видимому, нарушения в липидном и углеводном обмене при моделировании МС в условиях изучаемых высококалорийных диет привели к изменениям в структурной и функциональной целостности межклеточного матрикса соединительной ткани, имеющей широкое распространение в организме. Дислипидемия, сформировавшаяся инсулинорезистентность и последующая гипергликемия вероятно явились инициаторами запуска патологического процесса, приводящего к изменениям в клеточных структурах различных локализаций, в том числе гепатоцитов и эндотелии сосудов. Одновременно, происходящие изменения затронули компоненты внеклеточного матрикса, в частности, его отдельных представителей – неколлагеновых белков - фибронектина и ламинина. Выполняя ключевые регуляторные и структурные функции, обеспечивая межклеточные взаимодействия, миграцию и адгезию клеток, данные гликопротеины отреагировали усилением собственного синтеза на метаболические изменения и вместе с тем повышенным высвобождением в сосудистое русло – фибронектина в большей степени при фруктозообогащенной, и, наоборот, ламинина – при высокожировой диетах.

3.5.2 Содержание фибронектина и ламинина в сыворотке крови и ткани печени крыс при длительном иммобилизационном стрессе

По данным литературы, длительный стресс сопровождается развитием гипоксии органов, активацией перекисного окисления липидов и оксидативного

стресса (Тигранян, 1985). Данные факторы способствуют формированию тяжелой патологии печени с повреждением клеточных и субклеточных структур (Хусаинова и др., 2022).

В нашем эксперименте в условиях длительного иммобилизационного стресса прослеживалась тенденция к увеличению уровня фибронектина в сыворотке крови крыс, однако изменения были недостоверными (Гилева и др., 2021) (Рисунок 33).

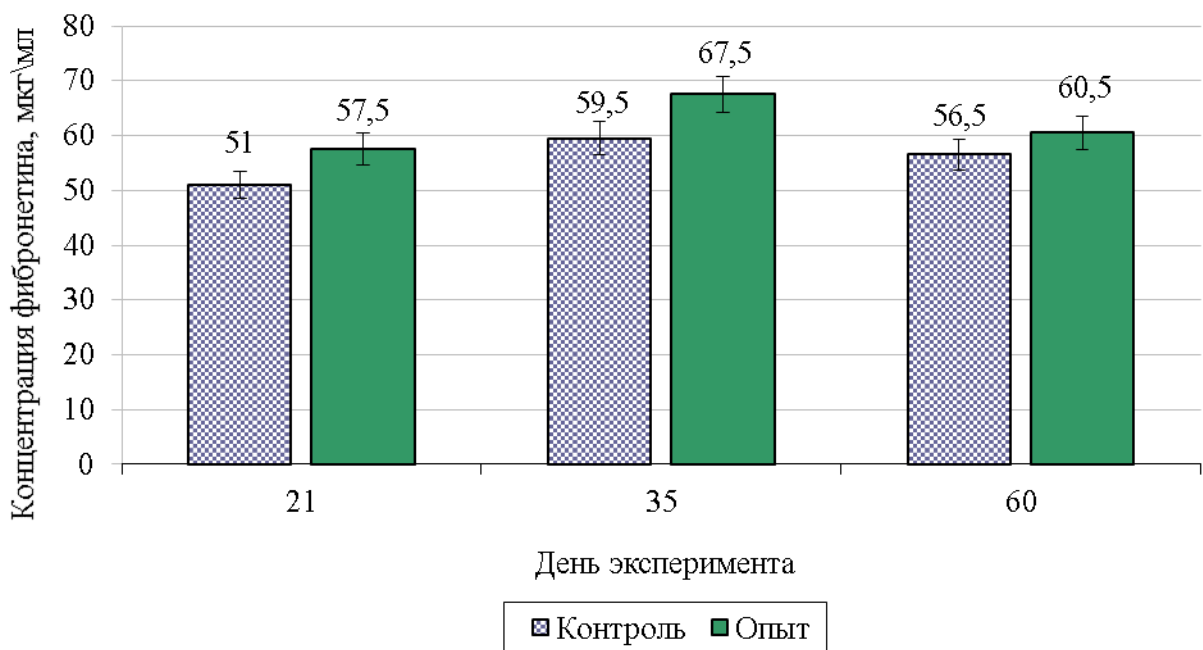


Рисунок 33 – Содержание фибронектина в крови крыс при иммобилизационном стрессе

В данном случае наблюдалась обратная корреляционная зависимость между уровнем фибронектина и кортикостерона ($r=-0,731$, $p<0,05$).

Аналогичная динамика отмечалась в отношении концентрации ламинина в сыворотке крови животных (Рисунок 34).

Из рисунка 34 видно, что на 21-й день опыта наблюдалось незначительное снижение содержания ламинина в крови ниже контрольного уровня ($p>0,05$). В последующие временные отрезки были характерны лишь несущественные его

колебания относительно контроля. Вероятнее всего, двухчасовая иммобилизация незначительно повлияла на синтез компонентов межклеточного матрикса и их выход в кровяное русло.

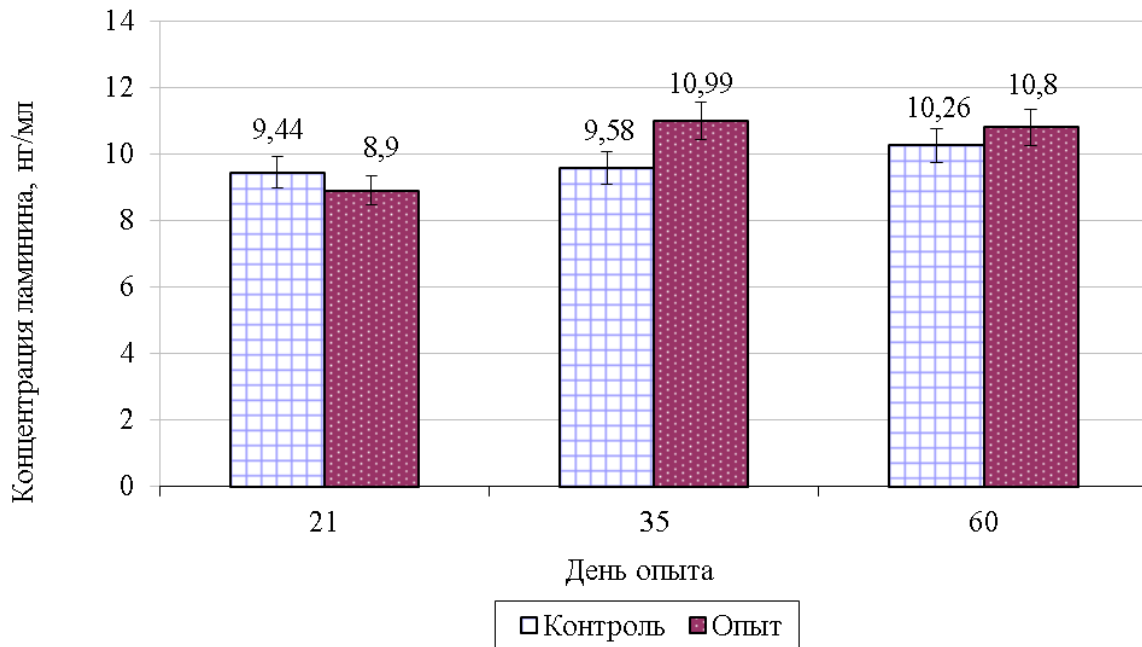


Рисунок 34 – Содержание ламинина в крови крыс при иммобилизационном стрессе

В гомогенате ткани печени крыс наблюдался достоверный рост содержания фибронектина на 13,5% относительно контроля (с 122,5 до 139 мкг/100 мг ткани, $p < 0,05$) к окончанию стрессорных воздействий на 35-й день опыта. По-видимому, иммобилизационный стресс вызывал изменения в содержании фибронектина во внеклеточном матриксе преимущественно в печени (Таблица 16).

Таблица 16 – Содержание фибронектина и ламинина в ткани печени крыс при иммобилизационном стрессе, Ме [25%; 75%]

Показатели	21-й день опыта		35-й день опыта		60-й день опыта	
	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт
Фибронектин, мкг/ 100мг	118,5 [115,8;123,5]	124,5 [119,3;136]	122,5 [118,8;129,8]	139* [136,8;150]	129,5 [128;131]	130 [125,3;139,3]
Ламинин, нг/100мг	69,1 [66,3;74,1]	74,9 [71,9;78,8]	70,7 [67,9;72,5]	73,0 [68;76,8]	70,9 [69,3;72,7]	74,8 [70,1;81,7]

Примечание: * - $p < 0,05$ статистическая значимость различий по отношению к контролю

При анализе уровня ламинина в ткани печени животных отмечалась тенденция роста его уровня на 21-й день эксперимента с небольшим снижением к 35-му дню и возвращению к прежним значениям к окончанию опыта (Таблица 16).

Таким образом, длительный иммобилизационный стресс в сыворотке крови крыс вызывал незначительный подъем содержания исследуемых гликопротеинов межклеточного матрикса – фибронектина и ламинина. Наряду с этим, в ткани печени животных на 35-й день опыта отмечался статистически значимый рост уровня фибронектина, вероятно обусловленный более выраженным воздействием иммобилизации на структурную и функциональную целостность гепатоцитов.

3.5.3 Содержание фибронектина и ламинина в сыворотке крови и ткани печени крыс при экспериментальных моделях метаболического синдрома, основанных на фруктозобогащенной и высокожировой диетах, в условиях иммобилизационного стресса

Фруктозобогащенная и высокожировая диета в проводимых опытах усиливали негативное воздействие иммобилизационного стресса на межклеточный матрикс. Так, обе диеты при стрессе способствовали существенному росту содержания фибронектина в сыворотке крови крыс (Рисунок 35).

При сочетании иммобилизационного стресса и фруктозобогащенной диеты концентрация фибронектина увеличивалась в течение всего эксперимента (Гилева и др., 2021). Так, на 21-й день иммобилизации на фоне фруктозобогащенной диеты уровень фибронектина в крови животных достоверно возрастал на 61,8% относительно контроля ($p < 0,05$), продолжал увеличиваться на 35-й день (+55,5%, $p < 0,05$) и к окончанию эксперимента – на 73,5% больше контрольного значения ($p < 0,05$). Рост фибронектина при высокожировой диете в условиях иммобилизационного стресса в динамике эксперимента отмечался в меньшей степени. В этих условиях концентрация фибронектина увеличивалась на 21-й

день на 41,2% ($p < 0,05$) больше контроля, была незначительно повышена на 35-й день ($p > 0,05$) и вновь достоверно возрастала на 60-й день эксперимента на 55,8% ($p < 0,05$).

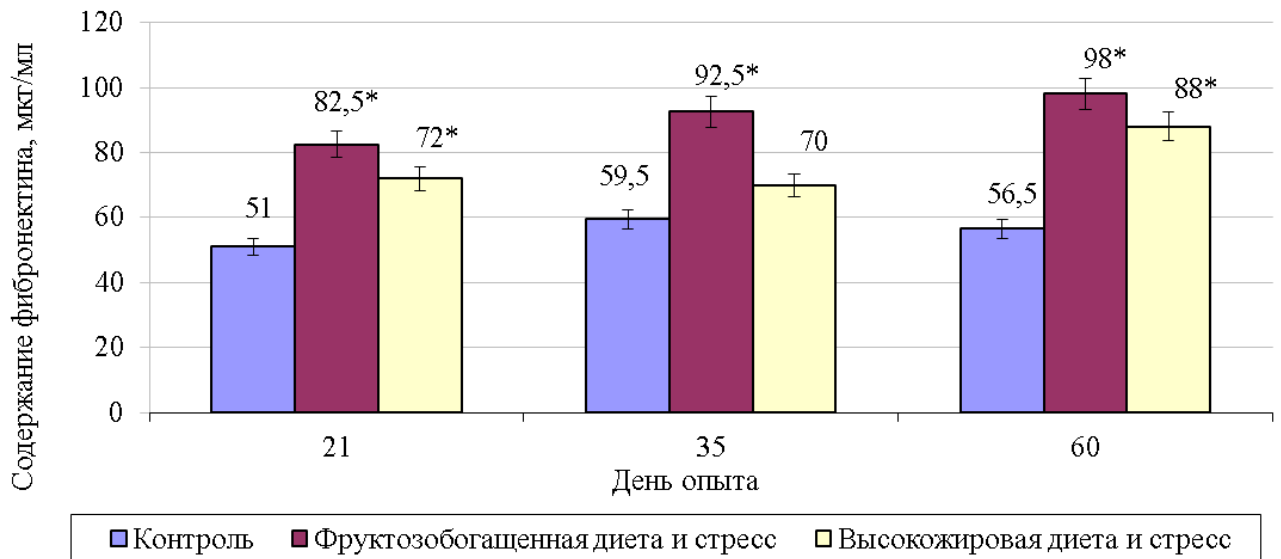


Рисунок 35 – Содержание фибронектина в сыворотке крови крыс при фруктозобогащенной и высокожировой диетах и стрессе

Примечание: * - $p < 0,05$ статистическая значимость различий по отношению к контролю

Вероятно, как увеличенный синтез ТГ и их накопление в гепатоцитах с активацией окислительного стресса и развитием воспалительной реакции, так и избыток циркулирующих в крови липопротеинов и глюкозы, оказывающих в большом количестве повреждающий эффект на эндотелиоциты, в условиях сочетанного воздействия изучаемых высококалорийных диет и иммобилизации негативно влияли как на клеточные структуры, так и на межклеточный матрикс с усилением синтеза и элиминации фибронектина.

Схожая закономерность в изменении концентрации фибронектина наблюдалась и в ткани печени крыс (Таблица 17).

Увеличиваясь при высокофруктозной диете и иммобилизации в образцах ткани печени на 16,5% на 21-й день и на 15,1% - на 35-й день опыта в сравнении с контролем, уровень фибронектина продолжал возрастать к окончанию эксперимента (+23,6%; $p < 0,05$). Статистически значимый рост изучаемого белка в ткани печени наблюдался и при высокожировой диете на фоне

иммобилизационного стресса: +16%, +19,2% и +13,2% на 21-й, 35-й и 60-й день эксперимента соответственно ($p < 0,05$).

Таблица 17 – Содержание фибронектина и ламинина в ткани печени крыс при иммобилизационном стрессе на фоне фруктозообогатщенной и высокожировой диет, Ме [25%; 75%]

Показатели	21-й день опыта		35-й день опыта		60-й день опыта	
	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт
Фибронектин, мкг/100мг (фруктозообогатщенная диета и стресс)	118,5 [115;123]	138* [136;139]	122,5 [118;129]	141* [137;149]	121 [118;123]	149,5* [139;161]
Фибронектин, мкг/100мг (высокожировая диета и стресс)		137,5* [134;140]		146* [144;148]		137* [135;139]
Ламинин, нг/100мг (фруктозообогатщенная диета и стресс)	69,1 [66;74]	77,7* [76;79]	70,7 [67;72]	87,2* [79;91]	70,9 [69;72]	91,8* [86;100]
Ламинин, нг/100мг (высокожировая диета и стресс)		100,9* [100;101]		104,9* [99;108]		104,4* [97;107]

Примечание: * - $p < 0,05$ статистическая значимость различий по отношению к контролю

При исследовании ламинина в сыворотке крови крыс отмечалось статистически значимое увеличение его содержания к концу эксперимента как при фруктозообогатщенной, так и при высокожировой диетах (Рисунок 36).

Так, уровень ламинина возрастал при иммобилизационном стрессе в условиях высокофруктозной диеты относительно контроля на 21-й, 35-й и 60-й день соответственно на 67,9%, 124,3% и 144,5% ($p < 0,05$), а в условиях высокожировой диеты – на 54,4%, 98,5% и 139,1% ($p < 0,05$).

Наряду с фибронектином, повышение содержания в ткани печени крыс было характерно и для ламинина (Таблица 17). Так, при фруктозообогатщенной диете и иммобилизации наблюдалось достоверное возрастание его уровня на 12,4%, 23,3% и 29,5% относительно контроля на 21-й, 35-й и 60-й день опыта соответственно ($p < 0,05$). При этом рост изучаемого белка отмечался и при

сочетанном воздействии высокожировой диеты и стресса, причем более выраженный, чем при сочетании иммобилизации и высокофруктозной диеты: на 46%, 48,4% и 47,2% в сравнении с контролем на 21-й, 35-й и 60-й день эксперимента соответственно ($p < 0,05$).

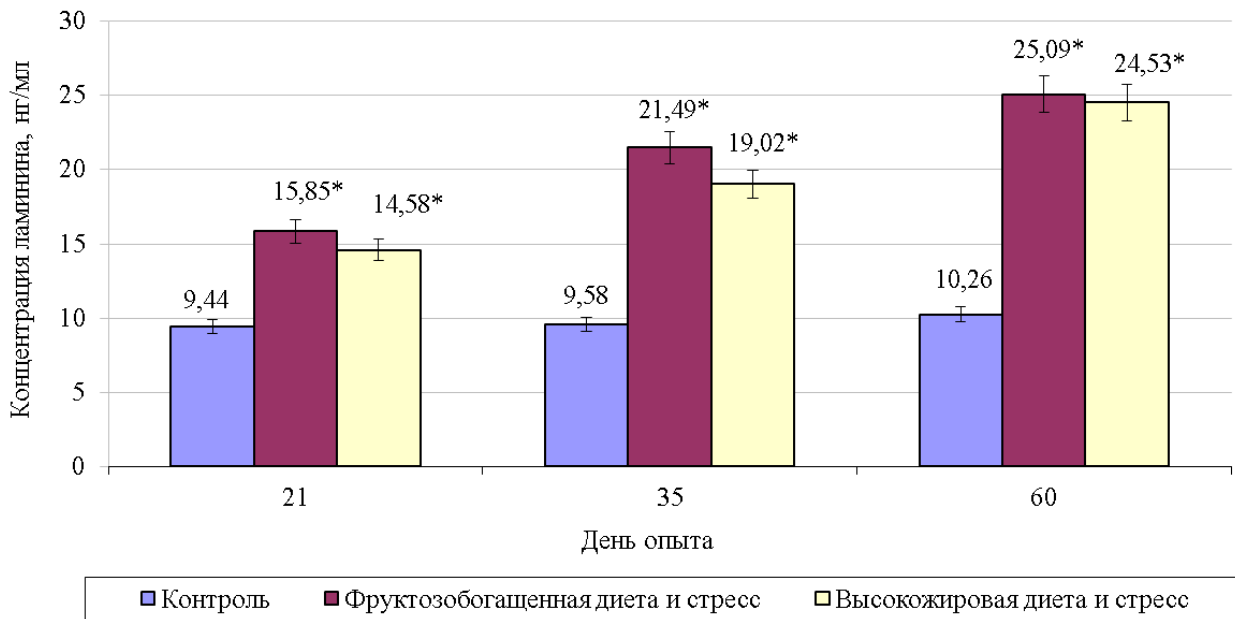


Рисунок 36 - Содержание ламинина в крови крыс при фруктозобогащенной и высокожировой диетах в условиях иммобилизации

Примечание: * - $p < 0,05$ статистическая значимость различий по отношению к контролю

Таким образом, фруктозобогащенная и высокожировая диеты в сочетании с иммобилизацией вызывали изменения в липидном и углеводном метаболизме, повлекшие за собой возможную активацию окислительного стресса и воспалительных реакций. Дальнейшее их развитие вероятно приводило к повреждениям гепатоцитов и различных клеток организма, в частности, эндотелиоцитов. Помимо этого, данные нарушения возможно затрагивали и внеклеточный матрикс с активацией синтеза отдельных его компонентов. Как результат, наблюдался рост содержания изучаемых нами гликопротеинов межклеточного матрикса – фибронектина и ламинина – как в крови, так и в образцах ткани печени крыс до окончания проводимого исследования. Причем

более выраженный подъем фибронектина в крови и ткани печени, ламинина – в крови - был характерен для группы животных на фруктозообогащенной диете с иммобилизацией. В связи с этим, исследуемые неколлагеновые белки могут послужить маркерами формирующихся метаболических изменений.

3.6 Влияние препарата сулодексид на изучаемые показатели в крови и ткани печени крыс при экспериментальных моделях метаболического синдрома на основе фруктозообогащенной и высокожировой диет

3.6.1 Влияние препарата сулодексид на основные показатели углеводного и липидного обмена при экспериментальных моделях метаболического синдрома

Согласно результатам ряда исследований, как фруктозообогащенное, так и высокожировое питание способствуют накоплению жировой ткани с параллельным изменением липидного спектра в крови крыс и активацией ПОЛ (Солдатова, 2015; Байрашева и др., 2019). Усиление ПОЛ вызывает повреждение эндотелиоцитов и облегчает миграцию ХС в сосудистую стенку, инициируя тем самым развитие атеросклероза (Медведев и др., 2014; Стрельникова и др., 2019). Формирование эндотелиальной дисфункции в данном случае может быть опосредованно как нарушением фермента NO-синтазы, катализирующего образование оксида азота (NO) из L-аргинина, с уменьшением его синтеза, так и повышенной экспрессией эндотелина. В норме NO является одним из «мощных» вазодилататоров, а эндотелин оказывает выраженное вазоконстрикторное действие на тонус сосудов (Куркин и др., 2022). Показано, что сулодексид активирует NO-синтазу и обладает гиполипидемическим действием, повышая активность липопротеинлипазы и ускоряя катаболические реакции атерогенных ЛП (Шалхарова и др., 2015).

В нашем эксперименте, основанном на фруктозообогащенной диете, при одновременном назначении сулодексида отмечалась нормализация липидного

спектра в сыворотке крови крыс, причем снижение уровня ТГ наблюдалось на 21-й день введения препарата (Рисунок 37).

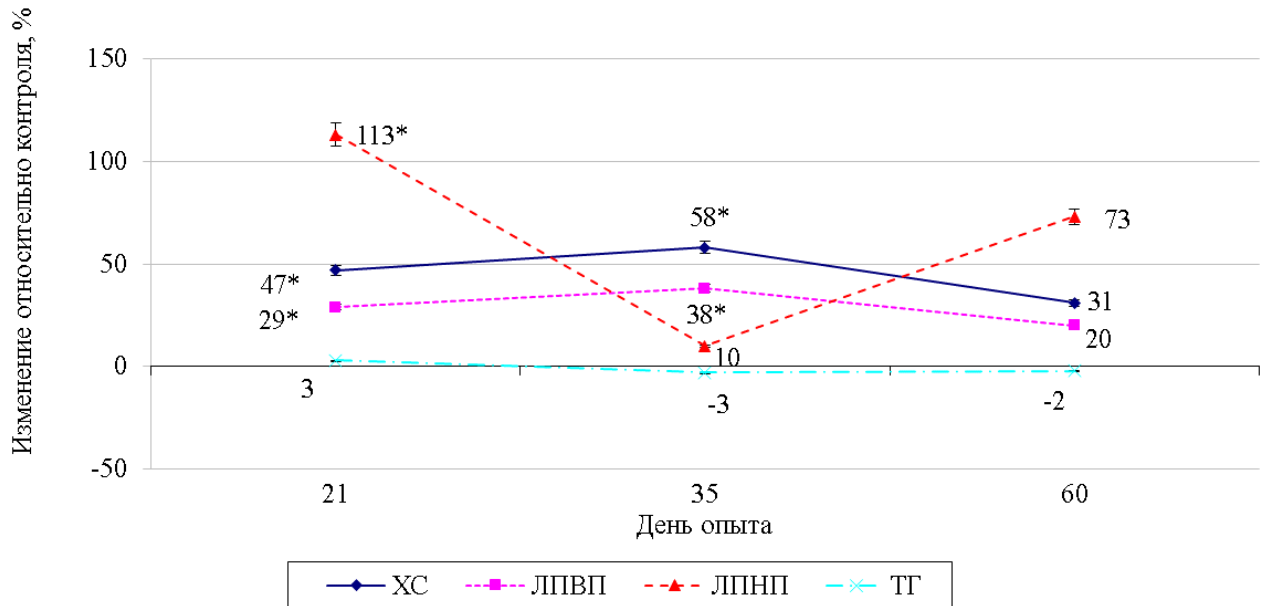


Рисунок 37 – Изменение содержания компонентов липидного спектра в крови крыс в условиях фруктозообогащенной диеты на фоне введения сулодексида

Примечание: * - $p < 0,05$ статистическая значимость различий по отношению к контролю

Введение сулодексида способствовало достоверному снижению содержания отдельных показателей липидного обмена в сыворотке крови крыс к окончанию опыта: ХС на 37,8%, ЛПНП на 55,9% и ТГ на 49,4% меньше аналогичных анализов в группе крыс, находившейся только на фруктозообогащенной диете ($p < 0,05$) (Таблица 18). В содержании ЛПВП в крови животных на фоне введения препарата наблюдалась тенденция к снижению к концу эксперимента.

По данным литературы, сулодексид благотворно влияет на углеводный обмен, нормализуя инсулинорезистентность у больных сахарным диабетом 2 типа (Панюшкина и др., 2014). В нашем исследовании в условиях фруктозообогащенной диеты на фоне введения сулодексида уровень глюкозы снижался и недостоверно отличался от контроля к окончанию опыта ($p > 0,05$) (Таблица 19).

Концентрация инсулина к окончанию эксперимента уменьшилась в 2,64 раза ($p < 0,05$) по сравнению с группой крыс, содержащихся только на

фруктозообогатенной диете без введения сулодексида (Таблица 19), индексы инсулинорезистентности приблизились к нормальным значениям: HOMA=0,39, CARO=5,61 (в контроле HOMA=0,46, CARO=3,70).

Таблица 18 – Показатели липидного спектра в крови крыс при фруктозообогащенной диете и на фоне введения сулодексида, Ме [25%; 75%]

Показатели	21-й день опыта			35-й день опыта			60-й день опыта		
	Контроль	Группа 1	Группа 2	Контроль	Группа 1	Группа 2	Контроль	Группа 1	Группа 2
ХС, ммоль/л	0,77 [0,75;0,83]	1,35 [1,21;1,41]	1,13 [1,12;1,18]	0,68 [0,62;1,01]	1,25 [1,09;1,24]	1,14 [1,02;1,64]	0,72 [0,69;0,86]	1,48 [1,45;1,51]	0,92* [0,81;1,08]
ЛПВП, ммоль/л	0,45 [0,43;0,47]	0,67 [0,56;0,69]	0,54 [0,51;0,54]	0,43 [0,4;0,51]	0,64 [0,57;0,62]	0,69 [0,61;0,7]	0,44 [0,36;0,52]	0,49 [0,23;0,69]	0,49 [0,44;0,61]
ЛПНП, ммоль/л	0,18 [0,17;0,2]	0,44 [0,39;0,47]	0,49 [0,44;0,51]	0,18 [0,09;0,22]	0,41 [0,29;0,41]	0,22 [0,16;0,86]	0,16 [0,07;0,31]	0,59 [0,55;0,68]	0,26* [0,13;0,35]
ТГ, ммоль/л	0,41 [0,4;0,43]	0,64 [0,49;0,83]	0,42* [0,32;0,48]	0,39 [0,32;0,42]	0,71 [0,53;0,93]	0,35* [0,34;0,43]	0,42 [0,36;0,49]	0,69 [0,41;0,84]	0,41* [0,39;0,51]

Примечание: группа 1 – крысы, находившиеся на фруктозообогащенной диете; группа 2 – крысы, находившиеся на фруктозообогащенной диете на фоне введения сулодексида, *-p<0,05 относительно группы 1.

Таблица 19 – Концентрация глюкозы и инсулина в крови крыс при фруктозообогащенной диете и на фоне введения сулодексида, Ме [25%; 75%]

Показатели	21-й день опыта			35-й день опыта			60-й день опыта		
	Контроль	Группа 1	Группа 2	Контроль	Группа 1	Группа 2	Контроль	Группа 1	Группа 2
Глюкоза, ммоль/л	6,48 [6,31;6,94]	7,74 [7,62;7,88]	7,69* [7,09;8,39]	6,59 [6,32;7,07]	7,97 [7,55;8,27]	7,57 [7,05;8,043]	6,64 [6,17;7,17]	7,93 [7,68;8,02]	6,66* [6,45;7,04]
Инсулин, мкЕд/мл	1,68 [1,57;1,79]	2,4 [2,3;2,55]	2,05 [1,7;2,28]	1,63 [1,4;2,24]	2,6 [2,3;2,65]	2,1 [1,88;2,45]	1,47 [1,22;2,13]	3,3 [3;3,5]	1,25* [1,03;1,9]

Примечание: группа 1 – крысы, находившиеся на фруктозообогащенной диете; группа 2 – крысы, находившиеся на фруктозообогащенной диете на фоне введения сулодексида, *-p<0,05 относительно группы 1.

В ткани печени крыс отмечалась следующая динамика (Таблица 20).

Как следует из таблицы, в гомогенате ткани печени крыс, находившихся на фруктозообогатенной диете, при введении сулодексида наибольшее снижение концентрации было характерно для ТГ – на 49,1%, 62,6% и 52,3% относительно группы крыс, находившейся только на диете, на 21-й, 35-й и 60-й день эксперимента соответственно ($p < 0,05$). Помимо этого, наблюдалось статистически значимое снижение содержания ЛПВП – на 55,9% и 39,4% на 21-й и 35-й день опыта соответственно ($p < 0,05$). Уровень ЛПНП, возрастающий первоначально на 165,5% на 21-й день ($p < 0,05$), затем постепенно уменьшался на 35-й и 60-й день эксперимента. Содержание ХС, незначительно возрастая на 21-й день опыта, в последующем имело тенденцию к снижению на всем протяжении эксперимента. Данные изменения соответствовали описанному ранее действию сулодексида на снижение компонентов липидного спектра (Гилева и др., 2022).

В условиях высокожировой диеты на фоне введения сулодексида уровень большинства показателей липидного спектра снижался к 60-му дню опыта, недостоверно отличаясь от контрольных величин (Рисунок 38).

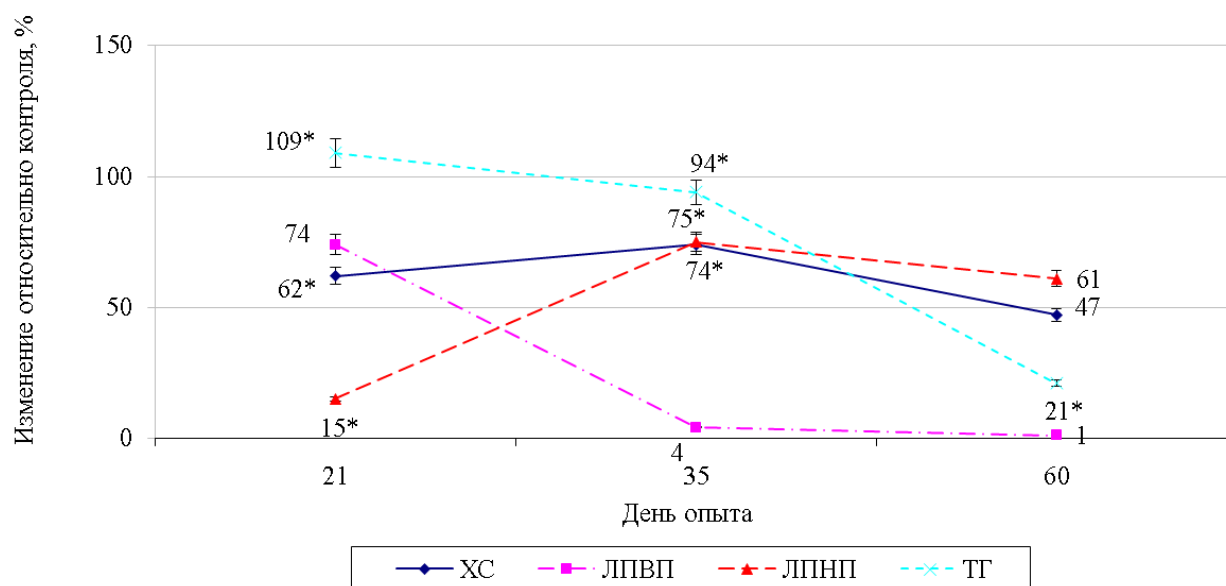


Рисунок 38 – Изменение липидного спектра в крови крыс в условиях высокожировой диеты на фоне введения сулодексида

Примечание: * - $p < 0,05$ статистическая значимость различий по отношению к контролю

Таблица 20 – Показатели липидного спектра в ткани печени крыс при фруктозообогащенной диете и на фоне введения сулодексида, Ме [25%; 75%]

Показатели	21-й день опыта			35-й день опыта			60-й день опыта		
	Контроль	Группа 1	Группа 2	Контроль	Группа 1	Группа 2	Контроль	Группа 1	Группа 2
ХС, ммоль/100г	1,92 [1,73;2,11]	2,12 [2,08;2,16]	2,22 [1,98;2,49]	1,98 [1,89;2,13]	2,13 [2,08;2,28]	1,52 [1,21;2,10]	2,07 [2,04;2,12]	2,11 [2,03;2,14]	1,81 [1,61;2,09]
ЛПВП, ммоль/100г	0,97 [0,83;1,04]	1,02 [1,01;1,02]	0,45* [0,36;0,63]	1,02 [0,95;1,04]	1,04 [1,02;1,10]	0,63* [0,54;0,89]	1,01 [0,93;1,02]	1,04 [1,02;1,05]	0,92 [0,71;1,02]
ЛПНП, ммоль/100г	0,51 [0,21;0,70]	0,55 [0,49;0,69]	1,46* [1,42;1,53]	0,46 [0,42;0,55]	0,67 [0,56;0,76]	0,79 [0,47;1,07]	0,68 [0,59;0,75]	0,52 [0,47;0,66]	0,82 [0,10;0,98]
ТГ, ммоль/100г	1,06 [1,04;1,10]	1,14 [0,96;1,29]	0,58* [0,45;0,69]	1,11 [0,92;1,19]	1,15 [0,96;1,26]	0,43* [0,36;0,53]	0,93 [0,79;1,09]	1,11 [0,98;1,21]	0,53* [0,45;0,89]

Примечание: группа 1 – крысы, находившиеся на фруктозообогащенной диете; группа 2 – крысы, находившиеся на фруктозообогащенной диете на фоне введения сулодексида, *-p<0,05 относительно группы 1.

Таблица 21 – Показатели липидного спектра в крови крыс при высокожировой диете и на фоне введения сулодексида, Ме [25%; 75%]

Показатели	21-й день опыта			35-й день опыта			60-й день опыта		
	Контроль	Группа 1	Группа 2	Контроль	Группа 1	Группа 2	Контроль	Группа 1	Группа 2
ХС, ммоль/л	0,77 [0,75;0,83]	1,41 [1,24;1,6]	1,25* [1,24;1,28]	0,68 [0,62;1,01]	1,54 [1,31;1,81]	1,25* [1,21;1,26]	0,72 [0,69;0,86]	1,69 [1,29;1,89]	1,03* [1,02;1,04]
ЛПВП, ммоль/л	0,45 [0,43;0,47]	0,57 [0,38;0,71]	0,73 [0,67;0,75]	0,43 [0,4;0,51]	0,69 [0,67;0,7]	0,48* [0,47;0,50]	0,44 [0,36;0,52]	0,66 [0,48;0,72]	0,41* [0,39;0,46]
ЛПНП, ммоль/л	0,18 [0,17;0,2]	0,34 [0,21;0,57]	0,22 [0,13;0,31]	0,18 [0,09;0,22]	0,44 [0,38;0,64]	0,35 [0,28;0,42]	0,16 [0,07;0,31]	0,36 [0,26;0,48]	0,29 [0,26;0,30]
ТГ, ммоль/л	0,41 [0,4;0,43]	0,88 [0,63;1,23]	0,9 [0,78;1,31]	0,39 [0,32;0,42]	1,04 [0,81;1,33]	0,68* [0,63;0,7]	0,42 [0,36;0,49]	1,18 [1,08;1,26]	0,58* [0,54;0,59]

Примечание: группа 1 – крысы, находившиеся на фруктозообогащенной диете; группа 2 – крысы, находившиеся на фруктозообогащенной диете на фоне введения сулодексида, *-p<0,05 относительно группы 1.

К окончанию опыта изучаемые показатели липидного спектра в крови крыс на фоне введения сулодексида статистически значимо отличались от показателей группы, находившейся только на высокожировой диете: содержание ХС уменьшилось в 1,64 раза, ТГ – в 2,03 раза, ЛПВП – в 1,61 раза ($p < 0,05$); в концентрации ЛПНП отмечалась динамика к снижению (Таблица 21).

Концентрация глюкозы в крови крыс при введении сулодексида на фоне высокожировой диеты возвращалась к уровню интактных животных к окончанию эксперимента. В содержании инсулина прослеживалась тенденция к его уменьшению (Таблица 22).

В ткани печени все изучаемые показатели липидного спектра крыс при высокожировой диете при введении сулодексида имели тенденцию к нормализации (Таблица 23).

Так, содержание ТГ в ткани печени крыс на фоне введения сулодексида понижалось на 75,9%, 67,7% и 42,2% по сравнению с группой 1 на 21-й, 35-й и 60-й день опыта соответственно ($p < 0,05$). Концентрация ЛПНП, повышаясь на 21-й день на 226,4% ($p < 0,05$), затем имела тенденцию к нормализации. Уровень ХС достоверно снижался на 35-й день эксперимента на 54,2% относительно группы 1.

Таким образом, сулодексид, обладая гиполипидемическим действием, способствовал снижению показателей липидного обмена в крови и ткани печени крыс, в особенности ЛПНП и ТГ, изменения в содержании которых наблюдались при моделировании экспериментального МС в условиях как фруктозообогащенной, так и высокожировой диет. Кроме того, введение препарата нормализовало изучаемые показатели углеводного обмена в течение эксперимента. В связи с этим, следуя из полученных экспериментальных данных, препарат сулодексид может быть использован для коррекции нарушений в липидном и углеводном обмене, вызванных высококалорийным питанием.

Таблица 22 – Концентрация глюкозы и инсулина в крови крыс при высокожировой диете и на фоне введения сулодексида, Ме [25%; 75%]

Показатель	21-й день опыта			35-й день опыта			60-й день опыта		
	Контроль	Группа 1	Группа 2	Контроль	Группа 1	Группа 2	Контроль	Группа 1	Группа 2
Глюкоза, ммоль/л	6,48 [6,31;6,94]	8,29 [7,33;8,47]	7,52* [7,26;8,52]	6,59 [6,32;7,07]	9,78 [9,47;9,87]	8,46* [7,69;8,79]	6,64 [6,17;7,17]	7,16 [6,69;7,77]	6,78 [6,20;7,26]
Инсулин, мкЕд/мл	1,68 [1,57;1,79]	2,1 [1,88;2,3]	2,3 [1,88;4,05]	1,63 [1,4;2,24]	2,15 [2,1;3,13]	2,05 [1,9;3,75]	1,47 [1,22;2,13]	1,95 [1,28;2,23]	1,55 [1,18;2,83]

Примечание: группа 1 – крысы, находившиеся на фруктозообогащенной диете; группа 2 – крысы, находившиеся на фруктозообогащенной диете на фоне введения сулодексида, *-p<0,05 относительно группы 1.

Таблица 23 – Показатели липидного спектра в ткани печени крыс при высокожировой диете и при введении сулодексида, Ме [25%; 75%]

Показатель	21-й день опыта			35-й день опыта			60-й день опыта		
	Контроль	Группа 1	Группа 2	Контроль	Группа 1	Группа 2	Контроль	Группа 1	Группа 2
ХС, ммоль/100г	1,92 [1,73;2,11]	2,25 [2,10;2,37]	2,08 [1,94;2,12]	1,98 [1,89;2,13]	2,4 [2,36;2,48]	1,1* [1,01;1,38]	2,07 [2,04;2,12]	2,25 [1,99;2,37]	1,89 [1,72;2]
ЛПВП, ммоль/100г	0,97 [0,83;1,04]	0,98 [0,69;1,14]	0,14* [0,12;0,17]	1,02 [0,95;1,04]	1,05 [0,81;1,28]	0,62* [0,55;0,74]	1,01 [0,93;1,02]	1,08 [0,81;1,21]	1,06 [1,01;1,11]
ЛПНП, ммоль/100г	0,51 [0,21;0,70]	0,53 [0,17;0,64]	1,73* [1,64;1,77]	0,46 [0,42;0,55]	0,48 [0,26;0,71]	0,12 [0,06;0,36]	0,68 [0,59;0,75]	0,7 [0,49;0,87]	0,57 [0,42;0,87]
ТГ, ммоль/100г	1,06 [1,04;1,10]	1,91 [1,7;2,13]	0,46* [0,39;0,53]	1,11 [0,92;1,19]	1,89 [1,80;1,97]	0,61* [0,58;0,67]	0,93 [0,79;1,09]	1,02 [0,85;1,22]	0,59* [0,44;0,69]

Примечание: группа 1 – крысы, находившиеся на фруктозообогащенной диете; группа 2 – крысы, находившиеся на фруктозообогащенной диете на фоне введения сулодексида, *-p<0,05 относительно группы 1.

3.6.2 Влияние препарата сулодексид на содержание фибронектина и ламинина при экспериментальных моделях метаболического синдрома

Согласно проведенным нами исследованиям, препарат сулодексид обладает способностью к нормализации отдельных показателей липидного спектра и углеводного обмена в крови и ткани печени крыс. Одновременно, подавляя пролиферацию клеток стенки сосудов, способствуя восстановлению структурной и функциональной целостности сосудистого эндотелия, сулодексид тем самым вероятно оказывает благоприятное воздействие и на компоненты межклеточного матрикса (Шалхарова и др., 2015).

Так, в нашем эксперименте в условиях фруктозообогащенной диеты при введении сулодексида отмечалась тенденция к снижению содержания фибронектина в крови крыс на 21-й и 35-й день эксперимента соответственно в сравнении с группой крыс, находившейся только на фруктозообогащенной диете (Таблица 24).

Таблица 24 – Содержание фибронектина в крови крыс при фруктозообогащенной и высокожировой диетах и на фоне введения сулодексида, мкг/мл, Ме [25%; 75%]

Серии эксперимента	21-й день опыта	35-й день опыта	60-й день опыта
Контроль 1	54,5 [51,5;59]	57 [55,8;62]	62 [57,8;63,8]
Фруктозообогащенная диета	74* [72,8;75,3]	79* [77,5;79,3]	87* ^a [67,5;96,5]
Высокожировая диета	70,5* [69;72,8]	67 [55,8;71,3]	79* ^b [69,5;81,3]
Контроль 2	57,5 [52,8;61,3]	59,5 [57,3;61,3]	65 [59,3;72,3]
Фруктозообогащенная диета и сулодексид	72,5* [70,5;75,8]	74* [70,8;76,8]	67 ^a [57;70,3]
Высокожировая диета и сулодексид	70* [68,8;71,5]	64 [62,5;66]	63,5 ^b [61,3;67,5]

Примечание: статистическая значимость различий *– $p < 0,05$ относительно контроля, ^{a, b} – $p < 0,05$ относительно соответствующих групп

К 60-му дню опыта уровень фибронектина в крови крыс при введении сулодексида достоверно снизился на 29,9% ($p < 0,05$) относительно крыс,

находившихся только на фруктозообогатенной диете, практически достигая значений контрольной группы ($p>0,05$).

Аналогично, введение сулодексида в условиях высокожировой диеты способствовало снижению уровня фибронектина в крови животных (Таблица 24).

Согласно представленным в таблице данным, на 21-й день эксперимента отличия от контрольных значений в содержании фибронектина в крови крыс, находившихся только на высокожировой диете, и в группе животных в условиях сочетанного воздействия высокожировой диеты и сулодексида составили 29,4% и 21,7% соответственно ($p<0,05$), при этом несущественно отличались по сравнению друг с другом ($p>0,05$). На 35-й день опыта содержание фибронектина в обеих группах крыс было незначительно выше контрольных значений ($p>0,05$). К окончанию эксперимента уровень фибронектина в крови крыс, находившихся в условиях высокожировой диеты, достоверно возростал, а введение сулодексида способствовало его статистически значимому снижению на 24,4% ($p<0,05$).

В ткани печени крыс, находившихся на фруктозообогатенной диете, при введении сулодексида наблюдалась схожая динамика снижения содержания фибронектина (Таблица 25).

Таблица 25 – Содержание фибронектина в ткани печени крыс в условиях соответствующих диет и на фоне введения сулодексида, мкг/100мг, Ме [25%; 75%]

Серия эксперимента	21-й день опыта	35-й день опыта	60-й день опыта
Контроль 1	122 [120;128]	122,5 [119;128]	121 [119;124]
Фруктозообогатенная диета	135,5 [135;139]	155,5* [151;166]	146,5* [139;161]
Высокожировая диета	139,5* ^a [139;143]	149* ^b [144;151]	135,5 [124;151]
Контроль 2	124,5 [119;129]	124,5 [119;126]	123 [116;130]
Фруктозообогатенная диета и сулодексид	131,5 [125;136]	134 [120;176]	125 [118;165]
Высокожировая диета и сулодексид	134,5* ^a [133;136]	128 ^b [123;131]	125,5 [120;129]

Примечание: статистическая значимость различий * – $p<0,05$ относительно контроля, ^a, ^b – $p<0,05$ относительно соответствующих групп

Как следует из таблицы, в образцах ткани печени крыс, находившихся на фруктозообогащенной диете, при введении сулодексида содержание фибронектина статистически значимо не отличалось от значений контрольной группы животных в течение всего проводимого исследования.

В условиях высокожировой диеты при введении сулодексида уровень фибронектина в ткани печени крыс снижался на 21-й день в 1,04 раза ($p < 0,05$) и в 1,16 раз на 35-й день опыта ($p < 0,05$) по сравнению с группой, находившейся только на высокожировой диете, причем на 35-й день эксперимента значения фибронектина недостоверно отличались от контроля ($p > 0,05$) (Таблица 25).

Введение сулодексида крысам, находившимся на фруктозообогащенной диете, способствовало снижению уровня ламинина в крови уже на первом временном отрезке (Таблица 26).

Таблица 26 – Содержание ламинина в крови крыс при фруктозообогащенной и высокожировой диетах и на фоне введения сулодексида, нг/мл, Ме [25%; 75%]

Серия эксперимента	21-й день опыта	35-й день опыта	60-й день опыта
Контроль 1	7,95 [7,8;8,13]	7,99 [7,75;8,11]	8,11 [7,78;8,26]
Фруктозообогащенная диета	10,9 ^{*a} [10,28;12,89]	14,63 ^{*b} [13,29;15,39]	17,28 ^{*c} [14,97;18,11]
Высокожировая диета	12,95 [*] [10,82;17,72]	19,97 ^{*d} [17,49;22,67]	19,39 ^{*e} [16,17;27,89]
Контроль 2	7,86 [7,53;8,13]	7,68 [7,28;8,08]	7,81 [7,48;8,09]
Фруктозообогащенная диета и сулодексид	8,79 ^a [8,06;9,23]	9,42 ^b [7,38;10,63]	8,96 ^c [7,29;10,78]
Высокожировая диета и сулодексид	13,55 [*] [11,54;14,23]	12,99 ^{*d} [10,68;14,71]	10,35 ^e [8,16;12,24]

Примечание: статистическая значимость различий * – $p < 0,05$ относительно контроля, ^{a, b} – $p < 0,05$ относительно соответствующих групп

Так, содержание ламинина в крови крыс в условиях фруктозообогащенной диеты достоверно снизилось на 24%, 55,3% и 92,8% на 21-й, 35-й и 60-й день опыта соответственно ($p < 0,05$) в сравнении с животными, находившимися только на фруктозообогащенной диете, практически соответствуя при этом значениям интактных групп ($p > 0,05$).

В условиях высокожировой диеты введение сулодексида аналогичным образом вызывало снижение уровня ламинина в крови животных (Гилева и др., 2022). В данных условиях эксперимента на 35-й день опыта отмечалось статистически значимое уменьшение его содержания на 53,3% относительно группы крыс, находившейся только на высокожировой диете, в то же время достоверно отличное в 1,7 раз от контроля ($p < 0,05$). Лишь на 60-й день опыта уровень ламинина существенно не отличался от контрольного, снижаясь при этом на 87,3% ($p < 0,05$) по сравнению с крысами, содержащимися только на обозначенной диете (Таблица 26).

Вероятно, восстанавливая клеточные структуры, сулодексид частично или полностью участвовал в восстановлении поврежденной базальной мембраны, основным компонентом которой является ламинин.

Это подтверждают и полученные данные о содержании ламинина в гомогенате ткани печени крыс при фруктозообогащенной и высокожировой диетах и введении сулодексида (Таблица 27).

Таблица 27 – Содержание ламинина в ткани печени крыс при фруктозообогащенной и высокожировой диетах и на фоне введения сулодексида, нг/100мг, Me [25%; 75%]

Серии эксперимента	21-й день опыта	35-й день опыта	60-й день опыта
Контроль 1	70,45 [69,33;71,5]	71,85 [70,84;73,3]	71,2 [69,78;71,79]
Фруктозообогащенная диета	76,99 ^{*a} [76,77;77,61]	77,81 [63,15;81,69]	81,74 [70,99;92,07]
Высокожировая диета	71,19 [66,88;74,69]	89,83 ^{*b} [87,95;91,04]	98,63 ^{*c} [84,17;100,8]
Контроль 2	69,59 [68,07;70,13]	68,34 [63,91;72,04]	69,42 [67,37;71,32]
Фруктозообогащенная диета и сулодексид	72,92 ^a [71,93;73,52]	74,24 [72,89;76,23]	71,83 [64,69;76,72]
Высокожировая диета и сулодексид	74,59 [*] [74,47;75,35]	78,23 ^{*b} [76,79;79,57]	72,74 ^c [60,85;78,26]

Примечание: статистическая значимость различий * – $p < 0,05$ относительно контроля, ^{a, b} – $p < 0,05$ относительно соответствующих групп

Согласно полученным данным, при фруктозообогащенной диете при введении сулодексида в течение 21-го дня содержание ламинина в ткани печени крыс достоверно снизилось на 5,6% ($p < 0,05$). В последующие временные интервалы его содержание изменялось несущественно, недостоверно отличаясь как от значений содержания в ткани печени крыс, находившихся только на соответствующей диете, так и от контрольных величин ($p > 0,05$).

Введение сулодексида группе крыс, находившейся на высокожировой диете, приводило к уменьшению содержания ламинина в ткани печени крыс на 14,8% и 35,6% на 35-й и 60-й день опыта соответственно по сравнению с грызунами, находившимися только на данной диете ($p < 0,05$). Вероятно, в основном это обусловлено липолитической функцией сулодексида, благодаря чему снижалось содержание ТГ в крови животных. При этом к окончанию эксперимента уровень ламинина оставался немногим выше значений контрольной группы ($p < 0,05$).

Таким образом, сулодексид способствовал восстановлению содержания фибронектина и ламинина в сыворотке крови и в ткани печени крыс. Вероятно, он стабилизировал структурные и функциональные свойства компонентов межклеточного матрикса на фоне изменений в метаболизме, вызванных фруктозообогащенной и высокожировой диетами. Возможно, это обусловлено как его липолитическим воздействием на ТГ, в избыточном количестве оказывающими повреждающее действие на клеточные структуры и компоненты межклеточного матрикса, так и описанными в литературных источниках ангиопротективными свойствами. Благодаря этому, наблюдалось снижение содержания показателей липидного обмена в крови и ткани печени крыс и достижение исследуемых гликопротеинов – фибронектина и ламинина – уровня интактных животных в динамике проводимого исследования.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Широкая распространенность метаболического синдрома среди населения развитых стран на сегодняшний день является одной из главных проблем современной медицины. Согласно National Cholesterol Education Program-Adult Treatment Panel III критериями диагностики МС являются три или более следующих обменных нарушений: избыточная масса тела, гипергликемия, гиперинсулинемия, дислипидемия (Кытикова и др., 2021). Но, по мнению Ройтберг Г.Е. (2007г.), обязательной составляющей должна быть инсулинорезистентность как механизм, запускающий каскад всех взаимосвязанных метаболических изменений (Ройтберг, 2007).

Основной причиной развития резистентности к инсулину, а значит и формирования МС, по мнению некоторых авторов, является увеличение потребления пищи, содержащей фруктозу и жиры, которые входят в состав многих продуктов питания (Решетняк и др., 2011). По данным литературы, повышенное потребление фруктозы приводит к избыточному синтезу свободных жирных кислот, а в последующем и триглицеридов, которые могут привести к нарушениям в передаче сигнала инсулина внутрь клетки и тем самым способствовать формированию инсулинорезистентности (Kazumi et al., 1997; Softic et al., 2020).

По современным литературным данным, жировая ткань, представленная при избыточной массе тела в основном белой жировой тканью, является не только энергетическим резервуаром клеток, но и органом, секретирующим большое количество адипоцитокинов: адипонектин, фактор некроза опухоли альфа, интерлейкины и прочие (Демьяненко и др., 2021). При повышенном накоплении жировой ткани наблюдается развитие эффекта липотоксичности и снижение количества рецепторов к инсулину. Все это может привести как к развитию инсулинорезистентности, так и к формированию основных признаков метаболического синдрома (Демьяненко и др., 2021).

Помимо этого, инсулинорезистентность и гиперинсулинемия наряду с гипергликемией, гиперлипидемией могут оказывать как опосредованное, так и

прямое действие на эндотелий сосудов за счет активации воспалительных процессов, в том числе на фоне инициации реакций свободнорадикального окисления и накопления продуктов перекисного окисления липидов и белков (Голивец и др., 2022). При формирующейся резистентности к инсулину изменяются важнейшие функции сосудистого эндотелия – усиливается синтез вазоконстрикторов, в частности одного из основных – эндотелина. Наряду с этим, снижается выработка вазодилататоров, ведущим из которых является оксид азота (NO), обладающий выраженными антиоксидантными свойствами и регулирующий функции эндотелия (Папышева и др., 2018; Игнатенко и др., 2020; Голивец и др., 2022).

Таким образом, избыточное потребление высококалорийного питания может явиться патогенетической основой сердечно-сосудистых заболеваний, стремительный рост которых наблюдается в настоящее время (Решетняк и др., 2011).

По результатам проведенных нами биохимических исследований сыворотки крови у крыс, находившихся на фруктозообогащенной и высокожировой диетах, были выявлены изменения в метаболических превращениях липидов и углеводов с накоплением их как в крови, так и в ткани печени, наряду с возрастанием массы тела животных (Таблица 28).

Таблица 28 – Сравнительная характеристика массы тела и показателей углеводного и липидного обмена в сыворотке крови крыс при фруктозообогащенной и высокожировой диетах

Показатель	Фруктозообогащенная диета	Высокожировая диета
Масса тела	Тенденция к увеличению	Повышение на 35-й день*
Концентрация глюкозы	Увеличение на 21-й, 35-й день*, с сохранением до 60-го дня*	Увеличение до 35-го дня*, со снижением к 60-му дню
Концентрация инсулина	Увеличение на 21-й день*, с сохранением до 60-го дня*	Тенденция к увеличению, выраженный подъем на 60-й день*
Инсулино-резистентность	Имеется*	Имеется*
Концентрация ХС	Повышение с 21-го по 60-й день*	Повышение с 21-го по 60-й день*

Показатель	Фруктозообогащенная диета	Высокожировая диета
Концентрация ЛПНП	Повышение на 21-й с выраженным подъемом к 60-му дню*	Повышение на 35-й день* с незначительным снижением на 60-й день
Концентрация ЛПВП	Возрастание с 21-го дня* со снижением на 60-й день	Возрастание с 21-го дня*
Концентрация ТГ	Увеличение на 35-й день*, незначительное снижение к 60-му дню	Выраженное увеличение на 21-й и до 60-го дня*
ИА	Повышение до 60-го дня*	Повышение до 60-го дня*

Примечание: * - $p < 0,05$ статистическая значимость различий по отношению к контролю

В гомогенате ткани печени животных наблюдалась тенденция к увеличению исследуемых показателей, но достоверных отличий от контрольных значений не отмечалось.

По представленным результатам можно сделать вывод о нарушениях как в углеводном, так и липидном обмене при потреблении пищи, богатой фруктозой и жирами. Причем изменения коснулись и антиатерогенной фракции липопротеинов – ЛПВП. Это могло быть связано как с генетической предрасположенностью крыс к синтезу преимущественно данной формы липопротеинов, так и с их гиперпродукцией в результате активации перекисного окисления липидов, поскольку, по данным литературных источников, ЛПВП обладают антиоксидативными свойствами (Бабинцева и др., 2016).

Стрессовая нагрузка в виде физиологических стресс-агентов таких как физические нагрузки, иммобилизация, механические травмы и шоки, а также психологических факторов неразрывно связана со всей нашей жизнедеятельностью (Кузьменко, 2013; Криштоп и др., 2021). Первые работы о неспецифическом ответе организма на стрессовые факторы были опубликованы канадским физиологом и фармакологом Гансом Селье (1936г.) (Selye, 1936). Разнообразные стрессовые воздействия, мишенями для которых служат все клетки и органы, вызывают развитие в организме общего адаптационного синдрома (Полина и др., 2020).

По данным В.В. Жигулиной (2014г.), эмоциональный стресс способствует увеличению концентрации глюкозы, ТГ, ХС и липопротеинов в крови крыс (Жигулина, 2014). Кроме того, в результате активации гипоталамо-гипофизарно-

надпочечниковой системы усиливается секреция катехоламинов и гормонов стресса, при этом активируется мобилизация жировой ткани с повышением образования свободных жирных кислот (СЖК) и последующий выход их в кровяное русло. При отсутствии необходимости в утилизации СЖК как энергетических источников в мышцах, через ацетил-КоА они могут превращаться в ХС, а часть – в ТГ (Жигулина, 2014; Ковалева и др., 2019).

Помимо этого, по представлениям Г. Селье (1936г.), именно продукты ПОЛ, уровень которых превышает нормальное значение на фоне стресса, играют роль начального медиатора в запуске реакций адаптации в ответ на стрессовое воздействие (Selye, 1936).

Однако возникновение стрессовой реакции зависит не только от действия раздражителя, но и определяется индивидуальными особенностями организма, его реактивностью на данное воздействие и устойчивостью к нему (Кузьменко, 2013). На этом основано разделение в экспериментальных условиях животных, в частности крыс, по принципу стресс-устойчивости по определенным поведенческим признакам в тесте «Открытое поле» (Коплик, 2002; Кузьменко, 2013). По этому тесту можно оценить устойчивость животных к стрессу до возникновения стрессовой ситуации (Абрамова и др., 2018). Чаще всего, по литературным источникам, наибольшую часть крыс составляют животные с промежуточным или средним показателем стресс-устойчивости (Коплик, 2002). Данную группу крыс мы выбрали для проводимого исследования.

Иммобилизация крыс с промежуточным показателем стресс-устойчивости в нашем эксперименте приводила к выраженным изменениям в липидном обмене в результате возможного усиления катаболических и замедления анаболических процессов. В показателях углеводного обмена достоверных отличий от контрольной группы не наблюдалось. Еще более негативному формированию последствий в изучаемых метаболизмах способствовало одновременное назначение изучаемых нами высококалорийных диет на фоне иммобилизации (Таблица 29).

Таким образом, иммобилизация приводила к мобилизации адаптивных возможностей организма к стресс-фактору с использованием энергетического субстрата в виде глюкозы, содержание которой снижалось на первом временном отрезке эксперимента. Вместе с тем, активировались липолитические реакции в организме, направленные на получение дополнительных источников энергии. Поэтому (Таблица 29) снижалось содержание ТГ вероятно в результате активации липолиза, в том числе в адипоцитах, с высвобождением свободных жирных кислот. Затем, по-видимому, часть СЖК ресинтезировалась в ХС с образованием ЛПНП и ЛПВП, которые на последующих временных интервалах эксперимента расходовались в качестве дополнительного источника энергетических эквивалентов.

Таблица 29 – Сравнительная характеристика массы тела и показателей углеводного и липидного обмена в сыворотке крови при иммобилизационном стрессе, фруктозообогащенной и высокожировой диетах

Показатель	Иммобилизационный стресс	Фруктозообогащенная диета и стресс	Высокожировая диета и стресс
Масса тела	Снижение	Увеличение на 21-й день	Увеличение на 21-й день
Концентрация глюкозы	Уменьшение на 21-й день с тенденцией к возрастанию на 35-й	Тенденция к увеличению на 35-й день	Тенденция к увеличению на 35-й день
Концентрация инсулина	Уменьшение на 21-й день* с возрастанием на 35-й	Тенденция к увеличению на 35-й день	Возрастание на 35-й день*
Инсулинорезистентность	Нет	Нет	Имеется на 35-й*
Концентрация ХС	Выраженный подъем на 21-й день*	Повышение на 35-й день*	Повышение на 21-й день*
Концентрация ЛПНП	Повышение на 21-й день* с последующим снижением	Повышение на 35-й день*	Повышение на 21-й день*
Концентрация ЛПВП	Выраженный подъем на 21-й день*	Повышение на 35-й день*	Повышение на 21-й день*
Концентрация ТГ	Снижение с 21-го дня*	Тенденция к увеличению на 35-й день	Тенденция к увеличению на 21-й день
ИА	Снижение на 21-й*, возрастание на 35-й день	Тенденция к увеличению на 35-й день	Возрастание на 21-й день* с последующим снижением

Примечание: * - $p < 0,05$ статистическая значимость различий по отношению к контролю

Диеты, обогащенные фруктозой и жиром, «смягчали» воздействие иммобилизационного стресса и послужили дополнительным источником энергии, особенно на первых этапах иммобилизации.

Высококалорийные диеты, иммобилизационный стресс и их сочетание, вероятно, способствовали нарушению структурной и функциональной целостности отдельных клеточных структур, развитию воспалительных реакций. Так, накопление липидов в гепатоцитах вызывало активацию цитолитических процессов в них с высвобождением ферментов печени – специфических маркеров цитолиза. По результатам проведенных нами исследований отмечалось возрастание активности исследуемых ферментов – АЛТ, АСТ, ЩФ, ЛДГ – в сыворотке крови крыс. Это соответствует данным литературы, согласно которым при иммобилизационном стрессе отмечалось повышение активности АЛТ и АСТ, имеющих в норме внутриклеточную локализацию (Быкова и др., 2010).

Возможно, возникающие нарушения в обменных процессах затрагивали и другие системы в организме, в том числе сосудистый эндотелий за счет повышенной циркуляции в нем липидных структур, запуска патологических реакций окислительного стресса, смещения баланса прооксидантных и антиоксидантных составляющих внутриклеточной среды с последующим накоплением высокореакционных продуктов и повреждением стенки сосудов (Мустафаева, 2018). Ранее исследователями было показано, что инсулинорезистентность и гиперинсулинемия запускают ряд патологических реакций, ассоциированных с эндотелиальной дисфункцией, и приводят к развитию метаболических заболеваний (Jalali et al., 2020). Наряду с этим, при формирующейся гипергликемии на поверхности эндотелиоцитов наблюдается большое число лейкоцитов, которые продуцируют свободные радикалы и вызывают тем самым нарушение микроциркуляции и развитие оксидативного стресса (Игнатенко и др., 2020). По мнению авторов, неоспоримым является факт, что все компоненты МС, включая гипергликемию и дислипидемию, усугубляют эндотелиальную дисфункцию (Папышева и др., 2018).

Как результат, негативному воздействию в нашем эксперименте подвергался межклеточный матрикс соединительной ткани, имеющей значительное распространение в организме. Маркерами такого воздействия могли послужить неколлагеновые гликопротеины внеклеточного матрикса, выполняющие основные регуляторные и структурные функции. К ним относятся фибронектин и ламинин. Увеличение содержания данных гликопротеинов в сыворотке крови крыс в изучаемых условиях моделирования метаболического синдрома и иммобилизационного стресса могло быть определено как их высоким содержанием в поврежденных клетках и последующей элиминацией, так и усилением синтеза в качестве ответной реакции на действие повреждающих факторов (Могильницкая, 2015).

Обладая большим разнообразием центров связывания макромолекул межклеточного матрикса благодаря наличию модульной организации, фибронектин играет ключевую роль в организации его целостной структуры. Кроме того, фибронектин активно участвует как в миграции, дифференцировке и пролиферации клеток, так и в воспалительных реакциях и процессах репарации (Лыков и др., 2014).

По мнению Могильницкой Л.А. (2015г.), повышение уровня фибронектина в сыворотке крови больных с избыточной массой тела может быть результатом возникновения эндотелиальной дисфункции и активации, что может в дальнейшем лежать в основе развития атеросклеротических изменений (Могильницкая, 2015). Помимо этого, гипергликемия наряду с дислипидемией приводят к увеличению содержания фибронектина в крови этих пациентов (Могильницкая, 2015).

В проведенных нами исследованиях по изучению содержания фибронектина в сыворотке крови крыс при фруктозообогащенной и высокожировой диетах наблюдалось увеличение его концентрации с начала и до окончания эксперимента (Таблица 30).

Необходимо отметить, что фруктозообогащенная диета в отличие от высокожировой в большей степени повлияла на увеличение содержания

фибронектина, особенно на 35-й день опыта ($p < 0,05$). Вероятно, подъем уровня глюкозы в данной серии в начале постановки и продолжающийся до ее окончания наибольшим образом затрагивал структурные и функциональные особенности фибронектина, возможно связанные с процессами О- и N-гликозилирования. Известно, что степень и природа гликозилирования фибронектина определяет его аффинность к коллагеновым и иным структурам, способность к осуществлению клеточной адгезии и миграции клеток (Uysal, 2016). Изменения в процессах гликозилирования могли привести к усилению его активности, синтеза и повышенному высвобождению в кровяное русло, что подтверждают предыдущие исследования Могильницкой Л.А. о наличии прямой зависимости между уровнем глюкозы и фибронектина в сыворотке крови (Могильницкая, 2015).

Таблица 30 – Рост уровня фибронектина в крови крыс относительно контроля, %

Условия эксперимента	21-й день опыта	35-й день опыта	60-й день опыта
Фруктозообогащенная диета	36*	39* ^a	40*
Высокожировая диета	29*	18 ^a	27*
Иммобилизация	13	13	7
Иммобилизация и фруктозообогащенная диета	62* ^b	56* ^c	74*
Иммобилизация и высокожировая диета	41* ^b	18 ^c	56*
Фруктозообогащенная диета и сулодексид	33*	30*	8
Высокожировая диета и сулодексид	28*	12	2

Примечание: * - $p < 0,05$ статистическая значимость различий относительно контроля, ^{a,b,c} – $p < 0,05$ относительно соответствующей группы

Ранее было показано, что изменения в обмене биополимеров соединительной ткани при длительном иммобилизационном стрессе у крыс имеют прямую корреляцию с количеством глюкокортикоидных гормонов в

сыворотке крови. Чем выше уровень этих гормонов, тем активнее протекают катаболические реакции и замедляются процессы анаболизма (Жигулина, 2014).

Кроме того, по данным Жигулиной В.В. (2014г.), стресс оказывает большое влияние на метаболизм гликопротеинов, играющих значительную роль в процессах взаимодействия между клеточными структурами и компонентами межклеточного матрикса. Было показано, что после воздействия стресс-фактора в крови здоровых людей наблюдалось возрастание гликопротеина GP 37 – маркера развития стресс-зависимых заболеваний (Жигулина, 2014).

В нашей серии экспериментов при иммобилизационном стрессе была отмечена лишь тенденция к увеличению содержания фибронектина (Таблица 30). Вместе с тем прослеживалась обратная корреляционная зависимость между содержанием фибронектина и кортикостерона ($r=-0,731$, $p<0,05$).

В ткани печени крыс при «изолированной» иммобилизации прослеживалась схожая динамика возрастания уровня фибронектина, но, в отличие от сыворотки крови, достигающая достоверно отличных от контроля значений на 35-й день опыта на 13,5% в сравнении с контролем ($p<0,05$) (Таблица 16). Это, вероятно, может свидетельствовать об усилении синтеза фибронектина как основного регуляторного белка межклеточного матрикса в ответ на стрессорные воздействия, приводящие к активации катаболических реакций и деструктивным изменениям в клеточных структурах.

Сочетанное воздействие иммобилизации и высококалорийных диет, причем в большей степени обогащенное фруктозой ($p<0,05$), привело к повышению содержания фибронектина в количестве, статистически отличном от контроля (Таблица 30).

Исходя из этого, можно предположить, что обусловленные данными диетами обменные нарушения в гепатоцитах, приводящие к развитию воспалительной реакции и последующему нарушению их структурной и функциональной целостности с высвобождением специфических для печени ферментов, усиливают активацию синтеза и элиминацию из них компонентов внеклеточного матрикса таких как фибронектин и ламинин.

Ламинин является еще одним адгезивным белком внеклеточного матрикса, расположенным преимущественно в базальной мембране и обеспечивающим ее структурную целостность. По мнению Батюшина М.М. (2016г.), ламинин, существующий в виде 16 изоформ, является инициатором в запуске формирования базальной мембраны, обеспечивая взаимодействие клеточных рецепторов и макромолекул межклеточного матрикса (Батюшин и др., 2016). Обладая доменной структурой, ламинин содержит центры взаимодействия с такими молекулярными структурами внеклеточного матрикса, как фибронектин, коллаген, нидоген, обуславливая тем самым его единую организацию (Гонтарь и др., 2019).

Наши исследования по содержанию ламинина в условиях фруктозообогатщенной и высокожировой диет продемонстрировали следующую закономерность (Таблица 31).

Из представленной таблицы видно, что уровень ламинина при высокожировой диете был выше, чем при фруктозообогатщенной, преимущественно на 35-й день эксперимента ($p < 0,05$). Вероятно, он определялся более высоким уровнем триглицеридов (ТГ), наблюдавшимся при высокожировой диете, учитывая прямую корреляционную зависимость между содержанием ТГ и уровнем ламинина в крови на 21-й день опыта ($r = 0,976$, $p < 0,01$) (Таблица 28). ТГ в свою очередь, обладая эффектом «липотоксичности», влекут за собой изменения в межклеточных взаимодействиях, преимущественно затрагивая структурные и функциональные характеристики базальной мембраны. Возможно, такое влияние и повреждающее действие отражается в усилении активности ее составляющих, в частности, ламинина, с увеличением его синтеза и высвобождением в кровяное русло. Это подтверждает наблюдаемая прямая корреляционная взаимосвязь между активностью АЛТ и уровнем ламинина в условиях высокожировой диеты ($r = 0,810$, $p < 0,05$).

Таблица 31 – Рост уровня ламинина в крови относительно контроля, %

Условия эксперимента	21-й день опыта	35-й день опыта	60-й день опыта
Фруктозообогащенная диета	38*	83* ^a	113*
Высокожировая диета	63*	150* ^a	139*
Иммобилизация	6	15	5
Иммобилизация и фруктозообогащенная диета	68*	124*	145*
Иммобилизация и высокожировая диета	54*	99*	139*
Фруктозообогащенная диета и сулодексид	11	18	10
Высокожировая диета и сулодексид	71*	63*	28

Примечание: * - $p < 0,05$ статистическая значимость различий относительно контроля, ^a – $p < 0,05$ относительно соответствующей группы

В ткани печени крыс прослеживалась тенденция к увеличению содержания ламинина при иммобилизационном стрессе (Таблица 16). Сочетанное потребление фруктозообогащенной и высокожировой диет с иммобилизацией приводило к возрастанию уровня ламинина до статистически отличных от контроля величин (Таблица 31).

Сулодексид является природной смесью гликозаминогликанов, представленной на 80% низкомолекулярным гепарином и на 20% дерматансульфатом (Батюшин, 2015). Благодаря тому, что значительная часть сулодексида абсорбируется в эндотелии сосудов, его можно считать лекарственным препаратом, восстанавливающим активность сосудистого эндотелия (Li et al., 2017). Это в основном определяется способностью сулодексида как снижать экспрессию эндотелина, так и усиливать активность NO-синтазы – фермента, катализирующего синтез основного вазодилатора эндотелия сосудов – оксида азота (NO) (Куркин и др., 2022). Помимо этого, сулодексид обладает высокой липолитической активностью, снижая содержание в крови ТГ, ХС и липопротеинов (Батюшин, 2015).

По результатам нашего эксперимента прослеживалась положительная динамика в восстановлении содержания исследуемых показателей липидного и углеводного обмена на фоне высококалорийных диет и при одновременном

введении сулодексида. Так, большинство из них и в сыворотке крови, и в ткани печени крыс практически достигали контрольных значений к окончанию исследования.

Уровень неколлагеновых белков межклеточного матрикса – фибронектина и ламинина – возвращался к значениям интактных животных к концу эксперимента (Таблица 30, 31). Причем, содержание фибронектина снижалось на 35-й день в условиях высокожировой диеты и введения сулодексида, уровень ламинина достигал контрольных значений ($p > 0,05$) на 21-й день потребления фруктозообогащенной диеты и введения препарата.

Восстанавливая структурную и функциональную целостность сосудистого эндотелия, клеточных структур, нормализуя содержание показателей липидного профиля в крови и ткани печени, сулодексид тем самым способствовал снижению уровня основных адгезивных белков внеклеточного матрикса – фибронектина и ламинина, являющихся отражением восстановления его структуры, функционирования отдельных биомолекул и их участия в клеточных взаимодействиях.

Таким образом, изучение основных регуляторных белков межклеточного матрикса соединительной ткани, таких как фибронектин и ламинин, является существенным в оценке функционирования отдельных клеточных структур в результате развивающихся деструктивных процессов на фоне несбалансированного питания и стрессогенных факторов окружающей среды и может быть использовано для диагностики начальных стадий стеатоза, статогепатита и фиброза печени.

ВЫВОДЫ

1. Созданные модели экспериментального метаболического синдрома, основанные на фруктозообогащенной и высокожировой диетах, выявили основные характерные для него признаки: повышение массы тела крыс, гипергликемию, гиперинсулинемию, инсулинорезистентность, дислипидемию. Гипергликемия и гиперинсулинемия сохранялись продолжительное время при фруктозообогащенной диете даже после ее отмены. Для высокожировой диеты характерно выраженное увеличение содержания триглицеридов в крови крыс в течение всего эксперимента. Инсулинорезистентность идентифицировалась на 21-й эксперимента как при фруктозообогащенной, так и высокожировой диете.
2. «Изолированный» иммобилизационный стресс и его сочетание с фруктозообогащенной диетой приводят к повышению уровня кортикостерона в крови крыс на 35-й день опыта и развитию дислипидемии, но не влияют на показатели углеводного обмена. Сочетание иммобилизации и высокожировой диеты наряду с дислипидемией способствует формированию инсулинорезистентности и гиперинсулинемии на 35-й день эксперимента.
3. Экспериментальный метаболический синдром на основе фруктозообогащенной диеты вызывает увеличение содержания фибронектина в крови крыс с ростом его в ткани печени в ходе всего эксперимента. Высокожировая диета аналогичным образом влияет на возрастание фибронектина как в крови, так и в ткани печени крыс, но в меньшей степени, чем фруктозообогащенная. Наряду с этим, уровень ламинина увеличивается как при фруктозообогащенной, так при высокожировой диете в крови и в ткани печени крыс; более выраженные изменения выявляются при высокожировой диете.
4. При «изолированном» иммобилизационном стрессе рост уровня фибронектина и ламинина в крови крыс не наблюдается, тогда как в ткани печени происходит увеличение содержания фибронектина на 35-й день опыта. Сочетание иммобилизации с фруктозообогащенной и высокожировой диетами

способствует увеличению содержания фибронектина и ламинина как в крови, так и в ткани печени крыс.

5. Препарат сулодексид, представляющий собой естественную смесь гликозаминогликанов, в условиях высокожировой и фруктозообогащенной диет восстанавливает измененные показатели липидного и углеводного метаболизма и снижает содержание фибронектина и ламинина в крови и ткани печени крыс.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

МС	метаболический синдром
ГАГ	гликозаминогликаны
ГП	гликопротеины
ПГ	протеогликаны
У.е.	условные единицы
ИФА	иммуноферментный анализ
ИА	индекс атерогенности
ХС	общий холестерин
ЛПВП	холестерин липопротеинов высокой плотности
ЛПНП	холестерин липопротеинов низкой плотности
ЛПОНП	холестерин липопротеинов очень низкой плотности
ТГ	триглицериды
АЛТ	аланинаминотрансфераза
АСТ	аспартатаминотрансфераза
ЛДГ	лактатдегидрогеназа
ЩФ	щелочная фосфатаза
АКТГ	адренокортикотропный гормон
ФГБОУ ВО	Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
КСР	коэффициент устойчивости к стрессу
GLUT	глюкозный транспортер
ДГАФ	дигидроксиацетонфосфат
ФГА	фосфоглицериновый альдегид
СЖК	свободные жирные кислоты
ПОЛ	перекисное окисление липидов
Ацетил-КоА	ацетил-коэнзим А
ЦТК	цикл трикарбоновых кислот

АТФ	аденозинтрифосфорная кислота
ЛП	липопротеины
ХМ	хиломикроны
НОМА-IR	индекс инсулинорезистентности (Homeostasis Model Assessment of Insulin Resistance)
CARO	индекс инсулинорезистентности, F. Caro, 1991г
Me	медиана
ЛЕ	липопротеинлипазные единицы
ИМН	индекс массы надпочечников

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Автандилов, Г.Г. Медицинская морфометрия / Г.Г. Автандилов. – Москва: Медицина, 1990. – 384с.
2. Айрапетян, Н. Влияние иммобилизационного стресса на некоторые биохимические показатели углеводного обмена в сыворотке крови кроликов / Н. Айрапетян, А. Агаджанян, М. Хачатрян, А. Трчунян. // Биолог. журн. Армении. – 2017. – Т. 69, №1. – С. 13-18.
3. Аметов, А.С. Роль и место нарушенного окислительно-восстановительного баланса в развитии диабетической невропатии и антиоксидантные эффекты альфа-липоевой кислоты / А.С. Аметов, А.А. Косян // Эндокринология. – 2020. – Т.31, №2.– С. 70-79.
4. Антиоксидантный эффект гликозаминогликанов в профилактике осложнений сахарного диабета / А.А. Нелаева, Н.П. Иванова, Е.А. Александрова, Ю.В. Хасанова // Эндокринология. – 2012. – № 51. – С. 38-42.
5. Байматов, В.Н. Влияние высокожирового питания на морфофункциональное состояние печени крыс / В.Н. Байматов, Н.С. Тропская, Е.А. Кислякова [и др.] // Биомедицина. – 2018. – №4. – С. 44-50.
6. Батюшин, М.М. Ламинины в структуре гломерулярной базальной мембраны / М.М. Батюшин, Д.Г. Пасечник // Нефрология. – 2016. – Т. 20, №5. – С. 9-15.
7. Батюшин, М.М. Сулодексид. Нефропротективные свойства и горизонты применения в нефрологии / М.М. Батюшин // Медицинский совет. – 2015. – №7.– С. 68-71.
8. Биологическая активность фракций липопротеидов высокой плотности и их роль в развитии сердечно-сосудистых заболеваний // Я.Д. Бабинцева, Л. Камон, Д. Чепмен [и др.] // Терапевтический архив. – 2016. – №9. – С. 11-18.
9. Биохимические и морфологические показатели инбредных/аутбредных линий и тетрагибрида DBCB мышей в высокосахарозной *in vivo* модели метаболического синдрома / С.А. Апрятин, К.В. Мжельская, Н.В. Трусков [и др.]

- др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2018. – Т.166, №7. – С. 107-113.
10. Будкевич, Р. О. Влияние употребления фруктозы на массу тела крыс в зависимости от их устойчивости к эмоциональному стрессу / Р.О. Будкевич, Ю.С. Гатина, Е.В. Будкевич // Медицинский вестник северного Кавказа. – 2015. – Т. 10, № 3. – С. 306-307.
 11. Булка, А.А. Показатели эндотелиальной дисфункции у детей с сахарным диабетом 1 типа и влияние на них препарата сулодексида (обзор литературы) / А.А. Булка, И.Г. Хмелевская // Современные проблемы науки и образования. – 2022. – №4. – С. 141-151.
 12. Бутолин, Е.Г. Обмен биополимеров соединительной ткани при стресс-активирующих и стресс-лимитирующих воздействиях : автореф. дис... д-ра мед. наук: 14.00.17 / Бутолин Евгений Германович. – Казань, 1993. – 33с.
 13. Быков, В.Л. Гистология, цитология и эмбриология. Руководство к практическим занятиям. Атлас. Учебное пособие/ В.Л. Быков – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2022. – 296 с.
 14. Быкова, М.Ю. Реакция соединительной ткани различных локализаций на действие иммобилизационного стресса / М.Ю. Быкова, Е.А Мухлынина // Вестник уральской медицинской академической науки. – 2010. – № 4. – С. 56-58.
 15. Вербовой, А.Ф. Инсулинорезистентность - общий враг эндокринологов и кардиологов / А.Ф. Вербовой, Ю.А. Долгих // Фарматека. – 2021. – Т. 28, № 12. – С. 26-35.
 16. Вербовой, А.Ф. Ожирение – основа метаболического синдрома / А.Ф. Вербовой, Н.И. Вербовая, Ю.А. Долгих // Ожирение и метаболизм. – 2021. – Т.18, №2. – С. 142-149.
 17. Влияние высокофруктозной диеты на уровень фибронектина в сыворотке крови крыс / О.Г. Гилева, Е.Г. Бутолин, М.В. Терещенко, А.В. Оксюзян // Вопросы питания. – 2020. – Т. 89, № 2. – С. 46-51.

18. Влияние пептида HIS-PHE-ARG-TRP-PRO-GLY-PRO на процессы свободнорадикального окисления в условиях хронического иммобилизационного стресса / А.О. Ворвуль, И.И. Бобынцев, О.А. Медведева [и др.] // Вестник РГМУ. – 2021. – № 6. – С. 66-72.
19. Влияние производных ГАМК и глутаминовой кислоты на функциональную активность митохондрий клеток печени *in vitro* в условиях окислительного стресса / Г.Х. Хусаинова, Т.А. Попова, М.В. Кустова, О.В. Островский // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. – 2022. – Т. 19, № 1 (81). – С. 147-152.
20. Влияние сулодексида (Вессел Дуэ Ф) на показатели доплерографии сонной артерии и когнитивную функцию лиц с метаболическим синдромом / Ж.С. Шалхарова, Ж.Н. Шалхарова, С.С. Аскарлова, М.Б. Жунисова // Фармация Казахстана. – 2015. – Т. 167, № 4. – С. 40-43.
21. Влияние фактора роста гепатоцитов на стресс-индуцированные изменения структуры печени / В.И. Корозин, Ю.Д. Ляшев, Н.И. Шевченко, И.Л. Бровкина // Человек и его здоровье. – 2011. – №4. – С. 51-55.
22. Влияние физических нагрузок на содержание триацилглицеролов в скелетных мышцах у крыс с индуцированным высококалорийной диетой ожирением / И.Ю. Якимович, Д.А. Бородин, И.К. Подрезов [и др.] // Бюллетень сибирской медицины. – 2014. – Т. 13, № 1. – С. 92-97.
23. Влияние экспериментального хронического стресса на состояние углеводного обмена у крыс с разными характеристиками поведения / А.Ю. Абрамова, А.С. Перцов, Е. В. Коплик, С.С. Перцов // Бюллетень медицинской науки. – 2018. – Т.9, №1. – С. 21-25.
24. Внутриклеточная локализация и функция ядерного фактора эритроидного происхождения 2 (Nrf2) в условиях моделирования окислительного стресса *in vitro* / Ю.В. Абаленихина, П.Д. Ерохина, А.А. Сеидкулиева [и др.] // Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова. – 2022. – Т. 30, № 3. – С. 295-304.

25. Возможность прогнозирования развития фиброза и цирроза при аутоиммунных заболеваниях печени у детей с помощью прямых биомаркеров / Е.А. Кулебина, А.Н. Сурков, Н.М. Алябьева [и др.] // Доктор.Ру. – 2021. – №3. – С. 24-28.
26. Волкова, М.В. Современные биомаркеры окислительного стресса, оцениваемые методом иммуноферментного анализа / М.В. Волкова, Ю.И. Рагино // Атеросклероз. – 2021. – Т. 17, № 4. – С 79-92.
27. Восстановить гликокаликс! Есть ли возможности? / С.В. Сокологорский, А.М. Овечкин, М.Е. Политов, Е.Л. Буланова // Анестезиология и реаниматология. – 2022. – № 1. – С. 102-110.
28. Генетически детерминированные особенности влияния молекулярной структуры отдельных изоформ фибронектина на патогенетически значимые процессы метаболизма в организме (обзор литературы) / А.В. Долгих, О.В. Нетронина, А.С. Маслак, О.Е. Абраимова // Лабораторная диагностика. Восточная Европа. – 2018. – Т.7, №3. – С. 342-359.
29. Геномика синтеза эластических волокон. Практическая значимость для врачей-косметологов и дерматологов / Н.Н. Потехаев, О.Б. Борзых, Н.А. Шнайдер [и др.] // Клиническая дерматология и венерология. – 2021. – Т.20, №6. – С. 52-59.
30. Гилева, О.Г. Биохимические маркеры повреждения печени при фруктозоиндуцированной диете у крыс / О.Г. Гилева // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2020. – Т.23, №9. – С. 53-58.
31. Гилева, О.Г. Изменения показателей углеводного и липидного обмена у крыс с экспериментальным метаболическим синдромом / О.Г. Гилева, Е.Г. Бутолин // LXXX научно-практическая конференция с международным участием «Актуальные вопросы экспериментальной и клинической медицины-2019»: тезисы докладов. – Санкт-Петербург, 2019. – С. 202.
32. Гилева, О.Г. Показатели липидного и углеводного обмена в крови крыс в условиях различных моделей метаболического синдрома / О.Г. Гилева //

- Биология ва тиббиёт муаммолари. Материалы 73–й научно-практической конференции студентов-медиков и молодых ученых с международным участием «Актуальные проблемы современной медицины». – 2019. – Т. 108, №1.1. - С. 371.
33. Гилева, О.Г. Содержание ламинина в сыворотке крови крыс в условиях высокожировой диеты при коррекции сулодексидом / О.Г. Гилева, Е.Г. Бутолин, М.В. Терещенко // Бюллетень сибирской медицины. – 2022. – Т. 21, №1. – С. 21-27.
34. Гилева, О.Г. Содержание фибронектина в крови и печени крыс при иммобилизационном стрессе на фоне высокофруктозной диеты / О.Г. Гилева, Е.Г. Бутолин, М.В. Терещенко // Биология ва тиббиёт муаммолари. – 2021. – Т. 132, №6. – С. 169-173.
35. Гилева, О.Г. Содержание фибронектина в крови крыс в условиях высокофруктозной диеты / О.Г. Гилева, Е.Г. Бутолин, Н.Г. Наумова // Сборник научных трудов Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Медицинская биохимия – от фундаментальных исследований к клинической практике. Традиции и перспективы», посвященной 90-летию профессоров А.Ш. Бышевского и Р.И. Лившица. – Тюмень, 2019. – С. 26-29.
36. Гистология, эмбриология, цитология / Ю.И. Афанасьев, Н.А. Юрина, Е.Ф. Котовский [и др.]; под ред. Ю.И. Афанасьева, Н.А. Юриной. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2016. – 800с.
37. Голивец, Т.П. Инсулинорезистентность как предиктор полиморбидности. Патогенетическая терапия (обзор литературы) / Т.П. Голивец, С.В. Ликризон, Д.Г. Дубоносова // Актуальные проблемы медицины. – 2022. – Т. 45, № 1. – С. 5-19.
38. Гржибовский, А.М. Сравнение количественных данных трех и более независимых выборок с использованием программного обеспечения Statistica и SPSS: параметрические и непараметрические критерии / А.М.

- Гржибовский, С.В. Иванов, М.А. Горбатова // Наука и здравоохранение. – 2016. – № 4. – С. 5-37.
39. Гунин, А.Г. Гистология в таблицах и схемах / А.Г. Гунин. – М.: Практическая медицина, 2017. – 288 с.
40. Демьяненко, И.А. Функциональная морфология жировой ткани и ее роль в формировании метаболического синдрома / И.А. Демьяненко, А.В. Ткач // Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины. – 2021. – Т.11, №1. – С. 51-60.
41. Длительная терапия сулодексидом как профилактика поздних осложнений сахарного диабета / Г.М. Панюшкина, Р.В. Авдеев, О.В. Судаков, Т.П. Кучковская // Системный анализ и управление в биомедицинских системах. – 2014. – Т. 13, №1. – С. 226-230.
42. Долгов, В.В. Клиническая лабораторная диагностика: в 2-х томах. Т.1, Т.2 / В.В. Долгов. – М.: Лабдиаг, 2018. – 624с.
43. Дьяков, Д.А. Оксидативный стресс и система протеолиза при сахарном диабете 2 типа / Д.А. Дьяков, О.Е. Акбашева // Сахарный диабет. – 2022. – Т. 25, № 1. – С. 14-20.
44. Егоров, В.В. Основы биомембранологии: Учебное пособие для вузов / В.В. Егоров. – Санкт-Петербург: Лань, 2022. – 128с.
45. Елисеев, В.Г. Соединительная ткань / В.Г. Елисеев. – М.: Медгиз, 1961. – 416 с.
46. Жигулина, В.В. Биохимический ответ организма на стресс (обзор литературы) / В.В. Жигулина // Верхневолжский медицинский журнал. – 2014. – Т. 12, №4. – С. 25-30.
47. Жмайлова, С.В. Изменения фибриллярных компонентов внеклеточного матрикса брюшного отдела аорты при моделировании различных вариантов хронического стресса в эксперименте / С. В. Жмайлова, В. Р. Вебер, М.П. Рубанова [и др.] // Сердце: журнал для практикующих врачей. – 2015. – Т. 14, № 4 (84). – С. 242-247.
48. Занозина, О. В. Свободно-радикальное окисление при сахарном диабете 2-го типа: источники образования, составляющие, патогенетические механизмы

- токсичности / О.В. Занозина, Н.Н. Боровков, Т.Г. Щербатюк // *Соврем. технол. мед.* – 2010. – №3. – С. 104-112.
49. Игнатенко, И.А. Функция сосудистого эндотелия у больных генетически индуцированным метаболическим синдромом / Г.А. Игнатенко, И.В. Мухин, К.А. Ступакова // *Вестник гигиены и эпидемиологии.* – 2020. – Т. 24, №2. – С. 171-175.
50. Изменение обмена биополимеров соединительной ткани у крыс при экспериментальном сахарном диабете / Е.Г. Бутолин, О.В. Данилова, А.И. Глазырин, И.И. Мосягин // *Материалы межрегиональной научно-практической конференции, посвященной 85-летию Самарского государственного медицинского университета.* – Самара, 2005. – С. 63-65.
51. Изменения компонентов соединительной ткани и С-реактивного белка при стрессах разной модальности / Е.В. Елисеева, Н.Н. Васильева, Т.С. Воронцова, Л.С. Исакова // *Здоровье, демография, экология финно-угорских народов.* – 2017. – №3. – С. 24-26.
52. Иммуноферментный анализ (ифа) в клинической лабораторной диагностике. Общие принципы / К.В. Шалепо, Е.В. Спасибова, О.В. Будиловская [и др.]. - Санкт-Петербург: Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет, 2018. – 24 с.
53. Индивидуально-типологические особенности реагирования лабораторных крыс на многокомпонентный стресс / А.А. Гостюхина, Т.А. Замощина, А.В. Прокопова, К.В. Зайцев // *Современные вопросы биомедицины.* – 2022. – Т. 6, №2. – С. 47-55.
54. Капустин, Р.В. Оксидативный стресс у беременных с сахарным диабетом / Р.В. Капустин, О.Н. Аржанова, А.В. Тиселько // *Сахарный диабет.* – 2017. – Т. 20, №6. – С. 461-471.
55. Карпин, В. А. Метаболический синдром как геронтологическая проблема (обзор литературы) / В. А. Карпин // *Успехи геронтологии.* – 2020. – Т. 33, № 3. – С. 479-487.

56. Карякина, Е.В. Структурно-метаболические особенности суставных тканей в условиях дегенеративной деструкции и ревматоидного воспаления / Е.В. Карякина, Е.В. Гладкова, Д.М. Пучиньян // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. – 2019. – Т. 105, № 8. – С. 989-1001.
57. Клиническая морфология печени: дистрофии / В.М. Цыркунов, Н.И. Прокопчик, В.П. Андреев, Р.И. Кравчук // Гепатология и гастроэнтерология. – 2017. – №2. – С. 140-151.
58. Клиническая морфология печени: фиброз / В.М. Цыркунов, Н.И. Прокопчик, В.П. Андреев [и др.] // Гепатология и гастроэнтерология. – 2018. – №1. – С. 39-51.
59. Козлова, Л.В. Клиническая эффективность коррекции метаболических нарушений у больных ишемической болезнью сердца на фоне диабетической нефропатии с применением гликозаминогликанов / Козлова Л. В., Хохлов Р. А. // Архивъ внутренней медицины. – 2012. – №4. – С. 28-33.
60. Кольман, Я. Наглядная биохимия. Перевод с английского Т.П. Мосоловой / Я. Кольман, К.Г. Рём. – М.: Лаборатория знаний, 2019. – 514 с.
61. Комарова, О.Н. Взаимосвязь стресса, иммунитета и кишечной микробиоты / О.Н. Комарова, А.И. Хавкин // Педиатрическая фармакология. – 2020. – Т. 17, №1. – С. 18-24.
62. Комов, В. П. Биохимия. В 2 ч. Часть 2: учебник для академического бакалавриата / В. П. Комов, В. Н. Шведова; под общ. ред. В. П. Комова. – 4-е изд. – М.: Издательство Юрайт, 2020. – 315 с.
63. Компоненты внеклеточного матрикса в восстановлении поврежденных тканей: биохимические взаимодействия и протективный эффект / К.И. Мелконян, А.О. Бирюкова, Н.Н. Улитина [и др.] // Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины. – 2019. – Т. 9, № 4. – С. 55-62.
64. Кондашевская, М.В. Гепарин тучных клеток - новые сведения о старом компоненте (обзор литературы) / М.В. Кондашевская // Вестник Российской академии медицинских наук. – 2021. – Т. 76, № 2. – С. 149-158.

65. Коплик, Е.В. Метод определения критерия устойчивости крыс к эмоциональному стрессу / Е.В. Коплик // Вестник новых медицинских технологий. – 2002. – Т. 9, №1. – С. 16-18.
66. Коррекция пептидными препаратами эндотелиальной дисфункции при сахарном диабете / А.А. Елагина, Ю.Д. Ляшев, Е.Б. Артющкова [и др.] // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2020. – Т.83, №11. – С. 12-15.
67. Коррекция эндотелиальной дисфункции в рамках прегравидарной подготовки пациенток с метаболическим синдромом и синдромом поликистозных яичников: мультидисциплинарный подход / И.А. Лапина, Ю.Э. Доброхотова, В.В. Таранов // Тромбоз, гемостаз и реология. – 2022. – № 3. – С. 90-98.
68. Криштоп, В.В. Влияние физической нагрузки на окислительный стресс при гипоперфузии головного мозга у крыс с различными когнитивными способностями / В.В. Криштоп, Т.А. Румянцева, В.Г. Никонорова // Современные проблемы науки и образования. – 2021. – № 4. – С. 82.
69. Кузьменко, Е.В. Современные представления о проявлениях механизмов психоэмоционального стресса / Е.В. Кузьменко // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2013. – Т. 26 (65), № 2. – С. 95-106.
70. Лавренова, Е.А. Инсулинорезистентность при ожирении: причины и последствия / Е.А. Лавренова, О.М. Драпкина // Ожирение и метаболизм. – 2020. – Т. 17, №1. – С. 48-55.
71. Лещенко, Д.В. Диетически индуцированные животные модели метаболического синдрома / Д.В. Лещенко, Н.В. Костюк // Верхневолжский медицинский журнал. – 2015. – Т. 14, № 2. – С. 34-39.
72. Линейные и гендерные различия в биохимических показателях и показателях обеспеченности жирорастворимыми витаминами у крыс на *in vivo* модели метаболического синдрома / С.А. Апрятин, К.В. Мжельская, А.С. Балакина [и др.] // Вопросы питания. – 2018. – Т. 87, № 1. – С. 51-60.

73. Медведев, И.Н. Динамика нарушений внутрисосудистой активности тромбоцитов у крыс в ходе формирования метаболического синдрома с помощью фруктозной модели / И.Н. Медведев // Вопросы питания. – 2016. – Т. 85, №1. – С. 42-46.
74. Меерсон, Ф.З. Патогенез и предупреждение стрессорных повреждений сердца / Ф.З. Меерсон. – М.: Медицина, 1984. – 268 с.
75. Межвидовые различия поведенческих реакций и нейромоторики лабораторных грызунов, получающих рационы с легкоусвояемыми углеводами / С.А. Апрятин, В.А. Шипелин, Ю.С. Сидорова [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2018. – Т. 165, №1. – С. 9-14.
76. Мерозин-дефицитная мышечная дистрофия: патогенез, клинические проявления и стратегии терапии / А.В. Монахова, Д.В. Влодавец, Н.Н. Заваденко [и др.] // Неврологический журнал им. Бадаляна. – 2020. – №3. – С. 159-168.
77. Метаболический синдром / под ред. чл.-корр. РАМН Г.Е. Ройтберг. – М.: Мед-пресс-информ, 2007. – 224с.
78. Методические подходы к оценке агрегации и поверхностных свойств тромбоцитов и эритроцитов / И.Н. Медведев, С.Ю. Завалишина, Е.Г. Краснова, Н.В. Кутафина // Фундаментальные исследования. – 2014. – №10. – С. 117-120.
79. Мисникова, И.В. Нарушения углеводного обмена в рамках метаболического синдрома: диагностика и лечение / И.В. Мисникова // Поликлиника. – 2016. – №1. – С. 17-20.
80. Михайленко, В.А. Неонатальная воспалительная боль, когнитивная и стресс-реактивная функции у взрослых самцов и самок крыс / В.А. Михайленко, И.П. Буткевич, Е.А. Вершинина // Интегративная физиология. – 2022. – Т. 3, № 1. – С. 69-79.
81. Могильницкая, Л.А. Содержание фибронектина в сыворотке крови больных сахарным диабетом 1-го типа с микроангиопатиями, болеющих с детства, и у

- лиц с ожирением / Л.А. Могильницкая // Проблемы эндокринологии. – 2015. – №1. – С. 36-40.
82. Модель метаболического синдрома, вызванная кормлением фруктозой: патогенетические взаимосвязи обменных нарушений / М.В. Решетняк, В.Н. Хирманов, Н.Н. Зыбина [и др.] // Медицинский академический журнал. – 2011. – Т. 11, № 3. – С. 23-27.
83. Модуляция активности различных синтаз оксида азота в качестве подхода к терапии эндотелиальной дисфункции / Д.В. Куркин, Е.Е. Абросимова, Д.А. Бакулин [и др.] // Фармация и фармакология. – 2022. – Т. 10, № 2. – С. 130-153.
84. Молекулярные аспекты прогрессирования фиброза печени алкогольной этиологии / Я.В. Киселева, Ю.О. Жариков, Р.В. Масленников [и др.] // Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2020. – №2. – С.288-293.
85. Молекулярные факторы, ассоциированные с регрессом фиброза печени алкогольной этиологии / Я.В. Киселева, Ю.О. Жариков, Р.В. Масленников [и др.] // Терапевтический архив. – 2021. – №2. – С. 204-208.
86. Морфометрический анализ межклеточного вещества гипертрофических рубцов на фоне противорубцового лечения / С.В. Минаев, А.Н. Григорова, О.В. Владимирова [и др.] // Российский вестник детской хирургии, анестезиологии и реаниматологии. – 2021. – №1. – С. 39-46.
87. Морфофункциональные изменения в надпочечниках крыс в условиях экспериментальной модели иммобилизационного стресса / Ю.В. Полина, Л.И. Наумова, Т.А. Шишкина, Е.Б. Родзаевская // Forcipe. – 2020. – Т. 3, № 2. – С. 32-35.
88. Мустафаева, А.Г. Взаимосвязь эндотелиальной дисфункции и развития осложнений метаболического синдрома / А.Г. Мустафаева // Казанский медицинский журнал. – 2018. – Т. 99, №5. – С. 784–791.
89. Неалкогольная жировая болезнь печени как новая компонента метаболического синдрома в свете современных методов диагностики / Н.Л. Денисов, В.Б. Гриневич, Е.В. Чернецова, Л.А. Корноухова [и др.] // Вестник

- Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова. – 2017. – Т.9. – №1. – С. 34-41.
90. Никонорова, В.Г. Грануляционная ткань как разновидность соединительных тканей (обзор) / В.Г. Никонорова, В.В. Криштоп, Т.А. Румянцева // Журнал медико-биологических исследований. – 2022. – №2. – С. 167-179.
91. Новикова, Е.В. Стресс: признаки, методы профилактики и коррекции / Е.В. Новикова // Вестник Донецкого национального университета. Серия Д: Филология и психология. – 2021. – № 4. – С. 129-140.
92. Оберган, Т.Ю. Исследование параметров гемостаза, липидного и углеводного обмена у крыс с модифицированной моделью экспериментального метаболического синдрома / Т.Ю. Оберган, М.Е. Григорьева // Современ. технол. мед. – 2016. – №4. – С. 303-305.
93. Ожирение / И.И. Дедов, Н.Г. Мокрышева, Г.А. Мельниченко [и др.] // Consilium Medicum. – 2021. – Т. 23, №4. – С. 311-325.
94. Окислительный стресс и эндогенная интоксикация у онкологических больных / М.М. Добровольская, Г.Н. Зубрихина, В.Н. Блиндарь, А.В. Сытов // Клиническая лабораторная диагностика. – 2021. – Т. 66, № 7. – С. 401-406.
95. Осложнения беременности у женщин с метаболическим синдромом / О.В. Папышева, Г.А. Котайш, А.А. Оразмурадов [и др.] // Акушерство и гинекология: Новости. Мнения. Обучения. – 2018. – Т.6, № 3, приложение. – С. 18-22.
96. Относительные показатели в оценке состояния паренхимы и соединительной ткани печени при различных экспериментальных условиях / А.А. Косых, В.А. Кудрявцев, В.А. Козвонин, Ю.В. Кудрявцева // Вятский медицинский вестник. – 2010. – №3. – С. 28-32.
97. Оценка белково-синтетической функции соединительной ткани у крыс в эксперименте / Н.Ю. Кононова, Т.Е. Чернышова, Е.Г. Бутолин, О.В. Данилова // Здоровье, демография, экология финно-угорских народов. – 2012. – №2. – С. 38-40.

98. Оценка показателей углеводного и липидного обмена у крыс в зависимости от вида высококалорийного питания / О.Г. Гилева, Е.Г. Бутолин, М.В. Терещенко, В.Г. Иванов // Ожирение и метаболизм. – 2022. – Т.19, №1. – С. 47-52.
99. Павлова, З.Ш. Биохимические механизмы развития неалкогольной болезни печени под воздействием фруктозы / З.Ш. Павлова, И.И. Голодников, А.А. Камалов // Технологии живых систем. – 2018. – Т. 15, № 4. – С. 18-27.
100. Панькова, М.Н. Дисфункциональные изменения брыжеечных артерий в ранние сроки ожирения крыс при высокожировой диете / М.Н. Панькова // Ожирение и метаболизм. – 2022. – Т. 19, №2. – С. 158-165.
101. Панюшкина, Г.М. Эффективность применения сулодексида при сахарном диабете типа 2 / Г.М. Панюшкина, Э.В. Минаков, О. В. Судаков // Врач. – 2012. – №6. – С. 34-36.
102. Патогенез инсулинорезистентности: клиническая роль церамидов с различной длиной ацильной цепи / Ю.Г. Самойлова, Д.И. Кузьменко, О.А. Олейник [и др.] // Современные проблемы науки и образования. – 2021. – № 6. – С. 200.
103. Перминова, О.В. Содержание углеводсодержащих биополимеров миокарда при введении сулодексида в условиях иммобилизационного стресса / О.В. Перминова // Проблемы геронтологии и гериатрии. Материалы третьей региональной научно-практической конференции Северо-западного федерального округа в рамках второго Международного северного социально-экономического конгресса «Культурная и природная палитра северных территорий России», Сыктывкар. – 2006. – С. 89-90.
104. Печерина, Т.Б. Биомаркеры фиброза миокарда и их генетическое регулирование у пациентов с сердечной недостаточностью / Т.Б. Печерина, А.Г. Кутихин // Российский кардиологический журнал. – 2020. – Т. 25, № 10. – С. 139-144.
105. 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. – № 3. – С. 221-230.
106. Порочный круг взаимосвязи перекисного окисления липидов и окислительной модификации белков у больных сахарным диабетом 2-го типа / О.В. Занозина, Ю.А. Сорокина, Н.Н. Боровков, Т.Г. Щербатюк // Медицинский альманах. – 2013. – Т. 30, № 6. – С. 167-170.
107. Последовательность вовлечения белковых компонентов соединительной ткани в аутоиммунное воспаление при склеродермическом процессе / И.П. Гонтарь, О.И. Емельянова, О.А. Русанова [и др.] // Современные проблемы науки и образования. – 2019. – № 5.
108. Потехина, Ю.П. Роль соединительной ткани в организме / Ю.П. Потехина // Российский остеопатический журнал. – 2015. – Т. 30-31, № 3-4. – С. 92-104.
109. Потехина, Ю.П. Структура и функции коллагена / Ю.П. Потехина // Российский остеопатический журнал. – 2016. – № 1-2. – С. 87-99.
110. Протасова, С.В. Состояние коры надпочечников и обмен гликозаминогликанов печени крыс при длительном иммобилизационном стрессе / С.В. Протасова, Е.Г. Бутолин // Морфологические ведомости. – 2008. – № 3-4. – С. 199-200.
111. Распространенность и биомаркеры метаболического синдрома / О.Ю. Папыш, М.В. Антонюк, Т.А. Кантур [и др.] // Ожирение и метаболизм. – 2021. – Т. 18, № 3. – С. 302-312.
112. Роль компонентов внеклеточного матрикса скелетной мышечной ткани в миогенезе / Т.В. Ступникова, И.И. Еремин, В.Л. Зорин [и др.] // Гены и клетки. – 2018. - №4. – С. 17-23.
113. Роль окислительного стресса в патогенезе социально значимых заболеваний человека и пути его медикаментозной коррекции / Ю.В. Олефир, Б.К. Романов, В.Г. Кукес [и др.] // Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2021. – Т. 16, № 4. – С. 450-455.

114. Самотруева, М.А. Сахарный диабет: особенности экспериментального моделирования / М.А. Самотруева, М.У. Сергалиева // Астраханский медицинский журнал. – 2019. – №3. – С. 45-57.
115. Северин, Е.С. Биохимия / под ред. Е.С. Северина. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2020. – 768с.
116. Селиванова, Г.Б. Неалкогольная жировая болезнь печени и сердечно-сосудистая коморбидность как единые звенья патогенеза метаболического синдрома / Селиванова Г.Б., Потешкина Н.Г., Ибрагимова А.М. // Лечебное дело. – 2021. – № 2. – С. 49-58.
117. Семченко, В.В. Гистологическая техника (учебное пособие) / В.В. Семченко, С.А. Барашкова, В.Н. Артемьев. – Омск: Омская медицинская академия, 2002. – 113с.
118. Серов, В. В. Морфофункциональная характеристика соединительной ткани при эмоциональном стрессе у крыс Август и Вистар / В.В. Серов, И.В. Томилина, К.В. Судаков // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1995. – Т.119, №6. – С 571-573.
119. Серов, В.В. Соединительная ткань (функциональная морфология и общая патология) / В.В. Серов, А.Б. Шехтер. – М.: Медицина, 1981. – 312 с.
120. Слуцкий, Л. И. Биохимия нормальной и патологически измененной соединительной ткани / Л.И. Слуцкий. – Москва: Медицина, 1969. – 375с.
121. Современное представление о фиброзе печени и подходам к его лечению у больных неалкогольным стеатогепатитом / Л.Б. Лазебник, В.Г. Радченко, П.В. Селиверстов [и др.] // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2017. – Т. 148, №12. – С. 98-109.
122. Современные проблемы патогенеза дисплазии соединительной ткани у детей / Н.С. Черкасов, Л.А. Луценко, М.Я. Ледяев [и др.] // Вестник ВолГМУ. – 2020. – Т. 76, № 4. – С. 16-23.
123. Соединительная ткань / В.И. Старостин, Н.Г. Хрушов, В.В. Виноградов [и др.] // Большая медицинская энциклопедия. – 1984. –Т. 23. – С. 481-486.

124. Соединительная ткань и проблемы ее патологических состояний / В.А. Шкурупий, Л.Б. Ким, А.В. Ковнер, Л.А. Черданцева // Бюллетень сибирской медицины. – 2017. – Т. 16, № 4. – С. 75-85.
125. Соколова, И.Б. Влияние метаболических нарушений и стрептозотоцинового диабета на церебральную циркуляцию у крыс, содержащихся на высокожировой диете / И.Б. Соколова // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. – 2022. – Т. 108, № 6. – С. 762-770.
126. Солдатова, О.А. Формирование антиагрегационных дисфункций сосудистой стенки у крыс во фруктозной модели метаболического синдрома / О.А. Солдатова // Фундаментальные исследования. – 2015. – №1. – С. 380-383.
127. Солин, А.В. Влияние опиоидных пептидов на морфологические изменения в печени крыс при длительном стрессе / А.В. Солин, Ю.Д. Ляшев // Научно-практический журнал. – 2016. – Т. 19, № 4. – С. 132-137.
128. Солин, А.В. Влияние регуляторных пептидов на стрессиндуцированные изменения липидного обмена у экспериментальных животных / А.В. Солин, В.И. Корозин, Ю.Д. Ляшев // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2013. – Т. 155, № 3. – С. 299-301.
129. Сравнительная характеристика *in vivo* моделей гиперлипидемии у крыс линии Вистар и мышей линии C57Bl/6 / С.А. Апрятин, К.В. Мжельская, Н.В. Трусов [и др.] // Вопросы питания. – 2016. – Т. 85, №6. – С. 14-22.
130. Сравнительное исследование использования высококалорийных диет, обогащенных разным количеством липидов, для моделирования метаболического синдрома / М.А. Ковалева, Я.А. Гушин, М.Н. Макарова, В.Г. Макаров // Лабораторные животные для научных исследований. – 2019. – №1. – С. 55-65.
131. Стасевич, К. Наука крыс / К. Стасевич // Наука и жизнь. – 2021. – №6.
132. Сулодексид как средство защиты эндотелия и подавления тромбоза при COVID-19 / А.М. Мелькумянц, Л.И. Бурячковская, Н.В. Ломакин [и др.] // Атеротромбоз. – 2021. – Т. 11, №2. – С. 6-17.

133. Сурков, А.Н. Неинвазивная диагностика фиброза и цирроза печени при хронических вирусных гепатитах (обзор литературы) / А.Н. Сурков, Л.С. Намазова-Баранова, А.К. Геворкян // Клиническая лабораторная диагностика. – 2016. – № 4. – С. 209-214.
134. Суховских, А.В. Протеогликаны в нормальной физиологии и канцерогенезе / Суховских А.В., Григорьева Э.В. // Успехи молекулярной онкологии. – 2018. – Т. 5, № 1. – С. 8-25.
135. Сучкова, Е.В. Неалкогольная жировая болезнь печени: клинические и лабораторно-инструментальные особенности функции печени и желчевыводящих путей, эффективность комбинированной терапии: автореф. дис. на соиск. учен. степ. докт. наук / Е.В. Сучкова – Ижевск, 2017. – 43с.
136. Сяоян, Чу. Метаболический синдром: некоторые итоги и перспективы решения проблемы / Чу Сяоян, О.Ю. Киргизова // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2016. – Т. 1, № 5 (111). – С. 187-194.
137. Тарасевич, А.Ф. Энергообразование и возраст. Хроническая тканевая гипоксия как причина развития оксидативного стресса / А.Ф. Тарасевич // Вестник восстановительной медицины. – 2018. – Т. 83, №1 – С. 41-49.
138. Терещенко, М.В. Сравнительная характеристика показателей липидного и углеводного обменов в сыворотке крови крыс при высокожировой и фруктозообогатенной диетах / М.В. Терещенко, Е.Г. Бутолин, О.Г. Гилева // Биология ва тиббиёт муаммолари. – 2021. – Т. 132, №6. – С. 194-199.
139. Тигранян, Р. А. Метаболические аспекты проблемы стресса в космическом полете / Р. А. Тигранян // Проблемы космической биологии. – М.: Наука, 1985. – Т. 52. – 223 с.
140. Тигранян, Р.А. Стресс и его значение для организма / Р.А. Тигранян. – М.: Наука, 1988. – 176 с.
141. Фаллер, Д. М. Молекулярная биология клетки / Д.М. Фаллер, Д. Шилдс – М.: Бином, 2017. – 256с.

142. Федоров, П.Н. Лабораторные маркеры фиброза печени / П.Н. Федоров, Н.А. Беляков // Медицинский академический журнал. – 2014. – Т. 14, № 1. – С. 16-23.
143. Феномен роли коллагена IV типа и матриксной металлопротеиназы 9 типа в ремоделировании миокарда левого желудочка при ишемической болезни сердца / М.А. Попов, Д.В. Шумаков, Д.И. Зыбин [и др.] // Российский кардиологический журнал. – 2019. – №8. – С.83-87.
144. Фибронектин: структура, функции, клиническая значимость (обзор) / С.А. Васильев, Л.А. Горгидзе, Е.Е. Ефремов [и др.] // Атеротромбоз. – 2022. – №1. – С. 138-158.
145. Халимова, Д. Р. Обмен биополимеров соединительной ткани при воспалении органов малого таза у девочек-подростков / Д.Р. Халимова // Здоровье, демография, экология финно-угорских народов. – 2017. – №3. – С. 38-41.
146. Хапалюк, А.В. Механизмы атерогенеза и статины / А.В. Хапалюк // Лечебное дело. – 2013. – Т. 30, № 2. – С. 31-40.
147. Хисматуллина, З.Н. Биохимические изменения соединительной ткани при старении и других патологических процессах / З.Н. Хисматуллина // Вестник Казанского технологического университета. – 2012. – №8. – С. 237-243.
148. Шараев, П.Н. Соединительная ткань в детском возрасте / П.Н. Шараев, Н.С. Стрелков, Р.Р. Кильдиярова, Е.Г. Бутолин, А.М. Ожегов. – Ижевск, 2005. – 152 с.
149. Штыркова, Е.В. Фибробласты дермы. Источники дифференцировки, пролиферативная активность и методы ее стимуляции / Е.В. Штыркова // Вестник медицинского института «Реавиз»: реабилитация, врач и здоровье. – 2017. – №6 (30). – С. 43-50.
150. Эбзеева, Е.Ю. Стресс и стресс-индуцированные расстройства / Е.Ю. Эбзеева, О.А. Полякова // Медицинский совет. – 2022. –Т. 16, № 2. – С. 127-133.
151. Экспериментальная модель метаболического синдрома, сопровождающегося неалкогольной жировой болезнью печени, на гипертензивных крысах НИСАГ с использованием фруктозной нагрузки / Е.Н. Пивоварова, М.А.

- Борисова, А.Л. Маркель // Письма в Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2020. – Т.6, №1. – С. 10-14.
152. Экспериментальная модель метаболического синдрома у крыс на основе высокожировой и высокоуглеводной диеты / Ю.Г. Бирулина, В.В. Иванов, Е.Е. Буйко [и др.] // Бюллетень сибирской медицины. – 2020. – Т. 19, № 4. – С. 14-20.
153. Экспериментальные модели алиментарного ожирения у крыс / В.К. Байрашева, И.Ю. Пчелин, А.Э. Егорова [и др.] // *Juvenis scientia*. – 2019. – № 9-10. – С. 8-13.
154. Эндотелий *in vivo* и *in vitro*. Часть 1: гистогенез, структура, цитофизиология и ключевые маркеры / Е.А. Стрельникова, П.Ю. Трушкина, И.Ю. Суров [и др.] // Наука молодых – *Eruditio Juvenium*. – 2019. – №3. – С. 450-465.
155. Эффект фибронектина на миграционный потенциал клеток эндотелиальной линии EA.Hy926 / А.П. Лыков, Н.А. Бондаренко, И.И. Ким [и др.] // Бюллетень СО РАМН. – 2014. – Т. 34, № 4. – С. 5-10.
156. Юзефович, Н. А. Особенности экспрессии ламинина в средней оболочке стенки аорты в норме и при аневризме брюшного отдела аорты / Н.А. Юзефович // Военная медицина. – 2017. – № 3. – С. 130-136.
157. Юпатов, Е.Ю. Современное понимание функции и дисфункции эндотелия сосудов. Обзор литературы / Е.Ю. Юпатов, Т.Е. Курманбаев, Ю.Л. Тимошкова // Русский медицинский журнал. – 2022. – Т.30, №3. – С. 20-23.
158. 2011 ACCF/AHA Focused Update Incorporated Into the ACC/A173 2007 Guidelines for the Management of Patients With Unstable Angina/Non-ST-Elevation Myocardial Infarction: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines / J.L. Anderson, C.D. Adams, E.M. Antman [et al.] // *Circulation*. – 2011. – Vol. 123, № 18. – P. e426-579.
159. A simplified laminin nomenclature / M. Aumailley, L. Bruckner-Tuderman, W.G. Carter [et al.] // *Matrix Biol*. – 2005. – Vol. 24, № 5. – P. 326-332.

160. An immunofluorescence study on VEGF and extracellular matrix proteins in human periodontal ligament during tooth movement / A. Militi, G. Cutroneo, A. Favalaro [et al.] // *Heliyon*. – 2019. – Vol. 5, № 10. – P. e02572.
161. Anoikis: an emerging hallmark in health and diseases / M.L. Taddei, E. Giannoni, T. Fiaschi, P. Chiarugi // *J. Pathol.* – 2012. – Vol. 226, №2. – P. 380-393.
162. Aumailley, M. The laminin family / M. Aumailley // *Cell. Adh. Migr.* – 2013. – Vol. 7, № 1. – P. 48-55.
163. Barros, D. Laminin-Inspired Cell-Instructive Microenvironments for Neural Stem Cells / D. Barros, I.F. Amaral, A.P. Pêgo // *Biomacromolecules*. – 2020. – Vol. 21, № 2. – P. 276-293.
164. Carroll, B.J. Sulodexide in venous disease / B.J. Carroll, G. Piazza, S.Z. Goldhaber // *J. Thromb. Haemost.* – 2019. – Vol. 17, № 1. – P. 31-38.
165. Chadt, A. Glucose transporters in adipose tissue, liver, and skeletal muscle in metabolic health and disease / A. Chadt, H. Al-Hasani // *Pflugers Arch.* – 2020. – Vol. 472, № 9. – P. 1273-1298.
166. Chen C. Laminins in osteogenic differentiation and pluripotency maintenance / C. Chen, Z. Jiang, G. Yang // *Differentiation*. – 2020. – Vol. 114. – P. 13-19.
167. Cloutier, G. Non-integrin laminin receptors in epithelia / G. Cloutier, A. Sallenbach-Morrisette, J.F. Beaulieu // *Tissue Cell*. – 2019. – Vol. 56. – P. 71-78.
168. Cojan-Minzat, B.O. Non-ischemic dilated cardiomyopathy and cardiac fibrosis / B.O. Cojan-Minzat, A. Zlibut, L. Agoston-Coldea // *Heart Fail. Rev.* – 2021. – Vol. 26, № 5. – P. 1081-1101.
169. Collagen Assembly at the Cell Surface: Dogmas Revisited / M. Musiime, J. Chang, U. Hansen [et al.] // *Cells*. – 2021. – Vol. 10, № 3. – P. 662.
170. Correlation between Serum Hyaluronic Acid with Steatosis, Non alcoholic Steatohepatitis and Fibrosis in Patients with Chronic Hepatitis C Virus Infection / H.S. Mahmoud, A.A.S. Ghweil, G.S. Osman [et al.] // *Trop. Gastroenterol.* – 2016. – Vol. 37, № 2. – P. 93-100.

171. Dalton, C.J. Fibronectin: Molecular Structure, Fibrillar Structure and Mechanochemical Signaling / C.J. Dalton, C.A. Lemmon // *Cells*. – 2021. – Vol. 10, № 9. – P. 2443.
172. Dean, J.W. Migration of gingival fibroblasts on fibronectin and laminin / J.W. Dean, J. A. Blankenship // *J. Periodontol.* – 1997. – Vol. 68, № 8. – P.750 -757.
173. Defining roles of specific reactive oxygen species (ROS) in cell biology and physiology / H. Sies, V.V. Belousov, N.S. Chandel [et al.] // *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* – 2022. – Vol. 23, № 7. – P. 499-515.
174. DiGiacomo, V. Looking into laminin receptor: critical discussion regarding the non-integrin 37/67-kDa laminin receptor/RPSA protein / V. DiGiacomo, D. Meruelo // *Biol. Rev. Camb. Philos. Soc.* – 2016. – Vol. 91, № 2. – P. 288-310.
175. Effect of low-calorie diet on steatohepatitis in rats with obesity and hyperlipidemia / J.G. Fan, L. Zhong, Z.J. Xu [et al.] // *World J. Gastroenterol.* – 2003. – № 9. – P. 2045-2049.
176. Effects of dietary fructose or glucose on triglyceride production and lipogenic enzyme activities in the liver of Wistar fatty rats, an animal model of NIDDM / T. Kazumi, H. Odaka, T. Hozumi [et al.] // *Endocr. J.* – 1997. – Vol. 44, № 2. – P. 239-245.
177. Eng, J.M. Diet-Induced Models of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease: Food for Thought on Sugar, Fat, and Cholesterol / J.M. Eng, J.L. Estall // *Cells*. – 2021. – Vol. 10, № 7. – P. 1805.
178. Extracellular matrix modifications in rat tissues of different ages. Correlations between elastin and collagen type I mRNA expression and lysyl-oxidase activity / D. Quaglino, C. Fornieri, L. Nanney, J. Davidson // *Matrix*. – 1993. – Vol. 13, № 6. – P. 481-490.
179. Fibronectin in cell adhesion and migration via N-glycosylation / C.T. Hsiao, H.W. Cheng, C.M. Huang [et al.] // *Oncotarget*. – 2017. – Vol. 8. – P. 70653-70668.
180. Forman, H.J. Targeting oxidative stress in disease: promise and limitations of antioxidant therapy / H.J. Forman, H. Zhang // *Nat. Rev. Drug. Discov.* – 2021. – Vol. 20, № 9. – P. 689-709.

181. Frangogiannis, N.G. The Extracellular Matrix in Ischemic and Nonischemic Heart Failure / N.G. Frangogiannis // *Circ. Res.* – 2019. – Vol. 125, № 1. – P. 117-146.
182. Fructose and hepatic insulin resistance / S. Softic, K.L. Stanhope, J. Boucher [et al.] // *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.* – 2020. – Vol. 57, № 5. – P. 308-322.
183. Fructose-induced fatty liver disease: hepatic effects of blood pressure and plasma triglyceride reduction / Z. Ackerman, M. Oron-Herman, M. Grozovski [et al.] // *Hypertension.* – 2005. – Vol. 45. – P. 1012-1018.
184. Gileva, O.G. The content of laminin in the blood of rats during the experimental metabolic syndrome / O.G. Gileva, E.G. Butolin // 6th International Conference «Modern Synthetic Methodologies for Creating Drugs and Functional Materials» (MOSM 2022). – Yekaterinburg, 2022. - P. 345.
185. Glycosaminoglycans, proteoglycans and sulodexide and the endothelium: biological roles and pharmacological effects / V. Masola, G. Zaza, M. Onisto [et al.] // *Int. Angiol.* – 2014. – Vol. 33, № 3. – P. 243-54.
186. Glycosaminoglycans: From Vascular Physiology to Tissue Engineering Applications / A.J. Lepedda, G. Nieddu, M. Formato [et al.] // *Front Chem.* – 2021. – Vol. 9. – P. 680836.
187. Gulevsky, A.K. Collagen: structure, metabolism, production and industrial application / A.K. Gulevsky, I.I. Shcheniavsky // *Biotechnol. Acta.* – 2020. – Vol. 3, № 5. – P. 42-61.
188. Heparin inhibits proinflammatory and promotes anti-inflammatory macrophage polarization under hyperglycemic stress / A. Abbadi, J. Loftis, A. Wang [et al.] // *J. Biol. Chem.* // 2020. – Vol. 295, № 15. – P. 4849-4857.
189. Hohenester, E. Structural biology of laminins / E. Hohenester // *Essays in biochemistry.* – 2019. – Vol. 63, №3. – P. 286-295.
190. Hyaluronic acid as a potential marker for assessment of fibrosis regression after direct acting antiviral drugs in chronic hepatitis C patients / E. Rewisha, T. Salman, O. Alhaddad [et al.] // *Clin. Exp. Hepatol.* – 2021. – Vol. 7, № 3. – P. 320-327.

191. Index serum hyaluronic acid independently and accurately predicts mortality in patients with liver disease / N. Plevris, R. Sinha, A.W. Hay [et al.] // *Aliment. Pharmacol. Ther.* – 2018. – Vol. 48, № 4. – P. 423-430.
192. Intestinal Fructose and Glucose Metabolism in Health and Disease / B. Merino, C.M. Fernández-Díaz, I. Cózar-Castellano, G. Perdomo // *Nutrients.* – 2019. – Vol. 12, № 1. – P. 94.
193. Jalali, M.M. Metabolic syndrome components and sudden sensorineural hearing loss: a case-control study / M.M. Jalali, M. NasimidoustAzgomi // *Eur. Arch. Otorhinolaryngol.* – 2020. – Vol. 24. – P. 12-17.
194. Klavert, J. Fibronectin in Fracture Healing: Biological Mechanisms and Regenerative Avenues / J. Klavert, B.C.J. van der Eerden // *Front. Bioeng. Biotechnol.* – 2021. – Vol. 16, № 9. – P. 663357.
195. Kondo, K. Mucopolysaccharides from chicken skin of three age groups / K. Kondo, N. Seno, K. Anno // *Biochem. Biophys. Acta.* – 1971. – Vol. 244, № 3. – P. 513-522.
196. Lee, S.H. Insulin Resistance: From Mechanisms to Therapeutic Strategies / S.H. Lee, S.Y. Park, C.S. Choi // *Diabetes Metab. J.* – 2022. – Vol. 46, № 1. – P. 15-37.
197. Lemańska-Perek, A. Fibronectin and its soluble EDA-FN isoform as biomarkers for inflammation and sepsis / A. Lemańska-Perek, B. Adamik // *Adv. Clin. Exp. Med.* – 2019. – Vol. 28, № 11. – P. 1561-1567.
198. Leonardi, B.F. Modeling Diet-Induced Metabolic Syndrome in Rodents / B.F. Leonardi, G. Gosmann, A.R. Zimmer // *Mol. Nutr. Food. Res.* – 2020. – Vol. 64, № 22. – P. e2000249.
199. Linda, T.T. The fructose-fed rat: a review on the mechanisms of fructose-induced insulin resistance and hypertension / T.T. Linda, G.Yu. Violet, H.McN. John // *Mol. Cell. Biochem.* – 2009. – Vol. 332. – P.145-159.
200. Ling, S. NETosis as a Pathogenic Factor for Heart Failure / S. Ling, J.W. Xu // *Oxid. Med. Cell. Longev.* – 2021. – Vol. 2021. – P. 6687096.

201. Lizuka, K. The Role of Carbohydrate Response Element Binding Protein in Intestinal and Hepatic Fructose Metabolism / K. Lizuka // *Nutrients*. – 2017. – Vol. 9, № 2. – P.181-196.
202. Lu, S. The evolution of the concept of stress and the framework of the stress system / S. Lu, F. Wei, G. Li // *Cell. Stress*. – 2021. – Vol. 5, № 6. – P. 76-85.
203. Maruhashi, T. Pathophysiological Association between Diabetes Mellitus and Endothelial Dysfunction / T. Maruhashi, Y. Higashi // *Antioxidants (Basel)*. – 2021. – Vol. 10, № 8. – P. 1306.
204. Matlin, K.S. Laminins in Epithelial Cell Polarization: Old Questions in Search of New Answers / K.S. Matlin, S.M. Myllymäki, A. Manninen // *Cold. Spring. Harb. Perspect. Biol.* – 2017. – Vol. 9, № 10. – P. a027920.
205. Maurer, L.M. Dynamic structure of plasma fibronectin / L.M. Maurer, W. Ma, D.F. Mosher // *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* – 2015. – Vol. 51, № 4. – P. 213-227.
206. Metabolic Syndrome: Updates on Pathophysiology and Management in 2021 / G. Fahed, L. Aoun, M. Bou Zerdan [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* – 2022. – Vol. 23, № 2. – P. 786.
207. Model of nonalcoholic steatohepatitis / C.S. Lieber, M.A. Leo, K.M. Mak [et al.] // *Am. J. of Clin. Nutr.* – 2004. – Vol. 79, №3. – P. 502-509.
208. Molecular mechanisms of dermal aging and antiaging approaches / J.W. Shin, S.H. Kwon, J.Y. Choi [et al.] // *J. Mol. Sci.* – 2019. – Vol. 20, №9. – P. 2126-2131.
209. Moore, J.X. Metabolic Syndrome Prevalence by Race/Ethnicity and Sex in the United States, National Health and Nutrition Examination Survey, 1988–2012 / J.X. Moore, N. Chaudhary, T. Akinyemiju // *Prev. Chronic. Dis.* – 2017. – Vol. 14. – P. 160287.
210. NAFLD and cardiovascular diseases: a clinical review / P. Kasper, A. Martin, S. Lang [et al.] // *Clin. Res. Cardiol.* – 2021. – Vol. 110, № 7. – P. 921-937.
211. New generation lipid emulsions prevent PNALD in chronic parenterally fed preterm pigs / H. Vlaardingerbroek, K. Ng, B. Stoll [et al.] // *J. Lipid. Res.* – 2014. – Vol. 55, № 3. – P. 466-77.

212. Patten, J. Fibronectin in development and wound healing / J. Patten, K. Wang // *Adv. Drug. Deliv. Rev.* – 2021. – Vol. 170. – P. 353-368.
213. Pozzi, A. The nature and biology of basement membranes / A. Pozzi, P.D. Yurchenco, R.V. Iozzo // *Matrix. Biol.* – 2017. – Vol. 57-58. – P. 1-11.
214. Prevalence of metabolic syndrome and metabolic syndrome components in young adults: A pooled analysis / Nolan PB, Carrick-Ranson G, Stinear JW. [et al.] // *Prev. Med. Rep.* – 2017. – Vol. 7. – P. 211-215.
215. Proline hydroxylation in collagen supports integrin binding by two distinct mechanisms / K. Sipila, K. Drushinin, P. Rappu [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 2018. – Vol. 293, №20. – P. 7645-7658.
216. Radioimmunoassay for type III procollagen peptide and its application to human liver disease / H. Rohde, L. Vargas, E. Hahn [et al.] // *Eur. J. Clin. Invest.* – 1979. – Vol. 9. – P. 451-459.
217. Rats fed fructose-enriched diet have characteristics of nonalcoholic hepatic steatosis / T. Kawasaki, K. Igarashi, T. Koeda [et al.] // *The journal of nutrition.* – 2009. – Vol. 139, № 11. – P. 2067-2071.
218. Reaven, G.M. Role of insulin resistance in human disease / G.M. Reaven // *Diabetes.* – 1988. – Vol. 37. – P. 1595-1607.
219. Selye, Y. Thymus and adrenal in the response of organism to injuries and intoxications / Y. Selye // *Brit. J. Exp. Pathol.* – 1936. – Vol. 17. – P. 234-248.
220. Singh, P. Assembly of Fibronectin Extracellular Matrix / P. Singh, C. Carraher, J.E. Schwarzbauer // *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* – 2010. – Vol. 26, №1. – P. 397-419.
221. Spahis, S. Metabolic Syndrome as a Multifaceted Risk Factor for Oxidative Stress / S. Spahis, J.M. Borys, E. Levy // *Antioxid. Redox. Signal.* – 2017. – Vol. 26, № 9. – P. 445-461.
222. Stanescu, V. Chemical studies on the human growth cartilage in fetuses and newborns / V. Stanescu, R. Stanescu, P. Maroteaux // *Biol. Neonate.* – 1973. – Vol. 23, № 5-6. – P. 432-445.

223. Suh, J.H. The glomerular basement membrane as a barrier to albumin / J.H. Suh, J.H. Miner // *Nat. Rev. Nephrol.* – 2013. – Vol. 9. – P. 470-477.
224. Sukiasyan, L. Fructose-Induced Alteration of the Heart and Vessels Homeostasis / L. Sukiasyan // *Curr. Probl. Cardiol.* – 2021. – Vol. 101013.
225. Sulodexide for Diabetic-Induced Disabilities: A Systematic Review and Meta-Analysis / A.A. Bignamini, A. Chebil, G. Gambaro, J. Matuška // *Adv Ther.* – 2021. – Vol. 38, № 3. – P.1483-1513.
226. Sulodexide improves pain-free walking distance in patients with lower extremity peripheral arterial disease: A systematic review and meta-analysis / A.V. Gaddi, F. Capello, O.F. Gheorghe-Fronea [et al.] // *JRSM Cardiovasc. Dis.* – 2020. – Vol. 9. – P.2048004020907002.
227. Sulodexide recovers endothelial function through reconstructing glycocalyx in the balloon-injury rat carotid artery model / T. Li, X. Liu, Z. Zhao [et al.] // *Oncotarget.* – 2017. – Vol. 8, № 53. – P. 91350-91361.
228. Tejchman, K. Biomarkers and Mechanisms of Oxidative Stress-Last 20 Years of Research with an Emphasis on Kidney Damage and Renal Transplantation / K. Tejchman, K. Kotfis, J. Sieńko // *Int. J. Mol. Sci.* – 2021. – Vol. 22, № 15. – P. 8010.
229. The Establishment of Metabolic Syndrome Model by Induction of Fructose Drinking Water in Male Wistar Rats / N. Mamikutty, Z.C. Thent, S.R. Sapri [et al.] // *Hindawi Publishing Corporation BioMed Research International.* – 2014. – Vol. 2014. – P. 1-8.
230. The inflammatory speech of fibroblasts / R. Schuster, J.S. Rockel, M. Kapoor, B. Hinz // *Immunol. Rev.* – 2021. – Vol. 302, № 1. – P. 126-146.
231. The interplay of fibroblasts, the extracellular matrix, and inflammation in scar formation / L. Moretti, J. Stalfort, T.H. Barker, D. Abebayehu // *J. Biol. Chem.* – 2022. – Vol. 298, № 2. – P. 101530.
232. The metabolic syndrome: useful concept or clinical tool? Report of a WHO expert consultation / R.K. Simmons, K.G. Alberti, E.A. Gale [et al.] // *Diabetologia.* – 2010. – Vol. 53, № 4. – P. 600-605.

233. The Role of Pro-fibrotic Myofibroblasts in Systemic Sclerosis: From Origin to Therapeutic Targeting / Romano E., Rosa I, Fioretto B.S. [et al.] // *Curr. Mol. Med.* – 2022. – Vol. 22, № 3. – P. 209-239.
234. Theocharis, A.D. The extracellular matrix as a multitasking player in disease / A.D. Theocharis, D. Manou, N.K. Karamanos // *FEBS J.* – 2019. – Vol. 286, № 15. – P. 2830-2869.
235. Torimoto, K. Type 2 Diabetes and Vascular Endothelial Dysfunction / K. Torimoto, Y. Okada, Y. Tanaka // *J. UOEH.* – 2018. – Vol. 40, № 1. – P. 65-75.
236. Tran, L.T. The fructose-fed rat: a review on the mechanisms of fructose-induced insulin resistance and hypertension / L.T. Tran, V.G. Yuen, J.H. McNeill // *Mol. Cell. Biochem.* – 2009. – Vol. 332, № 1-2. – P. 145-59.
237. Translational insights on developmental origins of metabolic syndrome: Focus on fructose consumption / W.C. Lee, K.L.H. Wu, S. Leu, Y.L. Tain // *Biomed. J.* – 2018. – Vol. 41, № 2. – P. 96-101.
238. Uysal, H. Role of glycosylation in biological function of fibronectins / H. Uysal // *Veterinary Medicine, Animal Studies.* – 2016. – Vol. 6, № 5. – P. 104-112.
239. Wallace, T.M. Use and abuse of HOMA modeling / T.M. Wallace, J.C. Levy, D.R. Matthews // *Diabetes Care.* – 2004. – Vol. 27, № 6. – P. 1487-1495.
240. Yao, Y. Laminin: loss-of-function studies / Y. Yao // *Cell. Mol. Life. Sci.* – 2017. – Vol. 74, № 6. – P. 1095-1115.