

**ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ****ИЗМЕНЕНИЕ МЕТАБОЛИЗМА ФУКОЗОСОДЕРЖАЩИХ БИОПОЛИМЕРОВ В ТКАНЯХ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА КРЫС ПРИ ИММОБИЛИЗАЦИОННОМ СТРЕССЕ***А.В. Оксужан\*, Е.Г. Бутолин, А.А. Брызгалина*

Ижевская государственная медицинская академия, 426034, Ижевск, ул. Коммунаров, 281; \*e-mail: artur30st@mail.ru

Рассмотрены особенности обмена фукогликопротеинов в сыворотке крови и тканях желудочно-кишечного тракта крыс в динамике экспериментального стресса на 21, 35, 60, 90 дни наблюдения. В сыворотке крови и в гомогенатах печени, желудка и тонкой кишки иммобилизованных крыс отмечены разнонаправленные изменения уровня фукозы и фукозидазной активности. Они проявляются в снижении количества общей фукозы в сыворотке крови и в печени крыс на фоне низкой активности фермента, разрушающего фукогликопротеины. Такие же изменения были выявлены в тканях желудка и тонкой кишки (кроме 35 дня опыта, где визуализировался рост фукозы и фукозидазы), что может свидетельствовать об изменении метаболизма в сторону анаболизма. Данные изменения коррелируют с ростом концентрации кортикостерона в сыворотке крови крыс.

**Ключевые слова:** иммобилизационный стресс; фукозосодержащие биополимеры; ткани печени, желудка, тонкой кишки**DOI:** 10.18097/BMCRM00214**ВВЕДЕНИЕ**

На сегодняшний день роль стресса как фактора этиологии и патогенеза нарушений различных функций организма человека представляет особый интерес для врачей-специалистов различных областей. В основе характерных повреждений, развивающихся в результате стрессорных воздействий, лежат вегетативные и гуморальные нарушения, которые выражаются в сдвигах в тканевом метаболизме [1]. Известно, что стресс стимулирует активацию гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы. В аденогипофизе на фоне повышенной выработки адренокортикотропного гормона резко снижается выделение соматотропного, тиреотропного, гонадотропного гормона, следствием которого являются понижение активности щитовидной, половых и других желез внутренней секреции, а также угнетение тимуса, селезенки и лимфоидной ткани. На почве угнетения центральных и периферических органов иммунитета снижается активность антигенчувствительных и эффекторных клеток. В крови повышается содержание нейтрофилов со сдвигом ядра влево, снижается количество эозинофилов, уменьшается число и активность лимфоцитов. В итоге развивается так называемый вторичный иммунодефицит [2]. Кроме того, гипертрофия надпочечников вызывает резкое повышение уровня глюкокортикоидных гормонов, угнетающих процессы пролиферации клеток и синтеза биополимеров соединительной ткани, являющейся важнейшим компонентом межклеточного матрикса, в том числе и желудочно-кишечного тракта [3, 4].

Защитные свойства слизистого секрета органов желудочно-кишечного тракта определяются наличием в его составе гликопротеинов [5]. Гликопротеины – это сложные белки, состоящие из 85% белков и 15% углеводов. Их углеводный компонент — это олигосахарид, состоящий 10-15 мономерных единиц (минорных моносахаридов), одним из которых является L-фукоза. На конце олигосахаридов

имеется еще одно производное моносахаридов: сиаловые кислоты (ацильные производные нейраминовой кислоты). При этом сиаловые кислоты в наибольшей степени обеспечивают гидрофильность и связывание воды к белкам, а остатки фукозы создают гидрофобные участки в молекуле. Последние могут обеспечить фиксацию гликопротеинов к гидрофобным участкам мембран эпителиоцитов желудка. Кроме того, фукоза может оказывать пребиотическое действие и поддерживает нормальную микрофлору желудочно-кишечного тракта [6, 7].

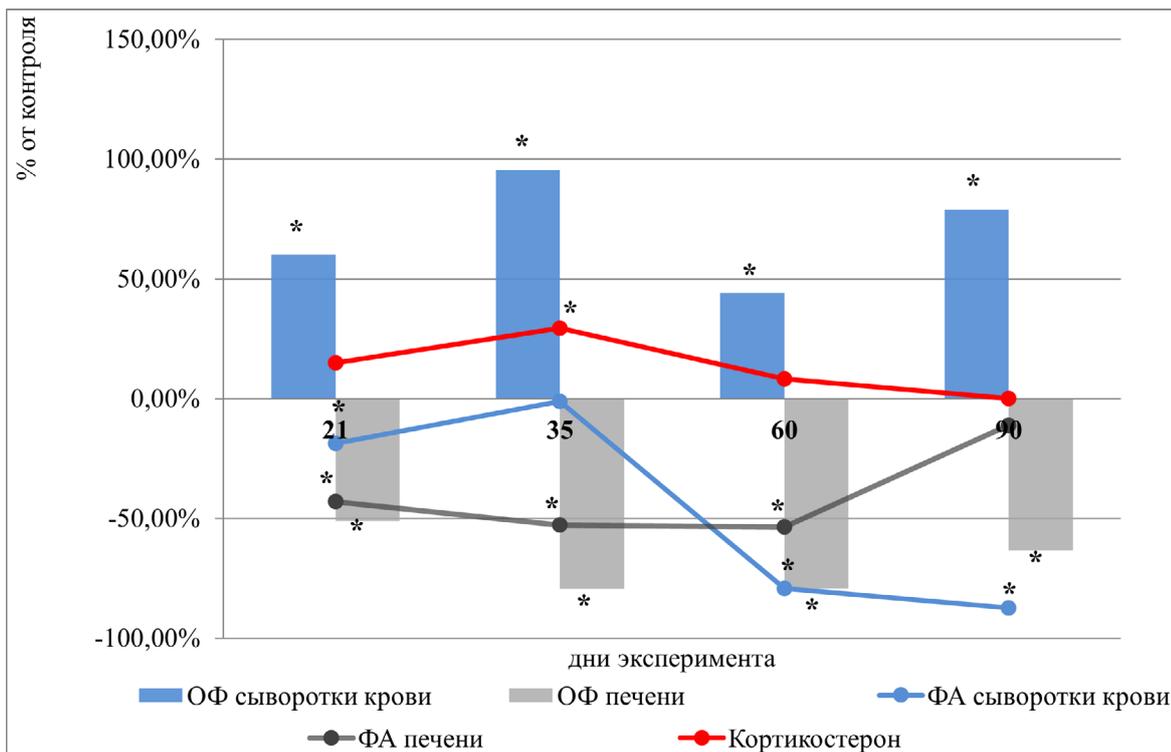
По результатам проведенных ранее исследований известно, что при обострении эрозивного гастродуоденита в биологических жидкостях изменяется содержание фракций сиаловых кислот и фукозы, с максимальным их ростом в желудочном соке, что обуславливает дестабилизацию защитных функций слизистых оболочек [8]. Изменения защитных компонентов слизистых оболочек органов желудочно-кишечного тракта при стрессорных воздействиях изучены недостаточно и особую значимость представляют исследования по моделированию иммобилизационного стресса у экспериментальных животных, позволяющих определить особенности обмена фукозосодержащих биополимеров в тканях желудочно-кишечного тракта.

Цель исследования – установить изменение метаболизма фукозосодержащих биополимеров в тканях желудочно-кишечного тракта экспериментальных животных при иммобилизационном стрессе.

**МЕТОДИКА**

Эксперименты были проведены на 32 взрослых белых беспородных крысах-самцах массой 180-230 г. Иммобилизационный стресс (ИС) у животных вызывали путем их ежедневной двухчасовой фиксации на спине на специальных досках в течение 45 дней [2]. Животные находились на обычном рационе вивария со свободным





**Рисунок 1.** Изменение содержания кортикостерона, общей фукозы (ОФ) и фукозидазной активности (ФА) в сыворотке крови и в печени иммобилизованных животных (достоверность различий между опытом и контролем: \* –  $p < 0.05$ ).

доступом к воде. Смоделированную стрессовую реакцию определяли по изменению содержания кортикостерона в сыворотке крови иммуноферментным методом с использованием набора Corticosterone ELISA («LDN», Германия). Обмен фукозосодержащих биополимеров в крови, гомогенатах печени, мукозной оболочке и стенке желудка и тонкой кишки оценивали на 21, 35, 60 и 90 дни. В указанные дни животных декапитировали под кратковременным эфирным наркозом. Учитывая циркадные ритмы выработки надпочечниками гормонов, забор материала производили в одно и то же время суток — 12 ч дня. В сыворотке крови, в слизистой оболочке и стенке желудка и тонкого кишечника, а также гомогенатах печени определяли общее количество фукозы (ОФ) с использованием 3% раствора солянокислого цистеина по методу Дише в модификации Шараева [8] и фукозидазную активность (ФА) по методу Е.М. Бейер и соавт. в модификации П.Н. Шараева и соавт. [8].

В качестве контрольных значений были использованы данные, полученные нами ранее [3] для группы из 8 животных, не подвергавшихся иммобилизационному стрессу.

Статистическую обработку данных, полученных в ходе проведенных опытов, проводили непараметрическими методами оценки с использованием программ Microsoft Excel и Statistica 6.0. В группах выборки оценивали значения медианы, нижний и верхний квартили. Определение значимости различий полученных данных ( $p$ ) в сравниваемых выборках проводили по критерию Манна-Уитни. Различия между показателями считали статистически значимыми при  $p < 0.05$ . Коэффициент корреляции ( $r$ ) для пар вариант считали по формуле Спирмена с достоверностью  $p < 0.05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Уровень кортикостерона в сыворотке крови иммобилизованных животных возрастал относительно контроля на 35 день на 29.5% ( $p=0.0037$ ); в остальные дни наблюдения уровень гормона практически не изменялся. На протяжении всего эксперимента в сыворотке крови иммобилизованных животных наблюдался рост концентрации фукозы с наибольшим их количеством на 35 и 90 дни (158 мг/л и 144.8 мг/л соответственно, что на 95.5% ( $p=0.0009$ ) и 79% ( $p=0.0009$ ) выше контроля). При этом активность фукозидазы достоверно снижалась, достигая максимума на 90 день наблюдения (87.3% ( $p=0.0009$ ) ниже контрольных значений). Одновременно вышеописанный показатель имел отрицательную корреляционную связь с концентрацией кортикостерона на 90 день ( $r=-0.8$ ;  $p=0.017$ ) (рис. 1).

В гомогенатах печени иммобилизованных животных содержание фукозы снижалось в течение всего эксперимента с наибольшими изменениями на 35 и 60 дни опыта (79.5 % ( $p=0.0009$ ) и 79.3 % ( $p=0.0009$ ) соответственно) относительно показателей контрольных животных. Параллельно с этим фукозидазная активность с 21 по 60 дни достоверно уменьшалась, а к 90 суткам приближалась к контролю. Между показателями уровня кортикостерона сыворотки крови животных и ОФ в гомогенатах исследуемой ткани выявлена сильная положительная корреляционная связь на 35 и 60 день ( $r=0.8$ ;  $p=0.017$ ).

В мукозном слое желудка иммобилизованных животных было выявлено значимое снижение ОФ на 21, 60 и 90 дни наблюдения (на 75.7% ( $p=0.0009$ ), 61,4% ( $p=0.0009$ ) и 57.1%

**Таблица 1.** Показатели обмена фукозосодержащих биополимеров в тканях желудка и тонкой кишки иммобилизованных крыс (Ме [Q1;Q3], n=8).

Показатели	Контроль	Дни опыта			
		21	35	60	90
<b>СЛИЗЬ ЖЕЛУДКА</b>					
фукоза , ммоль/кг	1126.3 [815;1437.5]	296 [263;329]* -75.7%	1070 [1016;1125] -5%	435 [390;480]* -61.4%	483.5 [442;525]* -57.1%
фукозидаза, ммоль/кг/ч	587.5 [400;775]	266 [246;286]* -54.7%	1089 [1012;1166]* +85.4%	617.5 [596;639] +5.1%	493.5 [462;525] -16%
<b>СТЕНКА ЖЕЛУДКА</b>					
фукоза , ммоль/кг	550 [487.5; 612.5]	428 [375; 500]* -21.2%	500 [475;525] -9.1%	137.5 [50;200]* -75%	225 [150;300] -66.82%
фукозидаза, ммоль/кг/ч	181.25 [75; 287.5]	239.5 [216.5;262.5] +30.4%	161.8 [129;195] +4%	178.8 [150;207.5] +18.72%	166.3 [147.5; 185] +37.8%
<b>СЛИЗЬ ТОНКОЙ КИШКИ</b>					
фукоза , ммоль/кг	375 [300;450]	146,3 [130;162.5]* -61%	505 [473;538]* +34.6%	263 [243;283]* -30%	246.5 [230.5;262.5]* -34%
фукозидаза, ммоль/кг/ч	212.5 [137.5;287.5]	134 [126;142] -37%	521 [504.5;537.5]* +145.5%	335 [305.5;364.5]* +57.6%	234 [205;262.5] +10%
<b>СТЕНКА ТОНКОЙ КИШКИ</b>					
фукоза , ммоль/кг	590 [522.5;657.5]	400 [325;475]* -32.2%	314 [265.5;362.5]* -46.8%	255 [220;290]* -56.8%	207.3 [130;285]* -64.9%
фукозидаза, ммоль/кг/ч	181.3 [75;287.5]	240.6 [200;275] +32.1%	143.8 [125;175] -10.8%	165.6 [125;200] -1.4%	150 [150;150] -8.3%

**Примечание:** достоверность различий между опытом и контролем: \* –  $p < 0.05$

( $p=0.002$ ) соответственно) относительно группы сравнения, а также имела место выраженная корреляционная связь между показателями глюкозы и кортикостерона на 90 день ( $r=0.8$ ;  $p=0.017$ ). Активность ферментов, разрушающих фукогликопротеины, к 21 дню резко уменьшалась (на 54.7%,  $p=0.02$ ), а к 35 дню повышалась (на 85,4%,  $p=0.0009$ ) и затем приближалась к контрольным значениям. В то же время отмечена сильная отрицательная корреляционная связь между ФА и ОФ к 21 дню ( $r=-0.8$ ;  $p=0.017$ ). В стенке желудка иммобилизованных животных статистически значимое снижение количества ОФ было выявлено только на 60 сутки (на 75% ( $p=0.0009$ ) относительно контроля), а в остальные дни наблюдения показатель практически не изменялся. При этом ФА достоверно не изменялась на протяжении всего эксперимента.

В интестинальной слизи иммобилизованных животных уровень ОФ изменялся фазно: на 21 день снижался на 61% ( $p=0.0009$ ), на 35 сутки возрастал на 34.6% ( $p=0.013$ ), а на 60 и 90 дни вновь уменьшался на 30% ( $p=0.006$ ) и 34% ( $p=0.002$ ) соответственно относительно контрольных значений. ФА достоверно возрастала на 35 и 60 дни (145.5% ( $p=0.0009$ ) и 57.6% ( $p=0.002$ ) соответственно) в сравнении с группой контрольных животных. В стенке тонкой кишки иммобилизованных животных уровень ОФ достоверно уменьшался на протяжении всего опыта с максимумом на 90 сутки (на 64.9% ( $p=0.0009$ ) относительно контроля), при этом ФА практически не изменялась (табл. 1).

Динамика изменений в обмене фукозосодержащих гликопротеинов в тканях желудка и тонкой кишки иммобилизованных крыс показала разнонаправленный характер: в начале и в конце всего периода наблюдения уровень ОФ и ФА снижался, что может свидетельствовать об изменении метаболизма гликопротеинов в сторону анаболизма.

#### **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Таким образом, факт повышения в сыворотке крови концентрации фукозы и одновременное снижение в тканях печени ОФ и ФА может свидетельствовать об активации процессов анаболизма фукогликопротеинов в печени. Однако к 35 дню иммобилизации в слизи желудка и тонкой кишки животных выявлен рост фукозы и ФА. Данный биохимический путь можно трактовать как маркер катаболизма фукогликопротеинов, что подтверждает реализацию модели иммобилизационного стресса. Разнонаправленные изменения в метаболизме фукозосодержащих биополимеров в установленные сроки опыта выявляют пути адаптационной защитной функции слизистой оболочки желудка и тонкой кишки крыс в условиях иммобилизационного стресса. Данные проявления могут быть связаны с максимальным ростом кортикостерона в крови, который вызывает активацию процессов дефукозилирования [3, 9-11].

**СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ**

Экспериментальное моделирование иммобилизационного стресса проводили с соблюдением общепринятых норм гуманного отношения к лабораторным животным.

**ФИНАНСИРОВАНИЕ**

Работа не имела внешних источников финансирования.

**КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ**

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**ЛИТЕРАТУРА**

1. Khnychenko L. K., Sapronov N. S. (2003) Stress and its role in the development of pathological processes. *Reviews of Clinical Pharmacology and Drug Therapy*, **2**(3), 2-15.
2. Semenov V., Volkov A. (2016) The influence of stress factors of various forces on the neurohumoral and immune systems of the animal body. *Farm Animal Veterinary Science*, **12**, 35-39.
3. Oksuzyan A.V., Butolin E.G., Ivanov G.V. (2022) Changes in the content of fucoglycoproteins in the mucous membranes and walls of the stomach and small intestine of alcoholized rats under immobilization stress. *Medical academic journal*, **22**(3), 37-48. DOI: 10.17816/MAJ77776
4. Volkhina I. V., Naumova N. G. (2012) The comparative analysis of changes

- of the exchange indices for biopolymers of the connective tissue in the stomach wall at immobilisation at rats with different reaction to stress. *Bulletin of the Udmurt University. The series "Biology. Earth Sciences"*, **1**, 55-58.
5. Oksuzyan, A.V., Nurmiya D. I., Subbotina E. S. (2022) Changes in the parameters of sialoglycoproteins in the tissues of the small intestine of alcoholized rats under conditions of immobilization. *Modern Science*, **4**(1), 19-22.
  6. Cherenkov D. A., Rybakov Yu. A., Sanina T. V., Shkarin N. Yu., Skladnev D. A., Korneeva O. S. (2010) Fucose: biological role, obtaining and application. *Biotechnology in Russia*, **6**, 63-71.
  7. Kononova S. V. (2017) How fucose of blood group glycotopes programs the human intestinal microbiota. *Biochemistry*, **82**(9), 1259-1277. DOI: 10.1134/S0006297917090012
  8. Sharaev P. N., Kildiyarova R. R., Strelkov N. S., Butolin E.G., Ozhegov A.M. (2009) *Connective tissue in childhood*. State Budgetary Educational Institution of Higher Professional Education "Izhevsk State Medical Academy" of the Ministry of Health of the Russian Federation, 144 p. ISBN: 978-5-91385-018-8
  9. Protasova S. V., Butolin E. G., Oksuzyan A.V. (2010) Metabolism of carbohydrate-containing biopolymers in the liver and gastric mucosa in experimental diabetes in rats with different resistance to stress. *Diabetes Mellitus*, **1**, 10-12.
  10. Oksuzyan, A., Maier, H., McGue, M., Vaupel, J. W., Christensen, K. (2010). Sex differences in the level and rate of change of physical function and grip strength in the Danish 1905-cohort study. *Journal of Aging and Health*, **22**(5), 589-610. DOI: 10.1177/0898264310366752
  11. Jacobsen, R., Oksuzyan, A., Engberg, H., Jeune, B., Vaupel, J. W., Christensen, K. (2008). Sex differential in mortality trends of old-aged Danes: a nationwide study of age, period and cohort effects. *European journal of epidemiology*, **23**, 723-730. DOI: 10.1007/s10654-008-9288-5

Поступила: 21.09.2023

После доработки: 02.03.2024

Принята к публикации: 22.03.2024

## CHANGES IN THE METABOLISM OF FUCOSE-CONTAINING BIOPOLYMERS IN RAT GASTROINTESTINAL TISSUES UNDER IMMOBILIZATION STRESS

*A.V. Oksuzyan\*, E. G. Butolin, A.A. Bryzgalina*

Izhevsk State Medical Academy of the Ministry of Health of Russia,  
281 Kommunarov str., Izhevsk, 426034 Russia; \*e-mail: artur30st@mail.ru

The features of fucoglycoprotein metabolism in blood serum and tissues of gastrointestinal tract of rats in the dynamics of experimental stress on 21, 35, 60, 90 days of observation were considered. In blood serum and in homogenates of liver, stomach and small intestine of immobilized rats multidirectional changes in the level of fucose and fucosidase activity were observed. They are manifested by a decrease in the amount of total fucose in blood serum and liver of rats against the background of low activity of the enzyme degrading fucoglycoproteins. The same changes were detected in the tissues of the gastric and small intestine (except on day 35 of the experiment, when the growth of fucose and fucosidase was visualized), which may indicate a change in metabolism toward anabolism. These changes correlate with an increase in the concentration of corticosterone in the blood serum of the rats.

**Key words:** immobilization stress; fucose-containing biopolymers; liver, gastric, small intestine tissue

**FUNDING**

The work had no external sources of funding.

Received: 21.09.2023, revised: 02.03.2024, accepted: 22.03.2024