

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ТАРАСА ШЕВЧЕНКА
МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ТАРАСА ШЕВЧЕНКА

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

БЕЛЕМЕЦЬ НАТАЛІЯ ІВАНІВНА

УДК 616. 34-008.87.613.25

ДИСЕРТАЦІЯ

**МОРФО-ФУНКЦІОНАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ОРГАНІВ
ТРАВЛЕННЯ ЩУРІВ ЗА УМОВ ГЛУТАМАТ-ІНДУКОВАНОГО
ОЖИРІННЯ У ЩУРІВ**

03.00.11 – цитологія, клітинна біологія, гістологія

Подається на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело.

Підпис: _____

Науковий керівник: д.м.н., проф. Курик Олена Георгіївна

Київ – 2019

АНОТАЦІЯ

Белемець Н.І. Морфо-функціональна характеристика органів травлення щурів за умов глутамат-індукованого ожиріння у щурів. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук (доктора філософії) за спеціальністю 03.00.11 – цитологія, клітинна біологія, гістологія. – Київський національний університет імені Тараса Шевченка МОН України, Київ, 2019.

Розповсюдження ожиріння серед населення економічно розвинених країн у даний час представляє собою не тільки соціальну, але і медико-біологічну проблему. Ожиріння вважається фактором ризику розвитку багатьох метаболічних захворювань, включаючи цукровий діабет, ішемічну хворобу серця, остеоартрит і навіть рак.

На сьогодні ожиріння набуває характер епідемії: близько 1,9 млрд. осіб на планеті мають надмірну масу тіла. ВООЗ визнала ожиріння глобальною епідемією і взяла його під свій контроль. Тому пошук нових нетоксичних засобів профілактики розвитку ожиріння є найважливішою задачею сучасної науки. Ожиріння тісно пов'язане з системним запаленням і окисним стресом. В сучасній науковій літературі активно дискутується питання впливу антиоксидантів на жировий обмін та ожиріння. Дослідниками було показано наявність меланіну в вісцеральній жировій тканині. Цей пігмент, як відомо має антиоксидантні та протизапальні властивості.

Метою роботи було вивчення морфо-функціонального стану печінки та підшлункової залози за умов експериментального глутамат-індукованого ожиріння та введення меланіну. Було відтворено модель вісцерального ожиріння, викликаного неонатальним введенням глутамату натрію. Доведено, що ожиріння, спричинене введенням глутамату натрію, асоційоване з розвитком неалкогольної жирової хвороби печінки, що супроводжується

активацією запальних шляхів як в клітинах перисинусоїдального простору, так і в гепатоцитах, що підтверджувалося активацією сигнального шляху NF- κ B, яке було асоційоване з виразністю лобулярного та перипортального запалення і експресією TNF α . В підшлунковій залозі спостерігалася гіперплазія інсулярного апарату, асоційована з макрофагальною інфільтрацією і підвищенням експресії COX-2.

Меланін, продуцентом якого є антарктичні мікроорганізми *Pseudonadsoniella brunea* (раніше *Nadsoniella nigra* X-1), запобігає розвитку вісцерального ожиріння, викликаного глутаматом натрію, що підтверджувалося зменшенням індексу маси тіла, індексу Лі та маси вісцеральної жирової тканини. Показано, що введення меланіну трьома двохтижневими курсами призводило до збільшення рівня адипонектину в сироватці крові та зменшення рівня лептину у вісцеральній жировій тканині щурів у порівнянні з групою глутамат натрію. Введення меланіну призводило до зменшення концентрації в сироватці крові щурів прозапальних цитокінів (інтерлейкіну (ІЛ)-1 β , ІЛ 12В р40) на тлі збільшення концентрації антизапальних цитокінів (ІЛ-10, ФРП- β). Введення меланіну запобігало порушенню морфогенезу печінки та підшлункової залози у тварин з глутамат-індукованим ожирінням, нівелюючи активацію прозапальних сигнальних шляхів.

Ключові слова: ожиріння, печінка, підшлункова залоза, запалення, меланін.

ABSTRACT

Belemets N.I. Morpho-functional analysis of rats' digestive organs in conditions of glutamate-induced obesity in rats. - Manuscript.

Thesis for a Candidate Degree in Biology. Specialty 03.00.11 – cytology, cell biology, histology. – Taras Shevchenko National University of Kyiv, Ministry of Education and Science of Ukraine, Kyiv, 2019.

The spread of obesity among the population of economically developed countries is now not only a social but also a biomedical problem. Obesity is considered a risk factor for many metabolic diseases, including diabetes, ischemic heart disease, osteoarthritis and even cancer.

Today, obesity is becoming epidemic: about 1.9 billion people on the planet are overweight. WHO has recognized obesity as a global epidemic and has brought it under control. Therefore, the search for new non-toxic means of preventing the development of obesity is an important task of modern science. Obesity is closely linked to systemic inflammation and oxidative stress. The influence of antioxidants on fat metabolism and obesity has been extensively discussed in modern scientific literature. Researchers have shown the presence of melanin in visceral adipose tissue. This pigment is known to have antioxidant and anti-inflammatory properties.

Therefore, the purpose of the study was to study the morpo-functional state of the liver and pancreas under conditions of neonatal glutamate-induced obesity and the introduction of melanin into rats. To achieve this goal, a model of visceral obesity caused by neonatal administration of sodium glutamate was modeled. Four months after birth, rats given neonatal sodium subcutaneously glutamate developed visceral obesity, as evidenced by visceral fat mass, body mass index, and Lee index. Leptin levels were likely to increase in adipose tissue and adiponectin levels were likely to be decreased in serum compared to rats that were not modeled for glutamate-induced obesity. An increase in the content of proinflammatory cytokines (IL-1 and IL-12B p40) and a decrease in the anti-inflammatory system (IL-4, IL-10, TGF- β) were found in the serum of obese rats.

Obesity caused by the introduction of sodium glutamate in newborn rats has been shown to be associated with the development of the non-alcoholic fatty liver disease, accompanied by activation of inflammatory pathways in both perisinusoidal space cells and in hepatocytes, which was confirmed by activation of lobular and periportal inflammation and TNF α expression. In the pancreas, there was hyperplasia of the insular apparatus associated with macrophage infiltration and increased expression of COX-2.

Melanin, produced by the Antarctic microorganisms *Pseudonadsoniella brunea* (formerly *Nadsoniella nigra* X-1), has been shown to prevent the development of visceral obesity caused by neonatal administration of sodium glutamate in rats at 4 months of age, which was confirmed by a decrease in vascularity fabric. The administration of melanin by two-week courses has been shown to increase serum adiponectin levels and decrease leptin levels in the visceral adipose tissue of rats compared with sodium glutamate. The introduction of melanin led to a decrease in the serum concentration of rats of proinflammatory cytokines (interleukin (IL) -1 β , IL 12B p40) against the background of increasing concentrations of anti-inflammatory cytokines (IL-10, TGF- β).

The introduction of melanin prevented impaired liver and pancreatic morphogenesis in animals with glutamate-induced obesity, negating the activation of pro-inflammatory signaling pathways.

Key words: obesity, liver, pancreas, inflammation, melanin.

Список публікацій здобувача

Статті у наукових фахових виданнях України:

1. Белемець Н., Фалалєєва Т., Берегова Т., Остапченко Л., Кобиляк Н., Курик О., Сулаєва О. Морфогенез підшлункової залози за умов глутамат-індукованого ожиріння: механізми корегуючої дії меланіну // Вісник Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Серія: Біологія. – 2018. – 2(76). – С. 62-65 [1].

Статті в іноземних виданнях:

2. Belemets N. Histopathological analysis of liver tissue in monosodium glutamate-induced obese rats / N. Belemets, N. Kobyliak, O. Tsyryuk, O. Kuryk, T. Falalyeyeva // Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. – 2016.- 7 (6). – P. 1823-1828. (Scopus) [2].

3. Belemets N. Prevention of NAFLD development in rats with obesity via the improvement of pro/antioxidant state by cerium dioxide nanoparticles / N. Kobyliak, L. Abenavoli, T. Falalyeyeva, O. Virchenko, N. Belemets, T. Beregova, P. Bodnar, M. Spivak // Clujul Medical. – 2016. – Vol. 89, №2. – p. 433-439. (Scopus) [3].

4. Belemets N. Effects of polyphenol compounds melanin on NAFLD/NASH prevention / Belemets N., Kobyliak N., Virchenko O., Falalyeyeva T., Tsyryuk O., Bodnar P., Savchuk O., Galenova T., Caprnda M., Rodrigo L., Skladany L., Delev D., Opatrilova R., Kruzliak P., Beregova T., Ostapchenko L. Biomedicine and Pharmacotherapy. - (2017). – V. 88. - P. 267-276. (Scopus) [4].

5. Belemets N. / N. Belemets, N. Kobyliak, T. Falalyeyeva, O. Kuryk, O. Sulaieva, T. Vovk, T. Beregova, L. Ostapchenko // Natural product communications. – 2018. – Vol. 13(11). – P. 1485-1488 (Scopus) [5].

Тези наукових доповідей:

6. Фалалєєва Т.М., Белемець Н.І., Курик О.Г., Савчук О.М., Берегова Т.В. Морфо-функціональний стан підшлункової залози за умов експериментального ожиріння // Тези доповідей VIII Міжнародна наукова конференція «Психофізіологічні та вісцеральні функції в нормі і патології», присвячена 175-річчю кафедри фізіології та анатомії людини та тварин Київського національного університету імені Тараса Шевченка (Київ 17-20 жовтня 2017). – 2017. – С. 28 [6].
7. Белемець Н.І., Харченко О.І., Костюк О.С., Курик О.Г., Фалалєєва Т.М. Морфологічна характеристика печінки щурів за умов експериментального вісцерального ожиріння // Тези за матеріалами Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю «Креативні напрямки в діагностиці, патогенезі, лікуванні та профілактиці внутрішніх хвороб» (29-30 вересня 2016 р. м. Запоріжжя), 2016. – С. 7 [7].
8. Falalyeyeva T., Belemets N., Kobylak N., Vodnar P., Beregova T., Ostapchenko L. The opportunities of polyphenols: prevention of the development of experimental obesity // European Journal of Clinical Investigation. – 2016. – Vol. 46, Suppl. 1. – P. 34. (IF=2,734) – 50th Annual Scientific Meeting of the European Societi for Clinical Investigation (27-29 April 2016, Paris) [8].
9. Belemets N., Falalyeyeva T., Kuryk O., Sulaieva O., L. Abenavoli, Beregova T., Ostapchenko L. Anty-inflammatory mechanism of melanin by the expression of TNF- α , NF- κ B in rat liver with NAFLD/NASH // Матеріали Міжнародної науково-практичної конференції «Біологічні, медичні та науково-педагогічні аспекти здоров'я людини» (4-5 жовтня 2018 року, м. Полтава). – С. 15 [9].
10. Belemets N., Falalyeyeva T., Kuryk O., Sulaieva O., Beregova T., Ostapchenko L. Anty-inflammatory effect of polyphenol compounds melanin in rats with MSG-induced obesity and associated development of NAFLD/NASH // Smart Lion 2018, 2nd Symposium Innovation in Medicine (11-13 October 2018, Lviv, Ukraine). – P.52 [10].

ЗМІСТ

| | |
|---|----|
| ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ | 11 |
| ВСТУП | 12 |
| РОЗДІЛ 1 ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ | 18 |
| 1.1. Ожиріння як епідемія 21 сторіччя | 18 |
| 1.2. Морфо-функціональна характеристика печінки та підшлункової залози за умов норми та ожиріння | 22 |
| 1.3. Роль γ -рецепторів, що активуються пероксисомним проліфератором, у регуляції обміну речовин | 26 |
| 1.3.1. Природні і синтетичні ліганди ППАР γ | 28 |
| 1.3.2. Функції ППАР γ у регуляції обміну речовин | 29 |
| 1.3.3. Участь ППАР γ в запаленні | 32 |
| 1.4. Поліфеноли: перспективи застосування для профілактики і лікування ожиріння | 34 |
| РОЗДІЛ 2 МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ | 43 |
| 2.1. Умови проведення експерименту | 43 |
| 2.2. Схема дослідження впливу меланіну на глутамат-індуковане ожиріння | 43 |
| 2.3. Методи гістологічного дослідження | 46 |
| 2.4. Статистична обробка результатів | 49 |
| РОЗДІЛ 3 ДОСЛІДЖЕННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ ФАРМАКОЛОГІЧНОЇ КОРЕКЦІЇ ПОЛІФЕНОЛЬНОЮ | 50 |

СПОЛУКОЮ МЕЛАНІН ЗА УМОВ ГЛУТАМАТ-ІНДУКОВАНОГО ОЖИРІННЯ У ЩУРІВ

- | | | |
|------|--|----|
| 3.1. | Дослідження параметрів тіла та вісцерального жиру у щурів, за умов експериментального вісцерального ожиріння та корекції меланіном | 52 |
| 3.2. | Оцінка рівня адипоцитокінів у щурів, за умов експериментального вісцерального ожиріння та корекції меланіном | 57 |
| 3.3. | Оцінка рівня цитокінів у щурів, за умов експериментального вісцерального ожиріння та корекції меланіном | 62 |
| 3.4. | Оцінка стану жирової тканини у щурів, за умов експериментального вісцерального ожиріння та корекції меланіном | 66 |

РОЗДІЛ 4 МОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ ПЕЧІНКИ ЗА УМОВ ГЛУТАМАТ-ІНДУКОВАНОГО ОЖИРІННЯ: МЕХАНІЗМИ КОРИГУЮЧОЇ ДІЇ МЕЛАНІНУ

- | | | |
|------|--|----|
| 4.1. | Характеристика печінки тварин контрольної групи | 75 |
| 4.2. | Вплив глутамат-індукованого ожиріння на структуру печінки | 80 |
| 4.3. | Вплив меланіну на розвиток неалкогольної жирової хвороби печінки у щурів з ожирінням | 91 |

РОЗДІЛ 5 МОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ ЗА УМОВ ГЛУТАМАТ-ІНДУКОВАНОГО ОЖИРІННЯ: МЕХАНІЗМИ КОРИГУЮЧОЇ ДІЇ МЕЛАНІНУ

- | | | |
|------|---|-----|
| 5.1. | Характеристика підшлункової залози тварин контрольної групи | 101 |
|------|---|-----|

| | | |
|---|--|-----|
| 5.2. | Зміни підшлункової залози у щурів з експериментальним ожирінням | 106 |
| 5.3. | Вплив меланіну на стан підшлункової залози за умов експериментального ожиріння | 118 |
| РОЗДІЛ 6 АНАЛІЗ ТА ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ | | 125 |
| ВИСНОВКИ | | 140 |
| СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ | | 142 |
| Додаток 1 | | 168 |

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

TNF α - фактор некрозу пухлини-альфа

ВЖК - вільних жирних кислот

ВООЗ – Всесвітня організація охорони здоров'я

ГП - гострого панкреатиту

ІІ - інтерлейкіну

ІМТ - індекс маси тіла

КТ - комп'ютерна томографія

ЛПВЩ - ліпопротеїни високої щільності

ЛПНЩ - ліпопротеїни низької щільності

НАЖХП - неалкогольна жирова хвороба печінки

НАСГ - неалкогольного стеатогепатиту

НП - некротичний панкреатит

ППАР γ - ядерні γ -рецептори, що активуються пероксисомним проліфератором

СОХ-2 - циклооксигеназа-2

СПОН - синдром поліорганної недостатності

ССЗВ - розвитку синдрому системної запальної відповіді

УЗД - ультразвукове дослідження

ФРП- β - фактор росту пухлини-бета

ВСТУП

Обмін речовин є одним з найважливіших процесів підтримання життєдіяльності організму [11]. Захворювання, пов'язані з порушеннями обміну речовин, такі як діабет та ожиріння стали надзвичайно поширеними [12–15]. У 21 сторіччі ВООЗ визнала ожиріння глобальною епідемією і взяла його під свій контроль [16–19]. Ожиріння називають неінфекційної епідемією сьогодення: захворювання, що асоційовані з ожирінням щорічно забирають до трьох мільйонів життів жителів планети [15, 20–28]. Вперше в історії людства від хвороб, пов'язаних із зайвою вагою, вмирає більше людей, ніж від голоду [29]. У 2019 році планета Земля отримала новий виклик, а саме пандемію вірусного характеру COVID-19. Виявилось, що ожиріння та супутні з ним захворювання, насамперед це цукровий діабет 2 типу та гіпертонія, підвищують ризик розвитку важкого пливу COVID-19 та летальність серед населення [30–33].

Ожиріння призводить до супутніх захворювань, а саме, цукровий діабет 2 типу, дисліпідемію, атеросклероз і пов'язані з ним захворювання, синдром нічного апное, гіперурикемію, подагру, репродуктивну дисфункцію, жовчокам'яну хворобу, остеоартрити, онкологічні захворювання (у жінок – рак ендометрію, шийки матки, яєчників, молочних залоз, у чоловіків – рак простати; рак прямої кишки в осіб обох статей), варикозне розширення вен нижніх кінцівок [18, 34, 43–47, 35–42]. Насамперед ожиріння призводить до патологічних змін в органах травної системи, а саме до виникнення неалкогольної жирової хвороби печінки (НАЖХП) та жирової інфільтрації підшлункової залози [48], що виявляється у всіх вікових групах.

Тому пошук нових нетоксичних засобів профілактики розвитку ожиріння та супутніх захворювань є найважливішою задачею сучасної науки. Ожиріння тісно пов'язане з системним запаленням і окисним стресом. В сучасній науковій літературі активно дискутується питання впливу

антиоксидантів на жировий обмін та ожиріння. Дослідниками було показано наявність меланіну в вісцеральній жировій тканині [49]. Цей пігмент, як відомо, має антиоксидантні та протизапальні властивості [50–52].

У Навчально-науковому центрі «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка було встановлено, що меланін, продуцентом якого є антарктичні мікроорганізми *Pseudonadsoniella brunea* (раніше *Nadsoniella nigra* X-1) володіє наступними властивостями: стреспротекторною, антиоксидантною, протизапальною, гіпосекреторною, антивиразковою, антибактеріальною, дерматотропною та антиканцерогенною дією [53–56]. Також останніми дослідженнями було показано, що меланін, продуцентом якого є антарктичні мікроорганізми *Pseudonadsoniella brunea* (раніше *Nadsoniella nigra* X-1) запобігає експериментальному ожирінню на моделі з висококалорійною дієтою [57] та моделі прогестерон-індукованого ожиріння [58]. Проте, на сьогодні не було проведено досліджень на моделі вісцерального ожиріння, викликаного неонатальним введенням глютамату натрію, хоча ця модель відтворює клінічну картину вісцерального ожиріння при цукровому діабеті 2-типу [59, 60].

Зважаючи на прогресуюче збільшення числа населення з ожирінням та залежних від нього патологій, що обумовлює витрати держави на лікарняні листки, а також те, що в ряді випадків ожиріння та супутні патології стають причиною інвалідизації, дані дослідження матимуть не лише фундаментальне, але і важливе соціально-економічне значення. Тому метою роботи було вивчення морфо-функціонального стану печінки та підшлункової залози за умов неонатального глютаMAT-індукованого ожиріння та введення меланіну у щурів.

Для виконання даної мети були поставлені наступні завдання:

- 1) Змоделювати експериментальне вісцеральне ожиріння гіпоталамічного генезу на щурах шляхом неонатального введення глютамату натрію.

2) Дослідити параметри тіла, рівень адипоцитокінів та цитокінів у щурів за умов експериментального вісцерального ожиріння, викликаного глутаматом натрію.

3) Дослідження параметрів тіла, рівня адипоцитокінів та цитокінів у щурів за умов експериментального вісцерального ожиріння та корекції його меланіном.

4) Охарактеризувати морфо-функціональний стан печінки та підшлункової залози у 4 місячних щурів за умов неонатального введення глутамату натрію.

5) Вивчити морфо-функціональні зміни печінки та підшлункової залози за умов введення меланіну у щурів з глутамат - індукованим ожирінням.

Об'єкт дослідження — печінка та підшлункова залоза щурів за умов експериментального ожиріння.

Предмет дослідження — структурно-функціональний стан печінки та підшлункової залози щурів за умов вісцерального ожиріння та введення меланіну.

Методи дослідження. Гістоморфологічні, імуноцитохімічні, фізіологічні, біохімічні та методи математичної статистики.

Наукова новизна одержаних результатів. Дисертаційна робота була скерована на вивчення структурно-функціонального стану печінки та підшлункової залози за умов неонатального введення глутамату натрію та пошуку засобу корекції. Вперше встановлено, що меланін, продуцентом якого є антарктичні мікроорганізми *Pseudonadsoniella brunea* (раніше *Nadsoniella nigra* X-1), запобігає розвитку вісцерального ожиріння, викликаного неонатальним введенням глутамат натрію у щурів віком 4 місяці, що підтверджувалося зменшенням індексу маси тіла, індексу Лі та маси вісцеральної жирової тканини. Показано, що введення меланіну двохтижневими курсами призводило до збільшення рівня адипонектину в сироватці крові та зменшення рівня лептину у вісцеральній жировій тканині щурів у порівнянні з групою глутамат натрію. Введення меланіну призводило

до зменшення концентрації в сироватці крові щурів прозапальних цитокінів (інтерлейкіну (ІЛ)-1 β , ІЛ 12В р40) на тлі збільшення концентрації антизапальних цитокінів (ІЛ-10, ФРП- β).

Показано, що ожиріння, спричинене введенням глютамату натрію новонародженим щурам, асоційоване з розвитком неалкогольної жирової хвороби печінки, що супроводжується активацією запальних шляхів як в клітинах перисинусоїдального простору, так і в гепатоцитах, що підтверджувалося активацією сигнального шляху ядерного фактору «каппа-бі» (NF- κ B), яке було асоційоване з виразністю лобулярного та перипортального запалення і експресією TNF α . В підшлунковій залозі спостерігалася гіперплазія інсулярного апарату, асоційована з макрофагальною інфільтрацією і підвищенням експресії циклооксигенази-2 (COX-2). Введення меланіну запобігало порушенню морфогенезу печінки та підшлункової залози у тварин з глютамат-індукованим ожирінням, нівелюючи активацію прозапальних сигнальних шляхів.

Практичне значення одержаних результатів. Показано, що періодичне введення меланіну справляло значний профілактично-лікувальний ефект на розвиток вісцерального ожиріння у щурів. Отримані результати є експериментальним обґрунтуванням доцільності антиоксидантів, а саме меланіну у комплексному лікуванні ожиріння. Одержані дані слід враховувати кожній людині при формуванні щоденного раціону, так як харчова сіль і глютамат натрію широко використовується в багатьох харчових виробництвах і користується великою популярністю в світі.

Особистий внесок здобувача. Аналіз літератури, проведення експериментів, статистична обробка та написання дисертації виконані здобувачем самостійно. Встановлення мети та завдань досліджень, планування експерименту, формулювання висновків та написання наукових публікацій здійснено за участю наукового керівника. Меланін, продуцентом якого є антарктичні мікроорганізми *Pseudonadsoniella brunea* (раніше *Nadsoniella nigra* X-1) для експериментальних досліджень був люб'язно

наданий ДУ Національним антарктичним науковим центром Міністерства освіти і науки України. Автор висловлює вдячність д.б.н., проф. Береговій Т.В. за участь у плануванні та обговоренні дисертаційної роботи. Біохімічні дослідження проводились за консультативною допомогою д.б.н., проф. Савчука О.М. (ННЦ «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка). Імуногістохімічні дослідження були проведені за консультаційною допомогою д.м.н., проф. Сулаєвої О.М. (CSD Medical Laboratory).

Апробація результатів дисертації. Матеріали дисертації були представлені і обговорені на VIII Міжнародній науковій конференції «Психофізіологічні та вісцеральні функції в нормі і патології», присвяченій 175-річчю кафедри фізіології та анатомії людини та тварин Київського національного університету імені Тараса Шевченка (Київ, 2017); Всеукраїнській науково-практичній конференції з Міжнародною участю «Креативні напрямки в діагностиці, патогенезі, лікуванні та профілактиці внутрішніх хвороб» (Запоріжжя, 2016); 50th Annual Scientific Meeting of the European Society for Clinical Investigation (Paris, 2016); Міжнародній науково-практичній конференції «Біологічні, медичні та науково-педагогічні аспекти здоров'я людини» (Полтава, 2018 року); Smart Lion 2018, 2nd Symposium Innovation in Medicine (Lviv, 2018).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 10 наукових праць, з яких 5 статей, серед яких 1 рекомендовано ДАК України та 4 належать до наукометричної бази даних «Scopus», 5 тез доповідей у матеріалах вітчизняних та міжнародних наукових конференцій.

Обсяг і структура дисертації. Дисертаційна робота складається з анотації, вступу, огляду літератури, матеріалів і методів дослідження, розділу результатів дослідження та їх обговорення, розділу присвяченому аналізу і узагальненню результатів, висновків, списку використаних літературних джерел та додатку. Робота викладена на 169 сторінках друкованого тексту,

ілюстрована 73 рисунками та 3 таблицями. Перелік використаних літературних джерел складається з 219 найменувань.

РОЗДІЛ 1

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Ожиріння як епідемія 21 сторіччя

Останнім часом ожиріння набуло масштабів епідемії. У світі налічується понад 400 млн людей, які страждають від ожиріння, близько 1,6 млрд мають надлишкову масу тіла. За прогнозами ВООЗ, до 2025 року кількість хворих з ожирінням подвоїться [18, 34, 43–47, 35–42]. Ожиріння (індекс маси тіла — більше 30 кг/м^2) призводить до розвитку стеатогепатозу в 95—100 % випадків і супроводжується стеатогепатитом у 20—47 % хворих. Ожиріння без перебільшення можна назвати епідемією світового масштабу, оскільки кількість осіб, як серед дорослого, так і серед дитячого населення, що мають надмірну вагу тіла постійно збільшується [12, 17, 19, 29, 61–64]. І якщо ця тенденція збережеться, то все населення економічно розвинутих країн до середини наступного сторіччя буде хворіти на ожиріння [19, 65–67]. За даними вчених з університету Північної Кароліни кількість людей з надлишковою масою тіла перевищує кількість голодуючих. Це стосується як багатих країн та країн, що розвиваються. У Сполучених Штатах та інших країнах ожиріння різко зросло з 1980 року. У період з 1980 по 2004 рік поширеність на ожиріння зросла з 15% до 33% серед дорослого населення, і поширеність надлишкової маси тіла у дітей зросла більш ніж на 6% до 19%. Надмірна вага у дитинстві часто призводить до ожиріння у дорослому віці [39, 46, 68, 69]. За даними ВООЗ у Європі на ожиріння страждає від 20% до 30% дорослого населення. У 2005 році близько 20 мільйонів дітей віком до 5 років мали надлишкову вагу тіла, а вже у 2010 було зафіксовано 43 мільйони [70].

За даними ВООЗ в Україні ожиріння серед чоловіків складає 16%, а серед жінок – 26%. Серед дітей і підлітків ожиріння становить 11,1%. В Україні щорічно фіксують 18-20 тис. нових випадків ожиріння серед дітей та підлітків.

У 2007 р. діагностовано 23 325 нових випадків цього захворювання (2,73 на 1000 населення). Захворюваність серед дітей до 14 років становила 2,6, а поширеність – 9,7 на 1000 населення. Серед підлітків 15-17 років ці показники ще вищі: захворюваність – 3,37, поширеність – 15,6 на 1000 відповідного населення [71]. Отже, проблема ожиріння для України не менш актуальна, ніж для будь-якої іншої країни світу, проте увага населення до цієї патології якщо і акцентується, то головним чином на її естетичній стороні. І лише в останні роки почали говорити та писати про те, що ожиріння – це тяжке захворювання [72].

Ожиріння є найпоширенішим метаболічним захворюванням у світі, що зростає зі швидкістю епідемії як у розвинутих країнах, так і в країнах, що розвиваються. Ожиріння характеризується надлишковим відкладанням жиру в організмі та сприяє, а в значній частині випадків є головною причиною, розвитку серцево-судинних [16, 46, 73, 74], нейро-ендокринних [75, 76] та онкологічних захворювань [77–79], що призводить до втрати працездатності, інвалідизації та передчасної смерті значної кількості хворих на ожиріння.

Актуальність проблеми полягає ще й у тому, що кількість осіб, які мають надлишкову масу тіла, прогресивно збільшується. За даними епідеміологічних досліджень їх приріст становить 10 % на кожні 10 років [72, 80]. Підраховано, що при збереженні даної тенденції, до середини наступного сторіччя все населення економічно розвинених країн буде хворіти на ожиріння. Настільки інтенсивне зростання числа хворих обумовлене насамперед тим, що ожиріння напряму пов'язане зі способом життя людини. Факторами, які сприяють наростанню надлишкової ваги є гіподинамія, переважання в раціоні висококалорійних продуктів, а також безконтрольне використання харчових добавок, насамперед, глютамату натрію [81].

Глутамінова кислота була відкрита Рітхаузенем у 1866 р. Збудлива дія L-глутамату в головному і спинному мозку ссавців, де його знайдено у високих концентраціях, була відома з 50-х років минулого століття, проте

лише з кінця 70-х стало зрозумілим, що він є основним збуджуючим медіатором у центральній нервовій системі хребетних [82, 83].

Харчова добавка Е 621 натрієва сіль глютамінової амінокислоти або глютамат натрію є посилювачем смаку та застосовується в багатьох харчових виробництвах як речовина, що застосовується для надання харчовим продуктам кращого смаку, посилення смаку інших продуктів, здешевлення та скорочення технологічного процесу. Глютамат натрію успішно маскує низьку якість продуктів, наприклад, низькосортного м'яса [84].

Є дані про те, що глютамат натрію може бути причиною багатьох негативних симптомів [85]. Ці симптоми були об'єднані терміном „синдром китайського ресторану”, ознаками якого є різкий біль у шлунку або голові, почервоніння обличчя, гарячка, збільшення потовиділення [86]. Навіть можуть спостерігатися асмагичні напади у чутливих людей [87].

За даними наукової літератури більшість вчених стверджують, що тривале споживання харчової добавки глютамату натрію в дозі 1 г/добу не викликає негативного впливу на організм людини і ознак „синдрому китайського ресторану” [88, 89]. Проте в інших роботах зазначається, що тривалий прийом цієї добавки в значно більших дозах (3 г/добу [90], 5 г/добу [91] і навіть одноразовий прийом 12 г/добу [92] не спричинює симптоми „синдрому китайського ресторану” у людей. Також є дані, що „синдром китайського ресторану” у людей спричиняє вживання 3 г/добу глютамату натрію [90, 93, 94].

В дисертаційній роботі Фалалєєвої Т.М., 2011 було встановлено, що 20-, 30-ти денне введення глютамату натрію в дозах 15 і 30 мг/кг (відповідає 1 і 2 г/людину) викликає ураження (виразки, ерозії, крововиливи) слизової оболонки шлунка і гіперацидний стан. Автором узагальнено, що активуючий вплив глютамату натрію на секрецію гідрохлоридної кислоти в шлунку може бути етіологією ряду кислотозалежних захворювань, а саме гастритів та виразкової хвороби шлунка і дванадцятипалої кишки [95].

Найбільш обговорюваною темою є участь глутамату натрію в ожирінні людей, які зловживають харчуванням в фаст-фудах. Дані літератури суперечливі. Так є роботи про те, що глутамат натрію викликає порушення обміну речовин та підвищення маси тіла [95–97], проте інші стверджують, що глутамат натрію не шкодить організму людини [90, 91, 98].

Глутамат натрію може призвести до харчової залежності у людей від їжі, що оброблена цією харчовою добавкою. Доведено, що харчова добавка E621 збільшує чутливість смакових сосочків [99] та викликає залежність, аналогічній наркотичній [86]. Ось чому діти на стільки люблять їжу з закладів швидкого харчування [81]. Встановлено, що щоденне споживання глутамату натрію щурами в дозі 15 мг/кг та 30 мг/кг (1 та грам на середньостатистичну людину) впродовж 20-ти та 30-ти днів збільшувало масу тіла [95].

Останнім часом особливу увагу приділяють молекулярним і фізіологічним механізмам у розвитку ожиріння, та широко досліджують сигнальну роль жирової тканини в підтримці запасів енергії на рівні гіпоталамуса. Для розуміння механізмів, що лежать в основі розвитку ожиріння та генерації патофізіологічних проявів проводиться розробка і створення адекватних моделей цього соціального захворювання. Так, моделі за участю тварин є незамінними інструментами в області біомедичних досліджень.

Моделі ожиріння дають можливість дослідити молекулярні і фізіологічні механізми у розвитку ожиріння, визначити сигнальну роль жирової тканини в підтримці запасів енергії на рівні гіпоталамуса, більш глибоко та досконало вивчати біохімічні та функціональні зміни організму тварин. Поєднання моделей на тваринах та удосконалення передових методів, які використовують у сучасних лабораторіях (наприклад, кількісної молекулярної мікроскопії, біохімічних підходів, методів візуалізації *in vivo*, фізіологічні, імунологічні дослідження та поведінковий аналіз), дозволяють нам сподіватися на подальший прогрес в нашому розумінні механізмів, що лежать в основі розвитку ожиріння.

Останніми науковими дослідженнями було встановлено, що щури зі штучно індукованим ожирінням мають ряд характерних особливостей фізіології: наявність гиперфагії, гіперглікемії, і резистентності до інсуліну, зниження витрати енергії [100].

Серед моделей експериментального ожиріння найбільш популярними є моделі, основані на моногенних мутаціях лептину та шляхів його активації; полігенні моделі ожиріння; моделі дієт-індукованого ожиріння; моделі глутамат-індукованого ожиріння [100]. Враховуючи факт, що найбільш важкою формою ожиріння є вісцеральний тип, пов'язаний з відкладенням жиру на внутрішніх органах, нашу увагу привернула модель вісцерального ожиріння, викликаного неонатальним введенням глутамату натрію. Згідно цієї моделі концентрований 3-молярний розчин глутамату натрію вводиться щурам підшкірно на 2, 4, 6, 8, 10 добу після народження у дозі 4 г/кг. Реєстрацію маси тіла, маси жиру, вивчення функціональних показників при порушеному метаболізмі, оцінку ураженості підшлункової залози здійснювали у щурів 4-ох місячного віку. У зв'язку з цим, у дисертаційній роботі була використана саме ця модель експериментального ожиріння.

1.2. Морфо-функціональна характеристика печінки та підшлункової залози за умов норми та ожиріння

Ожиріння пов'язане з ризиком розвитку багатьох захворювань, зокрема цукрового діабету 2 типу, жовчнокам'яної хвороби, серцево-судинних захворювань, онкопатології, метаболічного синдрому. Насамперед ожиріння призводить до патологічних змін в органах травної системи, а саме до виникнення НАЖХП та жирової інфільтрації підшлункової залози [48], що виявляється у всіх вікових групах.

НАЖХП посідає провідні позиції в структурі захворювань печінки у промислово розвинених країнах [101]. Ескалація поширеності НАЖХП у всьому світі є тривожним явищем, тому що прогресування захворювання тісно пов'язане з розвитком стеатогепатиту, цирозу печінки й метаболічного синдрому [102]. Даними клінічних досліджень підтверджена можливість розвитку неалкогольного стеатогепатиту (НАСГ) у дітей віком 2 років, цирозу печінки внаслідок НАСГ у дітей 8–10 років [103, 104]. Дорослі, які мають НАЖХП з дебютом у дитячому віці, частіше мають ускладнений перебіг захворювання [103].

НАЖХП у дітей своєчасно не діагностується, з одного боку, через відсутність специфічної клінічної симптоматики та лабораторних маркерів, з іншого боку, через низьку обізнаність лікарів, зокрема, щодо груп ризику, які підлягають активному скринінгу [101, 103].

Діагноз НАЖХП встановлюється при виявленні ознак стеатозу печінки візуалізаційними або морфологічними методами та виключенні причин вторинного походження жирової інфільтрації печінки, а саме використання стеатогенних ліків, спадкових, метаболічних захворювань тощо [105]. Золотим стандартом для верифікації НАЖХП є біопсія печінки [106, 107]. Ультразвукове дослідження (УЗД) печінки є діагностичною процедурою першої лінії для виявлення стеатозу [108, 109], але результати залежать від кваліфікації дослідника; кількісна характеристика стеатозу вимагає додаткового обладнання. Комп'ютерна томографія (КТ) та магнітно-резонансна томографія є надійними методами для виявлення стеатозу печінки [110], однак КТ пов'язана з рентгенівським випромінюванням; також обидва методи вимагають великих витрат часу і коштів, часом потребують седації пацієнта. Транз'єнтна еластографія печінки забезпечує одночасне визначення параметра контрольованого ультразвукового затухання (controlled attenuation parameter — CAP), що надає кількісну характеристику ступеню стеатозу, та показника жорсткості тканини печінки (liver stiffness measurement — LSM), є

неінвазивним і ефективним методом скринінгу стеатозу й фіброзу печінки [111].

Ожиріння і виникаючі при ньому метаболічні порушення є одним з етіологічних факторів хвороб підшлункової залози. Показано, що у людей які мають надлишкову вагу, є схильність до розвитку важких форм панкреатиту з ускладненнями, а ожиріння при цьому є досить надійною прогностичною ознакою перебігу гострого панкреатиту [112, 113]. Не дивлячись на численні дослідження деякі дані є суперечливими. Це певною мірою може бути зумовлено використанням різних діагностичних критеріїв та класифікацій, при цьому точний механізм взаємозв'язку ожиріння та панкреатиту поки ще достеменно не встановлений [114].

Проблема гострого панкреатиту на теперішній час є однією з найбільш складних і невирішених у сучасній панкреатології. Захворюваність на гострий панкреатит за даними ВООЗ складає 20-80 випадків на 100000 населення в рік. В Україні цей показник дорівнює 102 на 100000 населення [115]. Важка форма складає близько 15% всіх випадків гострого панкреатиту. При некротичному панкреатиті (НП) летальність досягає 20-40% [116]. Висока летальність при НП пов'язана з надмірною активацією протеолізу, тяжким ендотоксикозом і гнійно-некротичними ускладненнями, спричиненими як ураженням самої підшлункової залози, так і парапанкреатичної клітковини.

Ключовим у ланцюгу патогенезу гострого панкреатиту (ГП) є активація трипсиногену, який спричиняє пошкодження паренхіми підшлункової залози, викликаючи її запалення. З часом воно призводить до розвитку синдрому системної запальної відповіді (ССЗВ) та синдрому поліорганної недостатності (СПОН) [117]. Розуміння патогенезу ГП пов'язане переважно зі ствердженням про те, що початкова фаза тяжкого ГП залежить від активації нейтрофілів, яка супроводжується розвитком ССЗВ. У патогенезі ССЗВ при ГП беруть участь прозапальні цитокіни, включаючи: інтерлекіни (ІЛ) ІЛ-1 β , ІЛ-6, ІЛ-8, TNF α) і антизапальні цитокіни: ІЛ-2 та ІЛ-10 [118].

Активация ендотеліальних клітин призводить до трансендотеліальної міграції нейтрофілів, моноцитів і лімфоцитів в паренхіму підшлункової залози та виділення медіаторів іншими клітинами, таких як нейтрофільна еластаза, що може призвести до більшого пошкодження, ніж панкреатичні ферменти [119]. Більш того, прозапальні медіатори, що виділяються нейтрофілами та макрофагами, пошкоджують судинну стінку та збільшують її проникність, що призводить до набряку і гіпоксії в паренхімі підшлункової залози. Таким чином, яка б не була початкова причина ГП, тяжкість захворювання пов'язана з пошкодженням ацинарних клітин та активацією нейтрофілів, моноцитів, лімфоцитів та ендотеліальних клітин [118]. Локальні та системні ускладнення ГП виникають переважно внаслідок вивільнення численних медіаторів активованими клітинами [120].

Дослідження вказують на те, що ожиріння, що супроводжує гострий панкреатит різної етіології, сприяє виникненню важкої форми панкреатиту, підвищує ризик появи ускладнень та збільшує смертність [113, 118, 119, 121, 122]. Було показано, що ожиріння пов'язане з оксидативним стресом, а також з підвищенням експресії у тканинах і концентрації у плазмі крові прозапального цитокіну TNF α , гострофазних білків [123–125]. Прийом макронутрієнтів призводить до оксидативного стресу та прозапальних змін у плазмі та моноклеарних клітинах у периферичній крові. Відзначається підвищення інтерлейкіну-6 та інших прозапальних факторів, таких як С-реактивний протеїн (CRP) та інгібітор активатора плазміногену (PAI-1) [126]. Вважається, що метаболічний/запальний стан сприяє розвитку синдрому системної запальної відповіді та органної дисфункції при гострому панкреатиті [125]. Збільшення в об'ємі перипанкреатичного жиру може посилювати вивільнення адипокіну під час розвитку місцевого паренхімального та жирового некрозу. Цікаво, що після бариатричної хірургії кількість запальних медіаторів значно зменшується [127]. Також прозапальний стан може сприяти виникненню резистентності до інсуліну, тому що TNF α , а також, можливо, й інші прозапальні цитокіни, перешкоджають дії

інсуліну. Відомо, що TNF α призводить до зниження експресії інсулінового рецептору на поверхні клітини [128]. Є дані, що вказують на те, що тип ожиріння також має значення. Так, було показано, що пацієнти з андроїдним типом ожиріння мають більше шансів на розвиток важких форм ГП внаслідок підвищення системної запальної відповіді [129]. Вісцеральний жир продукує більше запальних медіаторів, ніж підшкірний [130].

Сучасні дослідження авторів показують про роль рецепторів, що активують проліферацію пероксисом (ППАР) в регуляції клітинного росту, апоптозу і диференціювання клітин. Ці дані свідчать, що ППАР і агоністи ППАР відіграють важливу роль в запальних реакціях і розвитку пухлини [131]. ППАР представляють собою ліганд-активовані фактори транскрипції, які беруть участь в генетичній регуляції метаболізму ліпідів і енергетичного гомеостазу. Активація даних рецепторів є взаємопов'язана з рівнями таких гормонів як лептин та адипонектин. ППАР активуються специфічними внутрішніми та зовнішніми чинниками [132].

Зниження рівня лептину регулює ППАР та рівні мРНК в первинних моноцитарних макрофагів людини [133]. Адипонектин є інсулін-сенсibiliзуючим і протизапальним гормоном жирової клітини, який має величезний потенціал як терапевтичної мішені для безлічі асоційованих захворювань, у тому числі цукрового діабету 2 типу [134]. Таким чином, агоністи ППАР є перспективною мішенню для розробки лікарських засобів для лікування ожиріння та супутніх патологій.

1.3. Роль γ -рецепторів, що активуються пероксисомним проліфератором, у регуляції обміну речовин

Обмін речовин є одним з найважливіших процесів для підтримання життєдіяльності і гомеостазу організму. Регуляція метаболізму на клітинному

рівні здійснюються насамперед за рахунок активації широкого спектру внутрішньоклітинних сигнальних шляхів і змін експресії генів.

Центральну роль у регуляції активності генів, що відповідають за метаболізм глюкози і ліпідів, відіграють ядерні γ -рецептори, що активуються пероксисомним проліфератором (ППАР γ) [135]. Ці рецептори є транскрипційними факторами і опосередковують частину регуляторних впливів жирних кислот на експресію генів. Постійна активація ППАР γ сприяє адипогенезу і накопиченню тригліцеридів в підшкірній жировій клітковині. Активація рецепторів стимулює диференціацію преадипоцитів у зрілі жирові клітини і апоптоз гіпертрофованих клітин у вісцеральних жирових депо [135, 136].

Захворювання, пов'язані з порушеннями метаболізму, такі як діабет та ожиріння, стали надзвичайно поширеними. Завдяки інтенсивним дослідженням останніх десяти років стало очевидним, що ППАР γ є важливою мішенню для фармацевтичних препаратів у боротьбі з цими захворюваннями. Наприклад, тiazолідиндіони, агоністи ППАР γ , одним з яких є піоглітазон, є одними з найбільш ефективних сьогодні засобів лікування діабету 2 типу. Ці препарати знижують вміст глюкози в плазмі крові шляхом підвищення чутливості до інсуліну тканин (печінки і скелетних м'язів) і покращення функції β -клітин підшлункової залози [137].

Іншою важливою функцією рецепторів є участь в регуляції імунної відповіді, особливо в контролі запалення. Запалення є основою патогенезу таких хронічних захворювань, як бронхіальна астма, атеросклероз, ревматичний артрит і синдром подразненого кишечника. Агоністи ППАР γ характеризуються протизапальними властивостями, тому ППАР γ є важливим посередником у лікуванні запальних процесів [138].

Новітні дослідження показали, що ППАР γ експресується також в шлунково-кишковому тракті. Травна система відіграє важливу роль в обміні речовин. Зміни метаболізму при розвитку різних захворювань відображаються

на зміні функціонального стану травного тракту. Такий зв'язок передбачає участь ядерних рецепторів у функціонуванні травної системи.

1.3.1. Природні і синтетичні ліганди ППАР γ . Природними лігандами ППАР γ є деякі ліпофільні молекули, серед яких довголанцюгові поліненасичені жирні кислоти, ейкозаноїди – метаболіти архідонової кислоти, що утворюються в циклооксигеназному і ліпооксигеназному циклах (наприклад, 15-деоксі- δ (12,14)-простагландин J2 (15д-ПГJ2)), жирні кислоти, що є компонентами окислених ліпопротеїнів низької щільності (9–гідроксиоктадекадієнова кислота і 13–гідроксиоктадекадієнова кислота) [139].

Проте фізіологічно важливого, високо спорідненого ендogenous ліганда ППАР γ не виявлено. Найбільш сильнодіючим ендogenous лігандом є 15д-ПГJ2, який утворюється з ПГD2 і незворотно асоціює з рецепторами шляхом ковалентного зв'язування [132]. Але сумніви щодо його ролі як ліганда зростають: під час адипогенезу, коли активність ППАР γ висока, рівень продукції 15д-ПГJ2 низький [140]. ППАР γ має великий, порівняно з іншими ядерними рецепторами, ліганд-зв'язуючий домен, тому рецептор здатний взаємодіяти з великою кількістю різноманітних сполук. Це веде до припущення про відсутність специфічного ліганда, а ППАР γ виступають як сенсори на вивільнення ВЖК і пов'язаних з ними молекул [132].

Синтетичними лігандами ППАР γ є тiazолідиндіони, клас антидіабетичних ліків, що включають троглітазон, розіглітазон, піоглітазон і сіглітазон [141].

Показано, що поліфенольні сполуки є природними агоністами ППАР γ рецепторів і можуть через активацію їх змінювати метаболізм людини. Опубліковані дослідження показують, що пов'язане з ожирінням запалення, є головним фактором метаболічних порушень у людини, можна запобігти або частково змінити дієтичними поліфенолами. Механічно ці дієтичні поліфеноли здійснюють свою аддитивну та / або синергетичну дію за допомогою одного або декількох механізмів сигналізації та транскрипції,

включаючи механізми, опосередковані NF- κ B, AMPK, PPAR γ і PGC-1 α . Однак більшість дієтичних поліфенолів мають відносно короткий період напіввиведення одноразово, що приймаються через швидкий метаболізм, тому важливо підтримувати їх споживання протягом усього періоду життя [139].

1.3.2. Функції ППАР γ у регуляції обміну речовин. Рецептор залучений до виконання багатьох функцій в організмі, пов'язаних з обміном речовин, зокрема регуляції диференціації адипоцитів, метаболізму ліпідів і глюкози, запальних процесів, чутливості тканин до інсуліну.

Участь в ліпідному метаболізмі. Як і можна очікувати від молекули, чутливої до різних жирних кислот та їх похідних, рецептори ППАР регулюють більшість шляхів, пов'язаних з метаболізмом ліпідів [132]. Вони залучені до контролю генів, що регулюють диференціацію адипоцитів [142], транспорт жирних кислот до кров'яного руслу, їх споживання клітинами (гепатоцитами, адипоцитами), внутрішньоклітинне зв'язування з білками (FABP), активацію ацил-КоА синтази. На відміну від ППАР α , який забезпечує шлях β -окислення жирних кислот в печінці (катаболічна функція), ППАР γ забезпечує синтез і запасання тригліцеридів (анаболічна функція). У зв'язку з цим гени-мішені для ППАР γ кодують білок адипоцитів, що зв'язує жирні кислоти, ліпопротеїнову ліпазу, ацил-КоА синтазу, а також транспортний білок жирних кислот, поверхневий рецептор CD-36, гліцеролкіназу, аквапорин 7 [132].

Механізм синтезу тригліцеридів наступний: ліпопротеїнова ліпаза забезпечує розщеплення ліпопротеїнів плазми крові. ВЖК поступають в адипоцити через канали, утворені транспортним білком жирних кислот і CD-36, гліцерол – через канали, утворені аквапоринами-7. Гліцерол під дією гліцеролкінази перетворюється на гліцерол-3-фосфат, до якого ацил-КоА синтаза приєднує ВЖК, таким чином синтезуючи тригліцериди. ППАР γ також забезпечує синтез фосфоенолпіруват-карбоксикінази. Цей фермент забезпечує перетворення піровиноградної кислоти в дигідроксіацетонфосфат, з якого

може утворюватися вищезгаданий гліцерол-3-фосфат і синтезуються тригліцериди [143].

Модуляція чутливості тканин до інсуліну. Жирові клітини дуже чутливі до рівня інсуліну [144]. Дія інсуліну на обмін ліпідів полягає в стимуляції процесів ліпогенезу в адипоцитах, що супроводжується поглинанням вільних жирних кислот (ВЖК) з ліпопротеїнів низької щільності (ЛПНЩ), які містяться в крові, гальмуванні ліполізу у жировій тканині і вивільнення жирних кислот в кров. У міру збільшення розмірів жирових клітин вони стають резистентними до інсуліну. Одночасно в них (а також в гепатоцитах, міоцитах, а у людини і в моноцитах крові) зменшується число рецепторів інсуліну. Таким чином, інсулін сприяє запасанню жиру в адипоцитах, але чим більші запаси він “створює”, тим важче стає йому збільшувати ці запаси. І це є зрозумілим з фізіологічної точки зору, оскільки такий механізм запобігає подальшому ожирінню і забезпечує підтримання регульованого рівня маси тіла.

Встановлено, що інсулінорезистентність збільшених в розмірах адипоцитів не пов'язана тільки з втратою рецепторів інсуліну; у таких клітинах відмічені і зміни метаболічних процесів. Оскільки у тварин і людей, страждаючих ожирінням, в стані спокою реєструється підвищений рівень ВЖК в крові, можна припустити, що в цитозолі жирових клітин не тільки збільшені розміри крапель триацилгліцеролів, але ще й підвищена концентрація ВЖК або ацил-КоА. Це у свою чергу веде до інгібування ліпогенезу і ферментів гексозомонофосфатного шляху. Отже, зниження кількості рецепторів інсуліну і інсулінорезистентність можуть бути вторинними феноменами по відношенню до змін, що виникають в збільшених клітинах.

Зв'язок ППАР γ з чутливістю тканин до інсуліну дуже спірний. Досліджено зростання чутливості до інсуліну за двох протилежних станів ППАР γ : надмірна активація рецепторів і помірне зменшення їх активності.

Перший стан досягається завдяки дії агоністів ППАР γ тiazолідиндіонів. Внаслідок цього стимулюється адипогенез, що сприяє відтоку вільних жирних кислот з печінки і м'язів до білої жирової тканини і призводить до зниження вмісту тригліцеридів в печінці і м'язах, а також покращення чутливості до інсуліну на фоні зростаючої жирової маси, тобто ожиріння. На відміну, помірне зменшення ППАР γ активності, яке можна спостерігати у гетерозиготних ППАР γ -дефіцитних мишей, зумовлює зниження вмісту тригліцеридів у білій жировій тканині, печінці і м'язах [145]. Отже, підвищення чутливості до інсуліну пов'язане зі зниженням вмісту ліпідів у печінці і м'язах, а у жировій тканині з інгібуванням ліпогенезу або посиленими процесами диференціації, які супроводжуються накопиченням більш чутливих до інсуліну малих жирових клітин у підшкірножировій тканині та індукцією апоптичної руйнації великих жирових клітин як у підшкірножировій, так і вісцеральній жировій тканинах [135].

Новітні дослідження показали зв'язок між активністю ППАР γ , станом розвитку адипоцитів і чутливістю міоцитів і гепатоцитів до інсуліну. Такою зв'язуючою ланкою став гормон, що синтезується адипоцитами – адипонектин. Зростання концентрації цього адипоцитокіну в плазмі крові спостерігається при лікуванні тiazолідиндіонами. Він забезпечує підвищення чутливості до інсуліну шляхом активації АМРК (АМФ-активована протеїнкіназа), яка запускає шлях β -окислення жирів в скелетних м'язах і печінці, а також інгібує синтез глюкози в гепатоцитах шляхом зниження експресії молекул, залучених в гліюконеогенез, таких як ферменти фосфоенолпіруват-карбоксикіназа і гліюкозо-6-фосфатаза [146].

Також результатом використання тiazолідиндіонів є значне зниження концентрації в плазмі крові ще одного адипоцитокіну резистину, що у свою чергу позитивно корелює зі зниженням вмісту жирів в печінці, а отже, чутливістю її до інсуліну [135].

В процесі активації ППАР γ спостерігається зниження вмісту ВЖК і ЛПНЩ в плазмі крові, а також зростання ліпопротеїнів високої щільності

(ЛПВЩ), що позитивно впливає не тільки на чутливість до інсуліну, але й на зменшення ліпотоксичності в β -клітинах підшлункової залози, що покращує функцію секреції інсуліну [139, 147].

1.3.3. Участь ППАР γ в запаленні. Сучасна наукова література розглядає ожиріння як запальну реакцію організму [148–151], тому застосування антиоксидантів при ожирінні набуває актуалізації та доцільності. ППАР γ можна визначити, як протизапальні транскрипційні фактори [152]. Ці рецептори виявляють свої протизапальні ефекти шляхом пригнічення експресії прозапальних цитокінів, молекул адгезії і позаклітинних матриксних білків, а також за рахунок стимуляції продукції протизапальних молекул. Показано, що активатори ППАР γ інгібують синтез прозапальних маркерів, таких як інтерлейкін-1 β , фактор некрозу пухлин- α (ФНП α), інтерлейкін-6, індукцибельна NO-синтаза, матриксна металопротеїназа, моноцитами і макрофагами; інтерлейкіну-2 Т-лімфоцитами; інтерферон- γ індукованого хемоатрактанту- α Т-клітин і ендотеліну-1 ендотеліоцитами [139].

Також очевидно, що ліганди ППАР γ діють через ППАР γ -незалежний механізм. Наприклад, 15д-ПГJ2 зменшує запальну відповідь шляхом пригнічення синтезу індукцибельної NO-синтази [132]. ППАР γ -залежна чи незалежна дія пов'язана з концентрацією ліганда: за високих концентрацій він діє незалежно від рецепторів.

Отже, загальні молекулярні механізми, через які ППАР γ знижує експресію генів запалення, включають:

- пригнічення дії різних транскрипційних факторів, що стимулюють запальні процеси (NF- κ B, AP-1, STAT, NF-AT) шляхом стимулювання генів, що кодують молекули адгезії, цитокіни та їх рецептори;

- формування комплексів з ко-активаторами, наприклад, П γ К-1 (ППАР γ коактиватор-1), СВР (CREB-зв'язуючий білок) і p300, що знижує експресію генів, які кодують запальні молекули [152].

ППАР γ знижує активність транскрипційного фактора c-Jun, а отже, його зв'язування з промотором гену ендотеліну-1. Також рецептори пригнічують синтез інтерферону- γ , ліпополісахарид-індуковану експресію інтерлейкіна-12 в макрофагах і індукцибельної NO-синтази за рахунок взаємодії з p65/p50, внаслідок чого знижується активність NF- κ B, AP-1, STAT [144]. ППАР γ блокує каскад мітоген-активованих протеїнкіназ (МАПК), результатом чого є зниження проліферації і міграції гладеньких м'язових клітин судин. Активація Т-лімфоцитів пов'язана з експресією інтерлейкіна-2. В активованих лімфоцитах ППАР γ , активований троглітазоном і 15д-ПГJ2, знижує продукцію інтерлейкіну-2, таким чином знижується запальна реакція [152].

Протизапальна дія ППАР γ має позитивні наслідки у лікуванні таких гострих і хронічних захворювань, як атеросклероз, синдром запального кишечника, гастрит, ревматичний артрит та інші [152, 153]. Зокрема активація рецептора забезпечує пригнічення розвитку атеросклерозу, за рахунок інгібіції зв'язування моноцитів і лімфоцитів з артеріальною стінкою, а також міграції і проліферації ГМК судин [154]. Крім того активатори ППАР γ пригнічують синтез ГМК судин вазоконстрикторного пептиду ендотеліну-1 і ангіотензин II рецептора 1-ого типу. Таким чином блокується дія ангіотензину II (який стимулює клітинний ріст і гіпертрофію), що перешкоджає розвитку фіброзних утворів [155]. ППАР γ посилює експресію CD-36 у макрофагах, таким чином посилюється захоплення холестеролу з плазми крові і зменшення співвідношення загального холестерину до холестерину в ліпопротеїнах високої щільності [153]. Проте також є дані, що свідчать про прозапальну дію агоністів ППАР γ . Наприклад, троглітазон збільшує інтерлейкін-1 активований синтез оксиду азоту (NO). Хоча цей ефект є ППАР γ -незалежний [152].

Таким чином наведений літературні дані в цьому підрозділі свідчать про залучення ППАР γ до багатьох важливих процесів метаболізму організму: регуляції диференціації адипоцитів, метаболізму ліпідів і глюкози та запальних процесів. Детально вивченні механізми підвищення чутливості тканин до інсуліну агоністами ППАР γ . Оскільки травна система відіграє

важливу роль в обміні речовин, то передбачається участь цих ядерних рецепторів у контролі її функцій. Тому необхідно дослідити роль ППАР γ у регуляції обміну речовин. На сьогодні значна увага науковців приділяється питанню вивчення широкого спектру поліфенольних речовин, які володіють протизапальними та антиоксидантними властивостями та є агоністами ППАР γ рецепторів, ці властивості поліфенольних сполук надають перспективу до застосування для лікування ожиріння [156, 157].

1.4. Поліфеноли: перспективи застосування для профілактики і лікування ожиріння

За останні роки було створено і впроваджено кілька препаратів для лікування ожиріння. Але вже не один раз різні ліки для боротьби із зайвою вагою вводилися в клінічну практику, а незабаром знімалися з виробництва через виявлення небезпечних побічних ефектів.

Сибутрамін — препарат, що має центральний механізм дії і знижує апетит. Небажані ефекти сибутраміну: анорексія, закрепи, головний біль, серйозні кардіоваскулярні ускладнення, сухість у ротовій порожнині. У 2010 р. експерти призупинили дію торгової ліцензії. Інші препарати центральної дії (норадренергічні засоби), такі як, наприклад *Фентермін*, схвалені FDA, однак рекомендовані лише для короткочасного лікування у якості доповнення до основного лікування ожиріння. *Рімонабант* — препарат, що застосовується для зниження маси тіла та боротьби з палінням. Препарат блокує канабіоїд-1 рецептори центру голоду, що знаходяться в гіпоталамусі. Викликає шлунково-кишкові розлади, зміни настрою. На сьогодні лише один лікарський препарат для схуднення – *Орлістат* можна приймати впродовж тривалого часу. В основі його дії лежить зменшення всмоктування жирів у кишечнику. Він викликає стійку втрату ваги, але також має побічні ефекти: через те що жирна їжа «прослизає» через товсту кишку, можуть виникати метеоризм і

нетримання, іноді одночасно. Також головний біль, запаморочення, порушення сну, тривожний стан пацієнтів [14, 158].

На сьогодні, незважаючи на суворий відбір і кілька рівнів клінічних випробувань на тваринах і людях, ніша дієвих, але нешкідливих засобів для схуднення, як і раніше залишається незайнятою. Тому розробка нових нетоксичних засобів профілактики та лікування ожиріння є одною з актуальніших проблем науковців всього світу.

Отже, за останні роки було створено і впроваджено кілька препаратів для лікування ожиріння. Але вже не один раз різні ліки для боротьби із зайвою вагою вводилися в клінічну практику, а незабаром знімалися з виробництва через виявлення небезпечних побічних ефектів.

Експериментальні роботи з вивчення класу поліфенольних сполук і особливостей їх метаболізму виявили широкий спектр дії цих сполук. Незважаючи на те, що хімічна будова поліфенольних сполук дотепер остаточно не встановлена внаслідок складної полімерної структури й великої різноманітності, їх фармакологічні ефекти досліджувалися досить інтенсивно. За хімічною структурою до поліфенольних сполук відносять меланіни, що виступають полімерами хіноїдних сполук, мономерами яких є індольні та фенольні угруповання. Наявність неспарених електронів у структурі дозволяє реалізовувати меланінам широкий спектр протекторно-регуляторних функцій таких як антиоксидантну, фотопротекторну та антирадикальну, блокуючи цитотоксичні короткоживучі вільні радикали, нейропротекторну, підвищуючи регенеративну здатність нервових волокон при ураженнях центральної нервової системи за рахунок відновлення кровопостачання уражених тканин. Завдяки властивостям напівпровідника меланін бере участь у біоелектричних процесах в головному мозку та виконує важливу фізіологічну функцію протектора проти дії пероксинітриду, який вважають медіатором нейротоксичних процесів. Таким чином, меланін є ефективним кумулятором «шкідливих» неспарених електронів здатний впливати на хід метаболічних реакцій на різних рівнях організації живого організму.

На сьогодні значна увага науковців приділяється питанню вивчення широкого спектру поліфенольних речовин, які володіють протизапальними та антиоксидантними властивостями [156, 157].

Відомо, що поліфеноли, біологічно активні сполуки рослинного походження, завдяки своїм потужним антиоксидантним, протизапальним, антипроліферативним і антиапоптозним властивостям значно послаблюють метаболічні зміни за інсулінорезистентності [67, 159–162].

Показано, що утримання щурів на високофруктозній дієті приводить до майже двократного збільшення рівня глюкози в сироватці крові. Відомо, що високофруктозна дієта сприяє розвитку гіперглікемії за декількома механізмами. Передусім фруктоза викликає в печінці зниження активності глюкокінази – ферменту, завдяки якому даний орган поглинає до 60% глюкози, та активацію глюкозо-6- фосфатази – ферменту, що вивільнює глюкозу в кров [163]. Таким чином, під дією фруктози зменшується поглинання глюкози та збільшується її вивільнення. Токсичність надмірної кількості глюкози виявляється в активації низки шляхів, які супроводжуються інтенсифікацією утворення вільних радикалів та модифікаціями біомолекул. Серед них: пригнічення гліколізу, активація сорбітолового та гексозамінового шляхів, глікозилювання білків, аутоокислення глюкози, інтенсифікація функціонування дихального ланцюга тощо [164]. Одним із продуктів аутоокислення глюкози є високореакційний кетоальдегід – метилгліоксаль [165].

Також, показано, що збільшення об'єму адипоцитів при ожирінні супроводжується зменшенням кількості інсулінових рецепторів у плазматичній мембрані та порушенням ранніх етапів трансдукції інсулінового сигналу [166], тобто зниженням чутливості клітин до інсуліну, що погіршує гіперглікемію. У цей же час спостерігається зростання рівня інсуліну в 1,26 разу, що, очевидно, є компенсаторною реакцією β -клітин на накопичення глюкози. Одночасні гіперглікемія та гіперінсулінемія обумовлені розвитком

нечутливості клітин до гормону, що підтверджується підвищенням коефіцієнта інсулінорезистентності в 1,52 разу [167].

За даними В.П. Филімоненко та ін. (2017) лікувально-профілактичне введення кверцетину, епігаллокатехіну галлату та поліфенолів винограду чинить нормалізуючий вплив на всі досліджені показники вуглеводного обміну та інсулінорезистентності. Так, гіперглікемія при введенні кверцетину на тлі фруктозної дієти зменшується на 26%, при введенні епігаллокатехіну галлату – на 15% і при введенні поліфенолів винограду – на 40%. Відповідно, дещо кращий вплив поліфенолів винограду спостерігається на коефіцієнт інсулінорезистентності. Концентрація метилгліоксалу виразніше знижується під дією епігаллокатехіну галлату (на 29%) і поліфенолів винограду (на 23%) [167]. Нормалізація інших показників була приблизно однаковою при введенні усіх досліджених субстанцій поліфенолів. Окреме введення досліджених субстанцій здоровим тваринам не впливало на жоден із вивчених показників. Встановлені захисні ефекти вивчених субстанцій обумовлені низкою антиоксидантних, антизапальних, антидіабетичних і гіполіпідемічних властивостей поліфенолів. Відомо, що кверцетин прискорює поглинання глюкози клітинами печінки і скелетних м'язів шляхом стимуляції транслокації та експресії переносників глюкози GLUT4, а також використання глюкози в клітинах [168].

У тонкий кишці даний поліфенол пригнічує всмоктування глюкози і фруктози. Більше того, кверцетин інгібує сигнальні шляхи, які беруть участь у розвитку запалення та резистентності до інсуліну за високофруктозної дієти [169]. Вагомий внесок у протекторні ефекти кверцетину вносять також його потужні антиоксидантні властивості: здатність нейтралізувати вільні радикали і активувати антиоксидантні ферменти (СОД, глутатіонпероксидазу та каталазу) [168]. Гіпоглікемічний ефект ЕГКГ обумовлений як поліпшенням транспорту глюкози в клітини, так і пригніченням ключових ферментів глюконеогенезу (ФЕПкарбоксикінази та глюкозо-6-фосфатази) [169]. Крім того, в антидіабетичні ефекти цього поліфенолу роблять свій внесок і

антиоксидантні та антизапальні властивості [160, 170]. Поліфенольний концентрат винограду виявляє більш виражені захисні впливи щодо коефіцієнтів глюкозного гомеостазу, очевидно, завдяки різноманітнішому складу і, відповідно, механізмам попередження та лікування інсулінорезистентності. Крім кверцетину та ЕГКГ, до складу поліфенолів винограду входять інші представники поліфенолів: флавоноїди (антоціани, рутин, катехіни, проантоціанідини, таніни) та нефлавоноїди (галова, бузкова, кавова і елагова кислоти, ресвератрол). Кожен із компонентів концентрату виявляє низку протекторних властивостей, що в сумі надає потужніших ефектів субстанції. Так, відомо, що антоціанідини індукують аутофосфорилування інсулінового рецептора, сприяючи транслокації переносника глюкози GLUT4, тобто поглинанню глюкози клітинами. Зменшенню гіперглікемії сприяє також пригнічення антоціанідинами глюкозо-6-фосфатази, тобто вивільненню глюкози з печінки [168]. Дані флавоноїди пригнічують апоптоз β -клітин підшлункової залози, спричинений гіперглікемією [165]. Рутин посилює поглинання глюкози м'язовими клітинами, модулюючи активності MAP- та ФІ-3-кіназ [168]. Катехін підсилює надходження глюкози в клітини, стимулюючи синтез мРНК і трансляцію GLUT4 [160]. Ресвератрол також підвищує вміст транспортерів глюкози GLUT4 та її надходження до клітин, пригнічує експресію PPAR γ [168]. Галова кислота нормалізує гомеостаз глюкози та інсуліну, активуючи AMPK/Sirt1/PGC1 β сигнальний шлях [171]. Крім того, поліфеноли винограду є інгібіторами ферментів гідролізу вуглеводів та переносника GLUT1 у шлунково-кишковому тракті, тобто знижують утворення та всмоктування глюкози в тонкій кишці [160], а також інгібують утворення прозапальних факторів (ФНПб, ІЛ-6, ІЛ-1, МХФ) [162]. Не менш важливими є антиоксидантні потужності компонентів поліфенольного екстракту. Поліфеноли інгібують процеси ПОЛ як на стадії ініціації, так і подовження ланцюгу (безпосередньо інактивують радикали, а також стабілізують мембрани і зменшують ефективність взаємодії радикалів із новими

молекулами), інгібують ферменти утворення радикалів і стимулюють антиоксидантні ферментні системи. До того ж поліфенольні сполуки діють як хелатори металів зі змінною валентністю, а також захищають аскорбінову кислоту і ФНПб, ІЛ-6, ІЛ-1, МХФ β -токоферол і відновлюють їх окиснені форми [160, 162, 168].

Меланіни – це біологічні пігменти поліфенольної природи, які присутні в тканинах рослин, тварин і багатьох мікроорганізмів. В організмі людини цей пігмент надає забарвлення волоссю, бровам, віям, райдужній оболонці ока, шкірі. Наявність нервових волокон у різних відділах головного мозку, що містять меланін, є свідченням того, що меланін може виконувати функцію нейромодулятора [172]. Завдяки властивостям напівпровідника нейромеланін бере участь у біоелектричних процесах в головному мозку та виконує важливу фізіологічну функцію протектора проти дії пероксинітриту, який вважають медіатором нейротоксичних процесів [173]. Нейромеланін має спільне походження з катехоламінами та знаходиться у багатьох дофамінергічних нейронах чорної субстанції мозку людини. Важливу роль в утворенні меланіну відіграють амінокислота тирозин та фермент тирозиназа, який «запускає» перші етапи біосинтезу меланіну [174].

Меланін синтезується за рахунок окислення тирозину через фермент тирозиназу. При вивченні метаболізму меланіну на різних стадіях меланогенезу у тварин, було виявлено, що меланін синтезується у спеціалізованих субклітинних органелах пігментних тканин тварин – меланосомах. Інтенсивність утворення меланіну, в основному залежить від концентрації тирозину в меланосомах; рівень тирозину контролюється тирозинамінотрансферазою. Висока активність ферменту була виявлена в печінці та шкірі, однак, дослідження на морських свинках показали, що найбільший активний даний фермент був у амеланотичних тварин [175]. Тому функція тирозинамінотрансферази в меланогенезі неспецифічна.

Експериментальні роботи по вивченню природи різних видів меланіну та особливостей їх метаболізму виявили поліфункціональність даних сполук.

Властивості цих пігментів, які роблять їх схожими на молекулярні сита та іонообмінні смоли, їх висока електронно-акцепторна здатність, присутність стабільних вільних радикалів у високих концентраціях та напівпровідникові властивості дозволяють успішно використовувати меланіни в медицині, фармакології та інших галузях [176].

В шкірі тварин і людини присутність і новоутворення (засмага) меланіну є захисною реакцією організму на дію ультрафіолетового опромінення. Меланін у шкірі людини є гетерогенною сумішшю меланінових полімерів, попередників та метаболітів. Поглинаючи кванти променевої енергії, розсіюючи її, меланіни, що знаходяться в оболонках та спорах грибів, в поверхневих тканинах рослин, тварин та людей перешкоджають проникненню радіації та пошкодженню внутрішніх структур. Меланін є ефективним фото- і радіопротектором [177]. Проте цей захист не зводиться до простого екрануючого ефекту. Доказом цього є структура меланінів в шкірі: максимальна пігментація та максимальний захист спостерігається у великих меланосомах, у яких сконцентрований меланін, та які розміщені по одній в цитоплазмі кератиноцитів.

Меланін є ключовим компонентом пігментної системи людини. Ступінь пігментації людської шкіри, волосся і очей в значній мірі визначається здатністю спеціалізованих клітин синтезувати чорно-коричневий меланін і жовто-червоний феомеланін [178]. В шкірі людини виявлено 2 типи меланіну: еумеланін і феомеланін. Найбільш інтенсивно вивчається структура еумеланіну [174]. Більш високі концентрації еумеланіну характеризують темний фенотип шкіри включаючи засмаглу шкіру. Концентрації феомеланіну в шкірі значно відрізняються в межах тієї чи іншої групи людей, але шкіру з високим вмістом феомеланіну мають рудоволосі північні європейці, а також жителі східної Азії та корінні американці.

Шкірний пігмент меланін приймає участь у мімікрії, соціальній комунікації, а також захищає від шкідливого впливу сонячного опромінення. В епідермісі меланін синтезується в меланоцитах. Виявлено, що внаслідок

наявності стабільного вільнорадикального стану, здатності до зворотнього окиснення та відновлення меланіни забезпечують захист організму від екстримальних умов, які генерують в живій клітині утворення вільних радикалів, що здатні порушувати процеси нормальної життєдіяльності клітини. В процесі захисної дії антиоксиданти поступово виводяться з організму, і тому необхідно постійно відновлювати їх кількість з продуктами харчування чи фармпрепаратами. Уже в невеликих кількостях (0,01—0,001 %) антиоксиданти помітно гальмують процеси окиснення біосистем, коли потужний внутрішньоклітинний антиоксидантний захист доповнюється позаклітинним [179].

Поліфеноли, каротиноїди, вітаміни та амінокислоти захищають тканини організму від оксидативного стресу, відносяться до антиоксидантів, які можуть попереджувати розвиток різноманітних хвороб, пов'язаних з оксидативним стресом, таких як рак, кардіоваскулярні захворювання, запалення та інші [5, 52, 180]. Останнім часом ожиріння стало визнано як стан хронічного, системного запалення. Провідну роль у патогенезі ожиріння належить оксидативному стресу, що супроводжується інтенсифікацією вільнорадикального окислення (ВРО) і зниженням активності антиоксидантного захисту [181]. Він є одним з патогенетичних ланок атеросклерозу, артеріальної гіпертензії, ішемічної хвороби серця, неалкогольного стеатозу (або стеатогепатиту) печінки. За даними досліджень, окисна модифікація ліпідів сприяє накопиченню ліпопротеїнів, акумуляції ефірів холестерину в макрофагах. Порушується функція ендотеліальних клітин і тромбоцитів [18, 66, 182].

В даний час ВРО розглядається як універсальний механізм регуляції мембранозалежних процесів, і відповідно, функцій клітини, а з іншої сторони як неспецифічний механізм ушкодження клітинних структур, біомолекул з порушенням метаболізму клітини, що призводить до апоптозу або некрозу. Дисбаланс продукції адипокінів і прозапальних цитокінів є однією з причин розвитку оксидативного стресу при ожирінні. Адипоцити є джерелом

прозапальних цитокінів, у тому числі TNF-alpha, IL-1 і IL-6, що є сильними стимуляторами продукції АФК макрофагами і моноцитами [183].

Оксидативний стрес при ожирінні призводить до окисної модифікації білків, ліпідів, дезоксирибонуклеїнової кислоти (ДНК) і, в кінцевому підсумку, до змін у модуляції експресії генів і сигнальних шляхів [183]. Ці зміни клітинних і тканинних компонентів сприяють хронічному запаленню, і, таким чином, призводять до розвитку захворювань, таких як ожиріння та інсулінорезистентність. Оксидативний стрес може бути однією з причин розвитку ожиріння, стимулюючи відкладення білої жирової тканини і змінюючи споживання їжі: за даними досліджень, окислювальний стрес збільшує проліферацію преадипоцитів, диференціювання адипоцитів і розмір зрілих адипоцитів. Надмірне харчування є насамперед механічним стресом для клітини і її органел. При переїданні інтенсивність процесів ліпогенезу і протеїногенезу значно зростає, тому ендоплазматична сітка не встигає в достатній мірі виконувати свої функції. Постійне підвищення активності ендоплазматичного ретикулуму призводить до його виснаження. У відповідь запускаються стресові реакції. Стрес у ендоплазматичній сітці супроводжується розвитком оксидативного стресу з накопиченням вільних радикалів та АФК у клітині [184].

Наведений огляд літератури свідчить про те, що в сучасній науковій літературі активно дискутується питання впливу антиоксидантів, а особливо поліфенольної природи, на жировий обмін та ожиріння. Недавнє дослідження показало наявність меланіну (поліфенольна сполука) у вісцеральній жировій тканині [49]. Цей пігмент, як відомо має антиоксидантні і антизапальних властивості [49, 52, 150]. З наведених даних літератури стає зрозумілим те, що перспективним є застосування природних антиоксидантів поліфенольної будови, що є агоністами ППАР для профілактично-лікувального засобу при ожирінні, що і обумовило наші дослідження.

РОЗДІЛ 2

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1. Умови проведення експерименту

Робота виконана на білих статевозрілих нелінійних щурах, які утримувались в умовах акредитованого віварію ННЦ «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка згідно зі "Стандартними правилами по упорядкуванню, устаткуванню та утриманню експериментальних біологічних клінік (віваріїв)" з дотриманням загальних принципів біоетики у відповідності до Хельсінської декларації (Всесвітня медична асамблея, 1964), Міжнародних принципів Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986), Декларації принципів толерантності (28 сесія ЮНЕСКО, 1995), Універсальної декларації по біоетиці та правах людини (ООН, 1997), норм Конвенції про захист прав людини у зв'язку з впровадженням нових біомедичних технологій, прийнятою у 1997 році у м. Ов'єдо (Іспанія) та підписаною Верховною Радою України у 2002 році, Закону України № 3447 IV "Про захист тварин від жорстокого поводження" [185]. Прилади, що використовувалися для наукових досліджень, підлягали метрологічному контролю.

2.2 . Схеми дослідження впливу меланіну на глутамат-індуковане ожиріння

Дослідження були проведені за такою схемою:

I серія — контрольні щури, в яких вимірювали моторну активність шлунка баланографічним методом (n=10 в кожній групі).

II серія — щури, яким вводили глутамат натрію (n=10 в кожній групі).

III серія — щури, яким вводили глютамат натрію та меланін (n=10 в кожній групі).

Новонародженим щурам групи №1 підшкірно у об'ємі 8 мкл/г вводили плацебо (фізіологічний розчин). Новонародженим щурам групи №2 та групи №3 підшкірно у об'ємі 8 мкл/г вводили глютамат натрію (4 мг/г) відповідно на 2, 4, 6, 8, 10 день життя. Впродовж 4 місяців після народження щури знаходилися на звичайному харчовому раціоні. Щури групи №3 отримували 1 мг/кг водного розчину меланіну (внутрішньошлунково, в/ш). Група №2 відповідно отримувала 2,5 мл/кг води (в/ш). Введення починали через 4 тижні після народження та продовжували двотижневими курсами з перервами у 2 тижні.

За добу до проведення експерименту тварини були піддані харчовій депривації з вільним доступом до води. Прилади, які були використані для наукових досліджень, підлягали метрологічному контролю.

В роботі було використано природний меланін, продуцентами якого є дріжджеподібні гриби є антарктичні мікроорганізми *Pseudonadsoniella brunea* (раніше *Nadsoniella nigra* X-1), висіяні спочатку на ПП „ЧАГА”, а потім в Інституті мікробіології і вірусології ім. Заболотного НАН України із зразків вертикальних скель о.Галіндез (Українська Антарктична станція академік Вернадський), наданих ДУ Національним антарктичним науковим центром Міністерства освіти і науки України.

Впродовж 4 місяців у щурів всіх груп було проведено аналіз змін маси тіла. 4-місячних тварин декапітували, збирали кров у пробірки, видаляли та зважували вісцеральний жир. Вимірювали довжину тіла, розраховували індекс маси тіла (ІМТ) (відношення маси тіла (г) щурів до квадрату довжини тіла (см²)) та індекс Лі (відношення кубічного корення маси тіла (г) щурів до довжини тіла у сантиметрах).

Кров відстоювали не менше 30 хв при температурі 38°C і центрифугували 10 хв при 1000g, після чого здійснювали відбір сироватки крові.

Визначали в сироватці крові щурів вміст прозапальних цитокінів (IL-1 β (A), IL-12 β p40 (B), INF- γ (B)) та антизапальних цитокінів (IL-4 (A), IL-10 (B), TGF- β (B)) методом імуноферментного аналізу (ІФА). Імуноферментний аналіз проводили у мікропланшетах із сорбційною здатністю за стандартною методикою для розчинних білків [186]. Матеріалом дослідження були солюбілізовані фракції сироватки щурів, білковий матеріал якої використовували як специфічні антигени (досліджувані цитокіни) до відповідних антитіл. Для визначення IL-4 та IL-10 використовували мишині моноклональні антитіла (Sigma), для IL-12 β p40 – кролячі поліклональні антитіла (Sigma), для IL-1 β та INF- γ – козячі поліклональні антитіла (Sigma). Антигени розводили 50 мМ Трис-НСl буфером (рН 7,4), що містив 130 мМ NaCl, до концентрації 10 мкг/мл та інкубували у комірках планшетів протягом 60 хв при 37°C та постійному перемішуванні. Для видалення антигена, що не зв'язався, комірки відмивали Трис-НСl буфером (рН 7,4), що містив 130 мМ NaCl. Надалі інкубацію проводили у 50 мМ Трис-НСl буфері (рН 7,4), що містив 130 мМ NaCl (робочий буфер). Для блокування неспецифічних місць зв'язування використовували 3% розчин знежиреного молока або 2% розчин БСА. Комірки відмивали робочим буфером з вмістом 0,05% Твіну-20 та інкубували з розчином первинних антитіл протягом 60 хвилин при 37°C. Далі проводили відмивку робочим буфером з вмістом 0,05% Твіну-20 та інкубували з вторинними антитілами (антимишачими, антикролячими або антикозячими), кон'югованими з лужною фосфатазою протягом 60 хвилин при 37°C. По закінченню інкубації комірки знову відмивали робочим буфером з вмістом 0,05% Твіну-20 та інкубували з субстратом для лужної фосфатази (1 мг/мл pNPP у 10% диетаноламіні, рН 9,8) при 37°C протягом 60 хв. Вимірювали оптичну густину при довжині хвилі 405 нм (робоча хвиля) та 492 нм (похибка вимірювання) на мікропланшеточному спектрофотометрі “Synergy” (BioTek, США). Вміст антигену, специфічного до відповідних первинних антитіл, у досліджуваних зразках розраховували як різницю екстинцій при 405 нм та 492 нм і виражали в умовних одиницях (ум.од.).

ІФА метод також використовували для визначення рівнів адипонектину в сироватці крові та лептину в вісцеральному жирі за допомогою комерційних наборів «BioVendor» (Чехія).

2.3. Методи гістологічного дослідження

Вплив на розвиток неалкогольного жирового ураження печінки оцінювали шляхом гістологічного дослідження. Після вилучення органу, вирізали шматочки розміром до 1 см, зрізи тканин фіксували у 10 % розчині нейтрального формаліну. Для проводки використовували матеріалу після фіксації використовували гістопроектор карусельного типу Leica TP 1020 , для заливки парафінових блоків станцію Leica RM 2125 RT. Зрізи товщиною у 3-4 мкм фарбували гематоксилін-еозином. Крім того виконували гістохімічне дослідження, включаючи ШІК реакцію та забарвлення на ретикулінові волокна, а також забарвлення суданом III для виявлення жиру.

Гістологічні препарати аналізували при збільшенні мікроскопа у 100, 200, 400 і 1500 разів.

Використовували мікроскоп Olympus BX 43 з фотокамерою Olympus SC-50 та програмою cellSens Entry CS 1.16. Імуногістохімічне (ІГХ) виконували на парафінових зрізах; проводили оцінку експресії маркерів NF- κ B ,TNF α COX-2 та CD 68 в тканинах печінки та підшлункової залози, використовували системи візуалізації Diagnostig Bio System (Mouse/ Rabbit Poly Vue Plus HRP/ DAB Detection System).

Окрім загального описового морфологічного дослідження печінки проводили оцінку щодо наявності та виразності NAFLD за загальновизнаними гістопатологічними критеріями: стеатоз, лобулярне запалення та балонна дегенерація гепатоцитів. Гістологічні зміни оцінювали на основі наступної системи:

- Стеатоз оцінювали як 0, коли <5% клітин демонстрували виразне ектопічне накопичення жиру; 1 - якщо 5-33%; 2 – коли 34-66% і 3 – якщо > 66% гепатоцитів були з крапельками жиру.

- Лобулярне запалення вважалось як 0 - немає; 1 < 2 вогнищ у полі зору при збільшенні 20; 2 - за наявності 2-4 вогнищ, 3 – коли виявлялося > 4 вогнищ у полі зору при збільшенні 20.

- Балонна дегенерація гепатоцитів (0 - відсутня; 1 – визначається у незначній кількості гепатоцитів; 2 – багато уражених гепатоцитів).

Оскільки запалення низького ступеня є одним з провідних механізмів ураження печінки при ожирінні, прозапальну активацію гепатоцитів аналізували за допомогою імуногістохімічної оцінки клітин на наступні маркери - CD68 (маркер макрофагів), експресії NF-κB (провідний мастер-регулятор прозапальної активації клітин) та TNF-альфа (прозапальний цитокін). Імуногістохімічне забарвлення проводили відповідно до стандартного протоколу.

Просторове розповсюдження експресії NF-κB оцінювали напівкількісним методом на основі визначення відсотка позитивних клітин наступним чином:

- 0% позитивних клітин = негативно;
- 1–25% позитивних клітин = 1+;
- 26–50% позитивних клітин = 2+;
- 50% позитивних клітин = 3+.

Інтенсивність експресії NF-κB та TNFα оцінювали як слабку (1+), помірну (2+) та сильну (3+). Загальну виразність експресії NF-κB та TNFα розраховували як інтенсивність, помножену на розповсюдженість експресії і визначали як низьку (при кількості балів <6) або високу (при кількості балів > 6).

Гістологічне дослідження підшлункової залози виконували при забарвленні гістологічних препаратів гематоксилином та еозином. При загально морфологічному дослідженні оцінювали паренхіму (екзокринну

частину, представлену ацинусами, та ендокринні островці) та строму – міжчасточкові перегородки та внутрішньочасточкову пухку волокнисту сполучну тканину.

При дослідженні екзокринної частини підшлункової залози оцінювали щільність розташування ацинусів, виразність у них гомогенної та зимогенної зон, стан периацинарної стромы та судин мікроциркуляторного русла навколо. В перегородках сполучної тканини між часточками визначали міжчасточкові протоки. Оцінювали епітелій, що їх вистеляє, стан перидуктальної стромы.

Під час дослідження ендокринних островців проводили оцінку наступних параметрів:

- 1) Питому частку ендокринних островців у структурі паренхіми – розраховували як %, який займають ендокринні островці у зрізі. Оцінку даного параметру проводили при збільшенні 200, використовуючи квадратно-вузлову тест-систему.
- 2) Розмір островців – оцінювали шляхом вимірювання діаметру островця у найбільшому розмірі (ID1, виміряний через центр островця) та другого діаметру (ID2), оціненого перпендикулярно до ID1 (у мкм).
- 3) На основі цих показників розраховували площу островців (IA) у зрізі (у мкм²);
- 4) Форм-параметр островців – показник, який дозволяв об'єкти візувати оцінку форми островців (розраховували як співвідношення ID2 / ID1).
- 5) Клітинність островців (або кількість клітин у межах одного островця) оцінювали шляхом підрахунку кількості ендокринних клітин.
- 6) Кількість клітин на одиницю площі островця (кількість клітин на 1 мкм² × 10³) – показник, що дозволяв оцінити щільність клітин у островцях та верифікувати наявність/відсутність гіперплазії інсулоцитів.

Для оцінки наявності та вираженості запальних змін на тлі експериментального ожиріння враховували виразність лейкоцитарної інфільтрації стромы у внутрішньочасточковому та міжчасточковому

компаратменті. З метою візуалізації макрофагів, проводили імуногістохімічне дослідження з використанням моноклональних антитіл до CD68 (кількістю оцінювали кількість і розподіл CD68 позитивних клітин). Крім того, оцінювали експресію таких відомих маркерів запалення як NF- κ B і циклооксигеназа 2 (COX2), а також експресію TNF- α імуногістохімічно за стандартним протоколом. Підраховували відсоток імунопозитивних клітин в різних компартментах ПЗ. Інтенсивність імунопозитивних клітин оцінювали напівкількісним методом, як слабку (1+), помірну (2+) або виражену (3+).

2.4. Статистична обробка результатів

Всі отримані дані піддавались статистичній обробці. Для перевірки розподілу на нормальність було застосовано W тест Шапіро-Уїлксона. Оскільки наші дані виявилися нормально розподіленими, ми розраховували середнє значення (M), похибку середнього (m), стандартне відхилення. Порівняння виборок проводилося за допомогою критерію t за Стьюдентом. Рівень значущості для наших даних $p < 0,05$ [187].

РОЗДІЛ 3

ДОСЛІДЖЕННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ ФАРМАКОЛОГІЧНОЇ КОРЕКЦІЇ ПОЛІФЕНОЛЬНОЮ СПОЛУКОЮ МЕЛАНІН ЗА УМОВ ГЛУТАМАТ- ІНДУКОВАНОГО ОЖИРІННЯ У ЩУРІВ

Ожиріння без перебільшення можна назвати епідемією світового масштабу, оскільки кількість осіб, як серед дорослого, так і серед дитячого населення, що мають надмірну вагу тіла, постійно збільшується [19]. І якщо ця тенденція збережеться, то все населення економічно розвинутих країн до середини наступного сторіччя буде хворіти на ожиріння. За даними вчених з університету Північної Кароліни кількість людей з надлишковою масою тіла перевищує кількість голодуючих. Це стосується як багатих країн, так і країн, що розвиваються. У Сполучених Штатах та інших країнах ожиріння різко зросло з 1980 року. У період з 1980 по 2004 рік поширеність на ожиріння зросла з 15% до 33% серед дорослого населення, і поширеність надлишкової маси тіла у дітей зросла більш ніж на 6% до 19% [13, 77]. Надмірна вага у дитинстві часто призводить до ожиріння у дорослому віці [14, 61, 103, 108]. За даними ВООЗ у Європі на ожиріння страждає від 20% до 30% дорослого населення. У 2005 році близько 20 мільйонів дітей віком до 5 років мали надлишкову вагу тіла, а вже у 2010 було зафіксовано 43 мільйони. За даними ВООЗ в Україні ожиріння серед чоловіків складає 16%, а серед жінок – 26%. Серед дітей і підлітків ожиріння становить 11,1% [72, 80]. Отже, проблема ожиріння для України не менш актуальна, ніж для будь-якої іншої країни світу, проте увага населення до цієї патології якщо і акцентується, то головним чином на її естетичній стороні. І лише в останні роки почали говорити та писати про те, що ожиріння – це тяжке захворювання.

Сучасна наукова література розглядає ожиріння як запальну реакцію організму [148–151], тому застосування антиоксидантів при ожирінні набуває актуалізації та доцільності. Поліфеноли, каротиноїди, вітаміни та амінокислоти захищають тканини організму від оксидативного стресу, відносяться до антиоксидантів, які можуть попереджувати розвиток різноманітних хвороб, пов'язаних з оксидативним стресом, таких як рак, кардіоваскулярні захворювання, запалення та інші [50, 188, 189].

Останнім часом ожиріння визнають як стан хронічного системного запалення. Провідна роль у патогенезі ожиріння належить оксидативному стресу, що супроводжується інтенсифікацією ВРО і зниженням активності антиоксидантного захисту [181]. Він є одним з патогенетичних ланок атеросклерозу, артеріальної гіпертензії, ішемічної хвороби серця, неалкогольного стеатозу (або стеатогепатиту) печінки. За даними досліджень, окисна модифікація ліпідів сприяє накопиченню ліпопротеїнів, акумуляції ефірів холестерину в макрофагах. Порушується функція ендотеліальних клітин і тромбоцитів [48, 182, 190].

У сучасній науковій літературі активно дискутується питання впливу антиоксидантів на жировий обмін та ожиріння. Дослідниками було показано наявність меланіну в вісцеральній жировій тканині [49]. Цей пігмент, як відомо має антиоксидантні та антизапальні властивості [159, 160].

У Навчально-науковому центрі «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка було встановлено, що меланін, продуцентом якого є антарктичні мікроорганізми *Pseudonadsoniella brunea* (раніше *Nadsoniella nigra* X-1) володіє наступними властивостями: стреспротекторною, антиоксидантною, протизапальною, гіпосекреторною, антивиразковою, антибактеріальною, дерматотропною та антиканцерогенною дією [53–56]. Також останніми дослідженнями було показано, що меланін запобігає експериментальному ожирінню на моделі з висококалорійною дієтою [57] та моделі прогестерон-індукованого ожиріння [58]. Проте, на сьогодні не було проведено досліджень на моделі вісцерального

ожиріння, викликаного неонатальним введенням глютаму натрію, хоча ця модель відтворює клінічну картину вісцерального ожиріння при цукровому діабеті 2-типу [59, 60].

3.1. Дослідження параметрів тіла та вісцерального жиру у щурів, за умов експериментального вісцерального ожиріння та корекції меланіном

На початку експериментальної роботи було відтворено модель вісцерального ожиріння, викликаного неонатальним введенням глютаму натрію. Встановлено, що у 4-х місячних щурів-самців середня маса тіла становила $284,2 \pm 8,65$ г, маса вісцерального жиру – $2,42 \pm 0,22$ г (рис. 3.1).

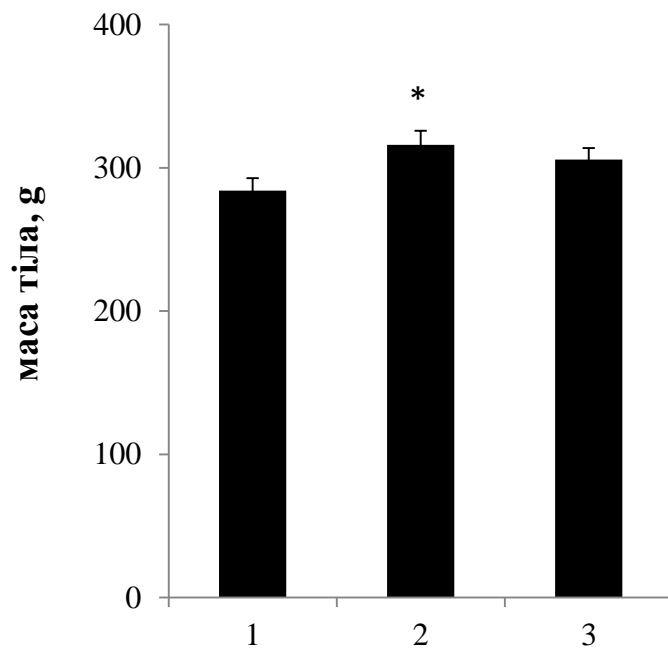


Рис. 3.1. Маса тіла щурів, за умов експериментального вісцерального ожиріння, викликаного глютамом натрію та корекції меланіном (1 мг/кг, внутрішньоочеревинно): 1 - контроль (4-х місячні щурі); 2 – глютаму натрію; 3 - глютаму натрію + меланін.

Примітка: * - $p < 0,05$ щодо контролю.

Введення глютамату натрію в неонатальному періоді (на 2,4,5,6,8,10 день життя підшкірно у об'ємі 8 мкл/г вводили розчин глютамату натрію (3М, 4 мг/г)) призводило до розвитку вісцерального ожиріння у 4-х місячних щурів. Так, спостерігалось не значне збільшення маси тіла щурів до $316,1 \pm 9,7$ г або на 11,2% ($p < 0,05$) (рис. 3.1). Проте, не дивлячись на не значні зміни в показниках маси тіла щурів, маса вісцеральної жирової тканини у щурів з глютамат-індукованим ожирінням була збільшена в 7,3 рази ($p < 0,001$) у порівнянні з інтактним щурам (рис. 3.2) та становила $17,8 \pm 1,7$ г.

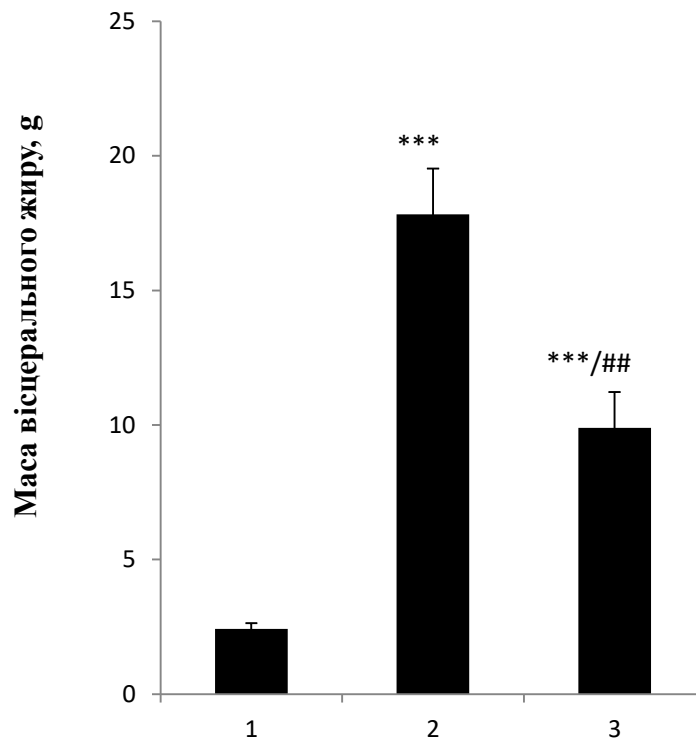


Рис. 3.2. Маса вісцерального жиру щурів, за умов експериментального вісцерального ожиріння, викликаного глютаматом натрію та корекції меланіном (1 мг/кг, внутрішньоочеревинно): 1 - контроль (4-х місячні щурі); 2 – глютамат натрію; 3 - глютамат натрію + меланін.

Примітка: *** - $p < 0,001$ щодо контролю, ## - $p < 0,01$ у порівнянні з групою глютамат натрію.

Вказані зміни параметрів тіла пов'язані зі зменшенням довжини тіла щурів з $24,2 \pm 0,3$ до $21,6 \pm 0,3$ см, або 16,0 % ($p < 0,01$) (рис. 3.3).

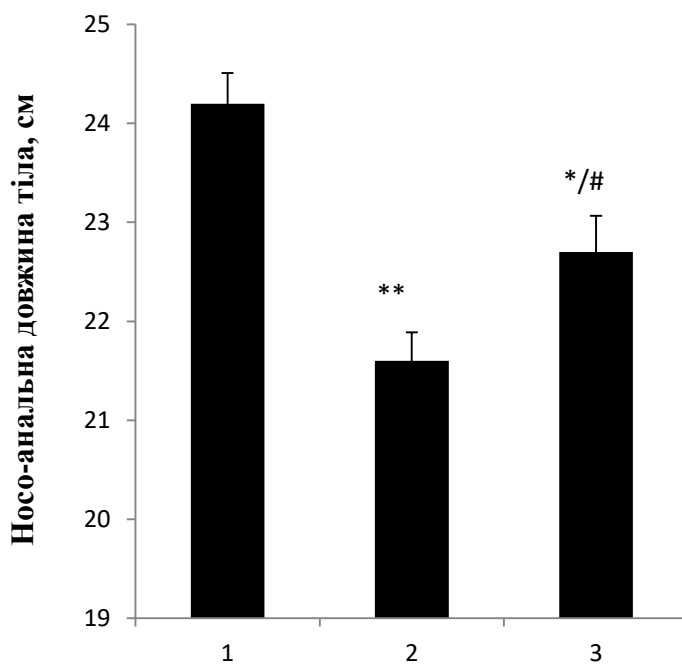


Рис. 3.3. Носо-анальна довжина тіла щурів, за умов експериментального вісцерального ожиріння, викликаного глутаматом натрію та корекції меланіном (1 мг/кг, внутрішньоочеревинно): 1 - контроль (4-х місячні щурі); 2 – глутамат натрію; 3 - глутамат натрію + меланін.

Примітка: * - $p < 0,05$, ** - $p < 0,01$ щодо контролю, # - $p < 0,05$ у порівнянні з групою глутамат натрію.

Разом ці зміни призвели до значного збільшення індексу маси тіла на 39,0% ($p < 0,001$) та індексу Лі на 16,0% ($p < 0,001$) (рис. 3.4 та 3.5). Таким чином, визначення індексу маси тіла та індексу Лі свідчать про розвиток вісцерального ожиріння в цій групі тварин.

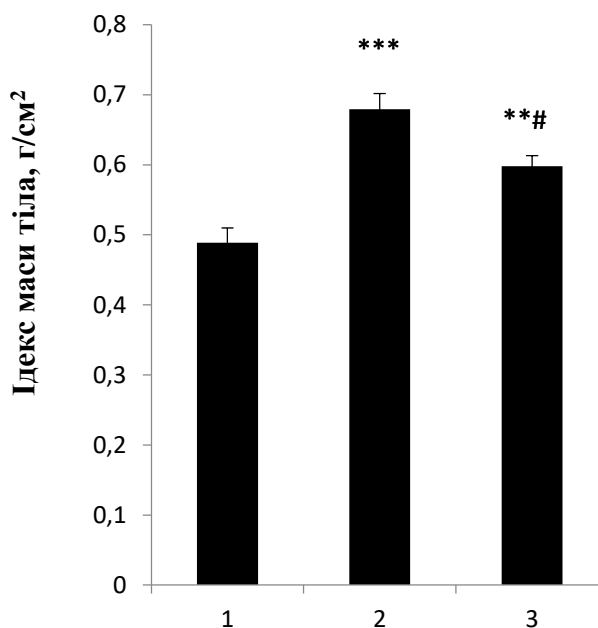


Рис. 3.4. Індекс маси тіла щурів, за умов експериментального вісцерального ожиріння, викликаного глутаматом натрію та корекції меланіном (1 мг/кг, внутрішньоочеревинно): 1 - контроль (4-х місячні щурі); 2 – глутамат натрію; 3 - глутамат натрію + меланін.
Примітка: ** - $p < 0,01$, *** - $p < 0,001$ щодо контролю, # - $p < 0,05$ у порівнянні з групою глутамат натрію.

Хоча введення меланіну не викликало значимих змін у показнику маси тіла щурів ($305,6 \pm 8,11$ г, $p > 0,05$) (рис.3.1), проте маса вісцеральної жирової тканини у щурів була зменшена на 55% ($p < 0,01$) (рис. 3.2), а довжина тіла збільшилася до $22,7 \pm 0,37$, або на 5,1% ($p < 0,05$) (рис. 3.3) у порівнянні з щурами з глутамат-індукованим ожирінням.

Також, за умов введення меланіну спостерігали зменшення індексу маси тіла на 10% ($p < 0,05$) (рис.3.4) та індексу Лі на 6,5% ($p < 0,05$) (рис.3.5).

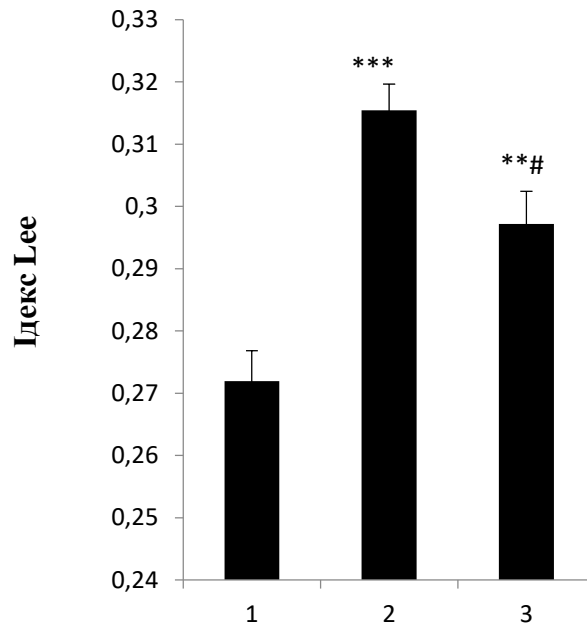


Рис. 3.5. Індекс Лі тіла щурів, за умов експериментального вісцерального ожиріння, викликаного глутаматом натрію та корекції меланіном (1 мг/кг, внутрішньоочеревинно): 1 - контроль (4-х місячні щурі); 2 – глутамат натрію; 3 - глутамат натрію + меланін.

Примітка: ** - $p < 0,01$, *** - $p < 0,001$ щодо контролю, # - $p < 0,05$ у порівнянні з групою глутамат натрію.

Отже, поліфенольна сполука меланін запобігає розвитку вісцерального ожиріння, викликаного неонатальним введенням глутамат натрію у щурів віком 4 місяці, що підтверджує зменшення індексу маси тіла, індексу Лі та маси вісцеральної жирової тканини [4].

3.2. Оцінка рівня адипоцитокінів у щурів, за умов експериментального вісцерального ожиріння та корекції меланіном

Ожиріння характеризується гіпертрофією жирових клітин, а при тяжкій формі збільшується і кількість жирових клітин у тканинах жирових депо. Жирова тканина більше не розглядається лише як енергетичне депо, її роль поширюється далеко за рамки енергетичного обміну. Адипозна тканина виконує ендокринну функцію, секретуючи речовини, які зменшують чутливість тканин до інсуліну [151, 191]. Нові дані представляють її як ендокринний та паракринний орган, здатний впливати на інші органи і системи. Ці властивості жирової тканини відрізняються залежно від морфології самих адипоцитів та їх локалізації. Вісцеральний жир (мезентеріальні адипоцити) виявляє значно вищу ендокринологічну активність, ніж підшкірний.

При надлишковій масі тіла відбувається не тільки проліферація та гіпертрофія адипоцитів, а і їх інфільтрація макрофагами з подальшим розвитком запальних реакцій, унаслідок чого змінюється метаболічна активність жирової тканини. Саме тому деякі вчені вважають патологічне ожиріння хронічним системним запальним процесом. Адипоцити – функціональні одиниці жирової тканини – є джерелом фактора некрозу пухлин α (ФНП- α), інгібітора активатора плазміногену-1 (ІАП-1), інтерлейкіну-6 (ІЛ-6), лептину, адипонектину, резистину, ангіотензиногену, інсуліноподібного фактора росту-1 (ІФР-1), які шляхом впливу на інсулінові рецептори призводять до розвитку ІР. Проте слід відрізнити як проатерогенні адипокіни, так і антиатерогенні. Низкою досліджень підтверджено, що підвищення концентрації лептину та відношення лептин/ адипонектин (Л/А) корелює зі зростанням показника ІМТ незалежно від локалізації жирової тканини [66, 165].

Встановлено, що у пацієнтів з високим кардіометаболічним ризиком та без клінічно вираженого ЦД дисфункція адипоцитів відіграє важливу роль у патогенезі розвитку ІР [192]. Використання відношення Л/А як маркера ІР у хворих на ЦД потребує додаткових спостережень та більшої кількості пацієнтів, хоча показано, що цей маркер може асоціюватися з атеросклеротичними змінами. Встановлено, що відношення Л/А може бути маркером серцево-судинного ризику, незалежно від збільшення окружності талії та ІМТ. Доведено, що більш значуща вираженість метаболічного синдрому у чоловіків асоціюється з більшою поширеністю атеросклеротичних уражень у вінцевому руслі, збільшенням частоти виявлення оклюзій і гемодинамічно значущих стенозів [193]. Невирішеність цих питань зумовлює необхідність їх дослідження.

В результаті проведених досліджень встановлено, що за умов глютама-індукованого ожиріння у жировій тканині щурів вірогідно підвищився рівень лептину на 61,1% ($p < 0,01$) порівняно з контролем (рис. 3.6). За цих умов у сироватці крові щурів вірогідно знижується на 59,6% ($p < 0,01$) рівень адипонектину порівняно із щурами, яким не моделювали глютама-індуковане ожиріння (рис. 3.7).

Отримані нами дані узгоджуються з літературними, згідно з якими підвищення маси тіла супроводжується підвищенням секреції лептину та зниженням продукції адипонектину. Таким чином, за умов глютама-індукованого ожиріння у щурів спостерігається дисбаланс продукції жировою тканиною таких адипокінів як лептин і адипонектин. Так, відомо, що при ожирінні підвищення вмісту лептину сироватки крові спричинено резистентністю гіпоталамусу до центральної дії ліпоцитокіну за механізмами негативного зворотного зв'язку чи дефектів транспортування через гематоенцефалічний бар'єр. Проте дія лептину на периферичні тканини зберігається, тому можна передбачити наявність селективної ЛР. Резистентність тканин до лептину розвивається поступово, активуючи ріст жирової тканини. Патогенетична роль лептину у регуляції вуглеводного,

жирового обмінів пов'язана з його дією на гепатоцити та скелетну мускулатуру. Важливими є результати досліджень К. Ікежіма та співавторів, згідно з якими лептин виявляє антистеатогенні властивості, схожі до ефектів інсуліну, регулює і контролює внутрішньоклітинний гомеостаз глюкози та вільних жирних кислот (ВЖК), попереджає розвиток глюко- і ліпотоксичності [194]. Використання лептину в якості терапевтичного агента обмежене через виражену лептинорезистентність у більшості осіб, що страждають на ожиріння. На сьогодні терапія лептином успішно використовується тільки у хворих з генетичним дефіцитом лептину або ліподистрофією [195].

Рівень адипонектину в плазмі достовірно знижений при вісцеральному ожирінні та патологічних станах, для яких характерна інсулінорезистентність – ЦД2, НАЖХП, атеросклероз. Всі олігомерні форми адипонектину присутні в крові. Групою вчених висловлено припущення, що співвідношення (а не абсолютна кількість) HMW/LMW форм адипонектина в сироватці крові має вирішальне значення у визначенні чутливості до інсуліну периферичних тканин [196]. Помірна втрата ваги призводить до відносного збільшення співвідношення HMW/MMW та зниження абсолютної кількості LMW-форми адипонектина в сироватці крові [197]. Відомо, що рівень адипонектину знижений у людей з ожирінням та інсулінорезистентністю [198].

Лікування рекомбінантним адипонектином експериментальних тварин з ожирінням призводить до зниження рівня гіперглікемії, вільних жирних кислот (ВЖК) в плазмі крові та покращує чутливість до інсуліну [199]. Активація PPAR γ *in vivo* призводить до підвищення рівня адипонектина в крові [200]. У мишей, позбавлених адипонектину, спостерігається печінкова інсулінорезистентність паралельно зі зниженням терапевтичної відповіді на агоністи PPAR γ , що вказує на те, що адипонектин є важливим фактором, який забезпечує PPAR γ -опосередковане покращення чутливості до інсуліну [201].

Адипонектин стимулює β -окислення в гепатоцитах і знижує експресію SREBP1C - основного фактора транскрипції, який регулює експресію генів, що кодують ферменти необхідні для синтезу ліпідів [202]. Рівень адипонектину в

крові негативно корелює з рівнем глюкози, інсуліну, тригліцеридів, ліпопротеїдів низької щільності (ЛПНЩ), з високим ІМТ і позитивно з ліпопротеїдами високої щільності (ЛПВЩ). В дослідженні Ng TW et al. адипонектин був вірогідним предиктором підвищення рівня в плазмі апоВ-100, який є основним аполіпопротеїном ліпопротеїдів дуже низької щільності (ЛПДНЩ) і ЛПНЩ, а також тригліцеридів, що спостерігалось незалежно від інсулінорезистентності та розподілу жирової тканини [203].

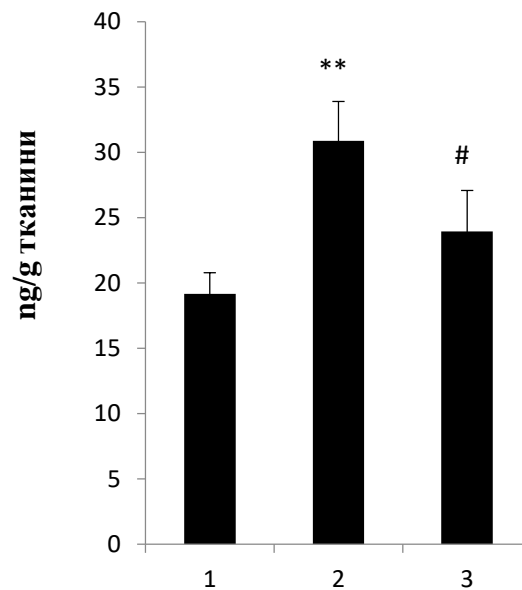


Рис. 3.6. Рівень лептину в вісцеральній жировій тканині щурів, за умов експериментального вісцерального ожиріння, викликаного глутаматом натрію та корекції меланіном (1 мг/кг, внутрішньоочеревинно): 1 - контроль (4-х місячні щурі); 2 – глутамат натрію; 3 - глутамат натрію + меланін.

Примітка: ** - $p < 0,01$ щодо контролю, # - $p < 0,05$ у порівнянні з групою глутамат натрію.

Введення меланіну двох-тижневими курсами призводило до збільшення рівня адипонектину в сироватці крові на 77,1% ($p < 0,01$) та зменшення рівня лептину на 17% ($p < 0,05$) у вісцеральній жировій тканині щурів у порівнянні з групою глутамат натію. Отримані дані підтверджують позитивний

терапевтичний вплив періодичного введення меланіну протягом двотижневих курсів на гормональну активність жирової тканини [8].

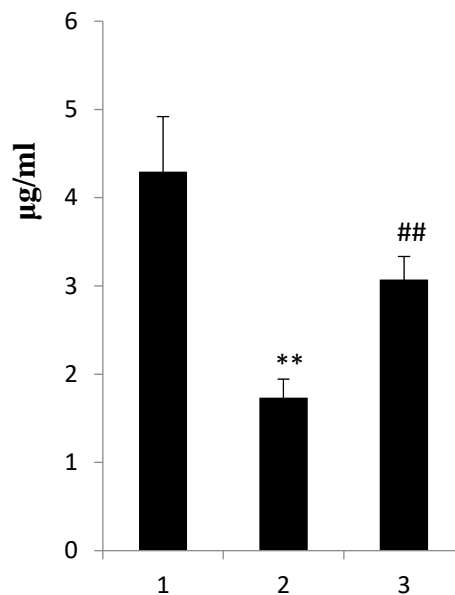


Рис. 3.7. Рівень адипонектину в сироватці крові щурів, за умов експериментального вісцерального ожиріння, викликаного глутаматом натрію та корекції меланіном (1 мг/кг, внутрішньоочеревинно): 1 - контроль (4-х місячні щурі); 2 – глутамат натрію; 3 - глутамат натрію + меланін.

Примітка: ** - $p < 0,01$ щодо контролю, ## - $p < 0,05$ у порівнянні з групою глутамат натрію.

Адипонектин впливає на запальні процеси в пошкоджених стінках судин, специфічно зв'язуючись в зоні запалення з клітинами, що зазнали апоптозу. На поверхні апоптотичних клітин з'являється білок кальретикулін, що взаємодіє з макрофагами і викликає фагоцитоз клітини. Адипонектин специфічно взаємодіє з кальретикуліном значно збільшуючи ймовірність фагоцитозу апоптотичних клітин макрофагами, що призводить до зменшення вогнища запалення [204].

Адипонектин стимулює синтез важливих прозапальних цитокінів, таких як інтерлейкін 10 (IL-10) та IL-1RA (IL-1 антагоніст рецептора) в моноцитах, макрофагах, дендритних клітинах, а також пригнічує утворення інтерферону-

γ (IFN γ) в ЛПС-стимульованих макрофагах [205]. HMW, але не LMW і MMW олігомерні форми адипонектина, захищають клітини ендотелію судин від апоптозу. При цьому вплив адипонектина на моноцити і макрофаги двоякий. Тример адипонектина пригнічує секрецію IL-6 та IFN γ , що виділяються макрофагами і стимулює виділення протизапальних цитокінів IL-10 і IL-1RA. На противагу цьому, HMW- адипонектин збільшує виділення IL-10 з моноцитів [204]. У мишей з нокаутованим геном адипонектина фенотипово підвищена схильність до атерогенезу і надмірна неоінтимальна та проліферативна відповідь гладких м'язів судин на ендотеліальне пошкодження, яка нівелюється введенням адипоцитокіну [206]. Також терапія гормоном значно знижує прояви атерогенезу в апо-E-дефіцитних мишей [207].

3.3. Оцінка рівня цитокінів у щурів, за умов експериментального вісцерального ожиріння та корекції меланіном

Останнім часом ожиріння стало визнано як стан хронічного, системного запалення. Провідну роль у патогенезі ожиріння належить оксидативному стресу, що супроводжується інтенсифікацією вільнорадикального окислення (ВРО) і зниженням активності антиоксидантного захисту [181]. Він є однією з патогенетичних ланок атеросклерозу, артеріальної гіпертензії, ішемічної хвороби серця, неалкогольного стеатозу (або стеатогепатиту) печінки. За даними досліджень, окисна модифікація ліпідів сприяє накопиченню ліпопротеїнів, акумуляції ефірів холестерину в макрофагах. Порушується функція ендотеліальних клітин і тромбоцитів [182, 190].

В даний час ВРО розглядається як універсальний механізм регуляції мембранозалежних процесів, і відповідно, функцій клітини, а з іншої сторони як неспецифічний механізм ушкодження клітинних структур, біомолекул з

порушенням метаболізму клітини, що призводить до апоптозу або некрозу [208]. Дисбаланс продукції адипокінів і прозапальних цитокінів є однією з причин розвитку оксидативного стресу при ожирінні. Адипоцити є джерелом прозапальних цитокінів, у тому числі TNF- α , IL-1 і IL-6, що є сильними стимуляторами продукції АФК макрофагами і моноцитами [183].

Виявлено підвищення вмісту прозапальних цитокінів IL-1 та IL-12B p40 у сироватці жиру щурів. Рівень IL-1 підвищився на 33,3% ($p < 0,05$), а IL-12B p40 - на 22,1% ($p < 0,05$) порівняно з контрольними щурами (рис.3.8).

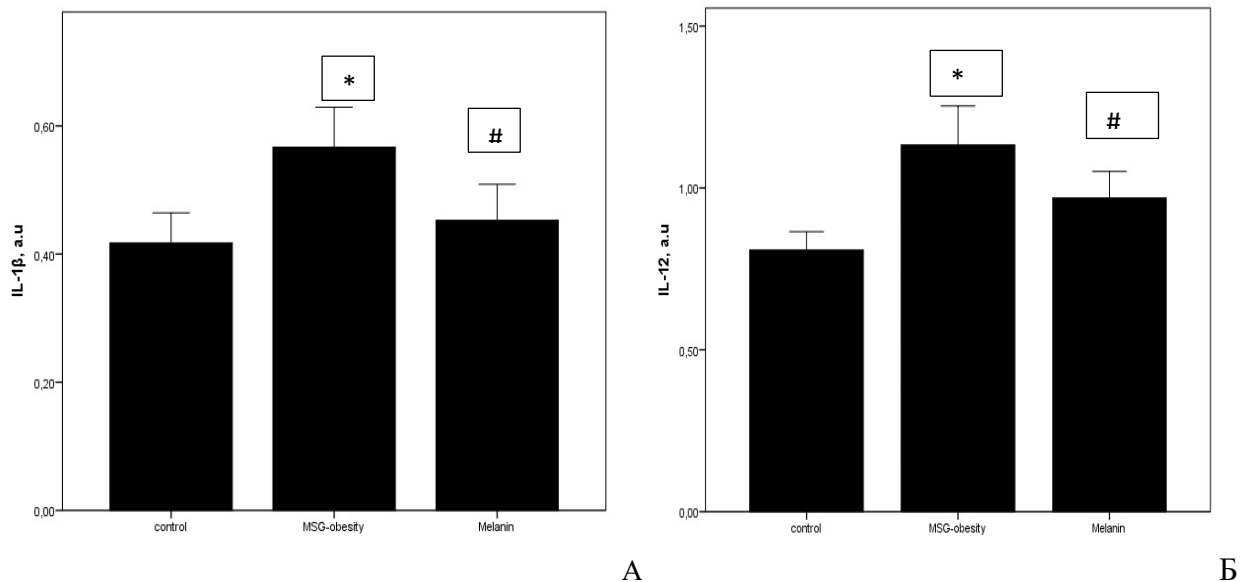


Рис. 3.8. Вміст прозапальних цитокінів (IL-1 β (А), IL-12B p40 (Б)) у сироватці крові щурів, за умов експериментального вісцерального ожиріння, викликаного глютамом натрію та корекції меланіном (1 мг/кг, внутрішньоочеревинно) ($M \pm m$, $n=10$ в кожній групі): 1 - контроль (4-х місячні щури); 2 – глютаммат натрію; 3 - глютаммат натрію + меланін.

Примітка: * - $p < 0,05$ щодо контролю, # - $p < 0,05$ у порівнянні з групою глютаммат натрію.

Навпаки, ми не виявили різниці в рівні INF- γ між ожирінням та контрольними щурами (Рис.3.9).

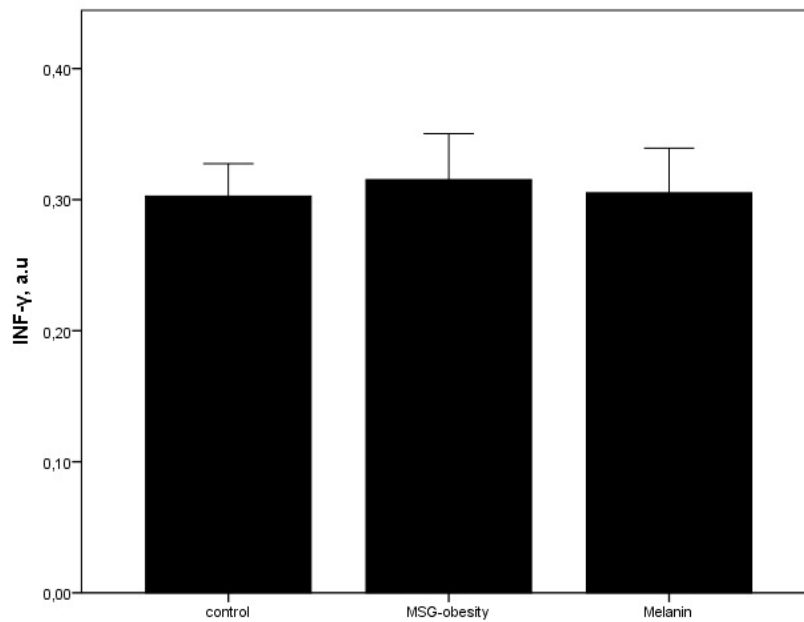


Рис. 3.9. Вміст прозапальних цитокінів (INF- γ) у сироватці крові щурів, за умов експериментального вісцерального ожиріння, викликаного глутаматом натрію та корекції меланіном (1 мг/кг, внутрішньоочеревинно) ($M \pm m$, $n=10$ в кожній групі): 1 - контроль (4-х місячні щурі); 2 – глутамат натрію; 3 - глутамат натрію + меланін.

За умов вісцерального ожиріння протизапальна система знижувалась. Це було очевидно через зменшення ІЛ-4 на 22,1% ($p < 0,05$), ІЛ-10-на 31,9% ($p < 0,05$) та TGF- β на 31,4% ($p < 0,05$) у групі щурів з ожирінням порівняно з контрольною групою (рис. 3.10 та рис. 3.11) [4]. Таким чином, імуноферментний аналіз показав інтенсифікацію запальних процесів в умовах ожиріння, викликаного глутаматом натрію [10].

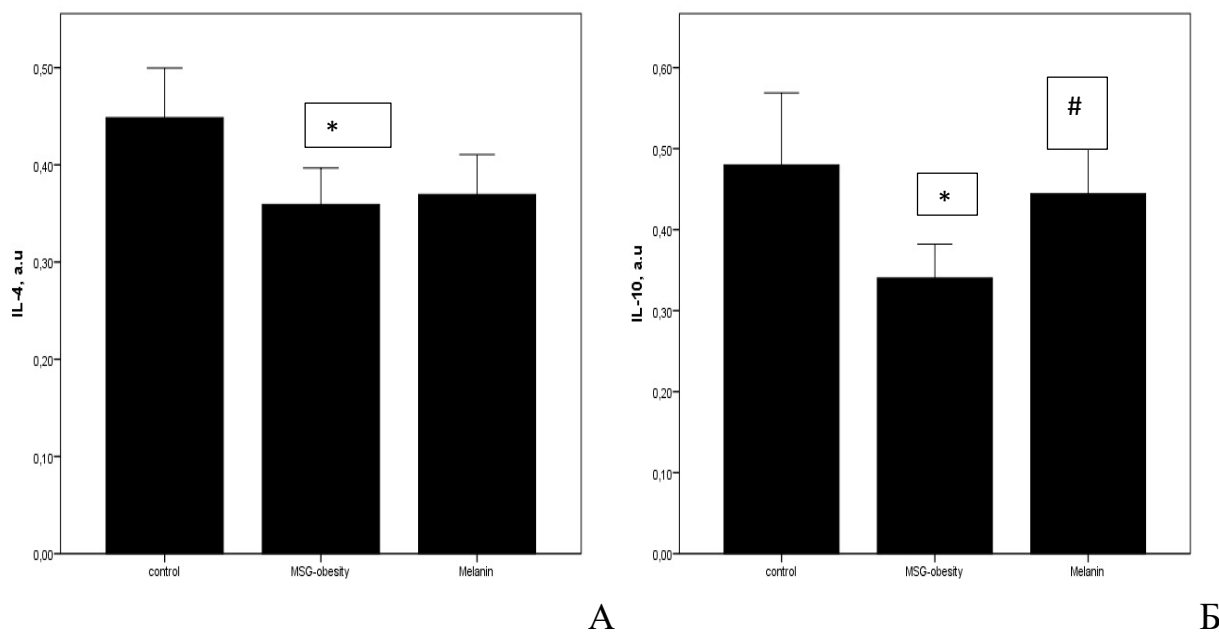


Рис. 3.10 Вміст антизапальних цитокінів (IL-4 (А), IL-10 (Б)) у сироватці крові щурів, за умов експериментального вісцерального ожиріння, викликаного глутаматом натрію та корекції меланіном (1 мг/кг, внутрішньоочеревино) ($M \pm m$, $n=10$ в кожній групі): 1 - контроль (4-х місячні щурі); 2 – глутамат натрію; - глутамат натрію + меланін.
Примітка: * - $p < 0,05$ щодо контролю, # - $p < 0,05$ у порівнянні з групою глутамат натрію.

Терапія меланіном призвела до часткового відновлення показників рівня цитокінів. Встановили значну активацію протизапальної системи, що було підтверджено підвищенням рівня IL-10 на 26,7% ($p < 0,05$) та TGF- β на 29,5% ($p < 0,05$) порівняно з MSG - щурами. Однак жодних доказів зміни рівня IL-4 не було. У щурів, яких лікували трьома курсами меланінового введення, рівень прозапального IL-12B p40 був нижчим на 22,1% ($p < 0,05$) порівняно з групою MSG, а рівень IL-1 був відновлений до контрольних значень.

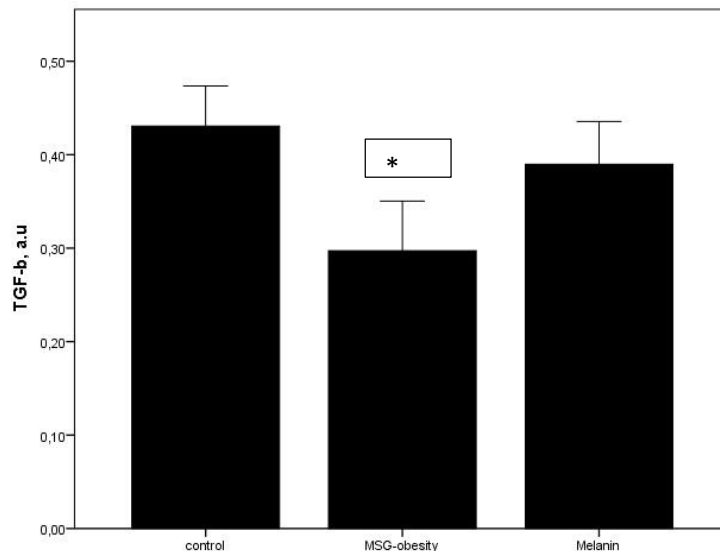


Рис. 3.11 Вміст антизапальних цитокінів (TGF-β) у сироватці крові щурів, за умов експериментального вісцерального ожиріння, викликаного глутаматом натрію та корекції меланіном (1 мг/кг, внутрішньоочеревинно) ($M \pm m$, $n=10$ в кожній групі): 1 - контроль (4-х місячні щурі); 2 – глутамат натрію; 3 - глутамат натрію + меланін.

Примітка: * - $p < 0,05$ щодо контролю, # - $p < 0,05$ у порівнянні з групою глутамат натрію.

Таким чином, досліджувана поліфенольна сполука зменшувала концентрацію в сироватці крові щурів прозапальних цитокінів (інтерлейкіну (ІЛ)-1β, ІЛ 12В р40) на тлі збільшення концентрації антизапальних цитокінів (ІЛ-10, ФРП-β) [5].

3.4. Оцінка стану жирової тканини у щурів, за умов експериментального вісцерального ожиріння та корекції меланіном

В експериментальних роботах доведено, що введення новонародженим гризунам глутамату натрію індукує розвиток вісцерального ожиріння у дорослих тварин та є моделлю ожиріння у гризунів [209]. Ще у 70-тих роках

минулого сторіччя було показано, що введення глутамату натрію новонародженим щурам викликало затримку росту, зміни функції кори надниркових залоз, розвиток толерантності до глюкози [209, 210]. З часом був зроблений висновок про те, що введення глутамату новонародженим щурам уражає головним чином гіпоталамус, зокрема, дугоподібні і паравентрикулярні ядра, що в свою чергу викликає порушення ендокринної функції та розвиток вісцерального ожиріння [59, 81, 211–214].

Натрієва сіль глутамінової кислоти є класичним орексигеном (збільшує вживання їжі та її засвоєння). Механізм її дії пов'язаний перш за все з дугоподібними ядрами гіпоталамуса, нейрони яких синтезують орексигенні речовини – нейропептид Y (NPY-нейрони) і меланін-опосередковий білок (AGRP-нейрони). Наростання їх концентрації в організмі різко підвищує засвоєння їжі, знижує витрати енергії, приводить до вираженого ожиріння. Глутамат натрію призводить до ураження дугоподібних та вентромедіальних ядер гіпоталамуса, викликаючи їх нечутливість до лептину та інсуліну (гормонів насичення), в результаті чого розвивається гіперлептинемія та гіперінсулінемія.

Щодо вивчення корекції ожиріння, було досліджено вплив пробіотикотерапії на розвиток експериментального ожиріння у щурів, викликаного глутаматом натрію [59].

У більшості експериментальних досліджень при вивченні ожиріння зазвичай наведені макроскопічні параметри, разом з тим мікроскопічна картина жирової тканини практично не представлена.

Нами проведено гістологічне дослідження жирової тканини – підшкірного і вісцерального жиру в контрольній і досліджуваній групах щурів. Під час мікроскопії гістологічних препаратів у підшкірній жировій тканині і сальнику визначали будову жирової тканини, котра складалася з жирових клітин паренхіми, – адипоцитів, і стромального компонента.

Майже всю жирову клітину, специфічна функція якої — накопичення та обмін жиру, заповнює жирова крапля, яку оточує ободок цитоплазми з

витісненими на периферію ядром. У хребетних жирова тканина розміщується зазвичай під шкірою (підшкірна клітковина), в сальнику, між органами, утворюючи м'які пружні прокладки.

У контрольній групі щурів підшкірна жирова тканина складалася в з помірної кількості вакуолей переважно невеликих розмірів – від дуже дрібних, майже точкових до невеликої кількості помірно збільшених вакуолей. Розподіл жирових вакуолей був помірно щільним, рівномірним (Рис.3.12). В гістологічних препаратах при забарвленні суданом III жирові вакуолі мають вигляд червоно-оранжевих кулястих утворень.

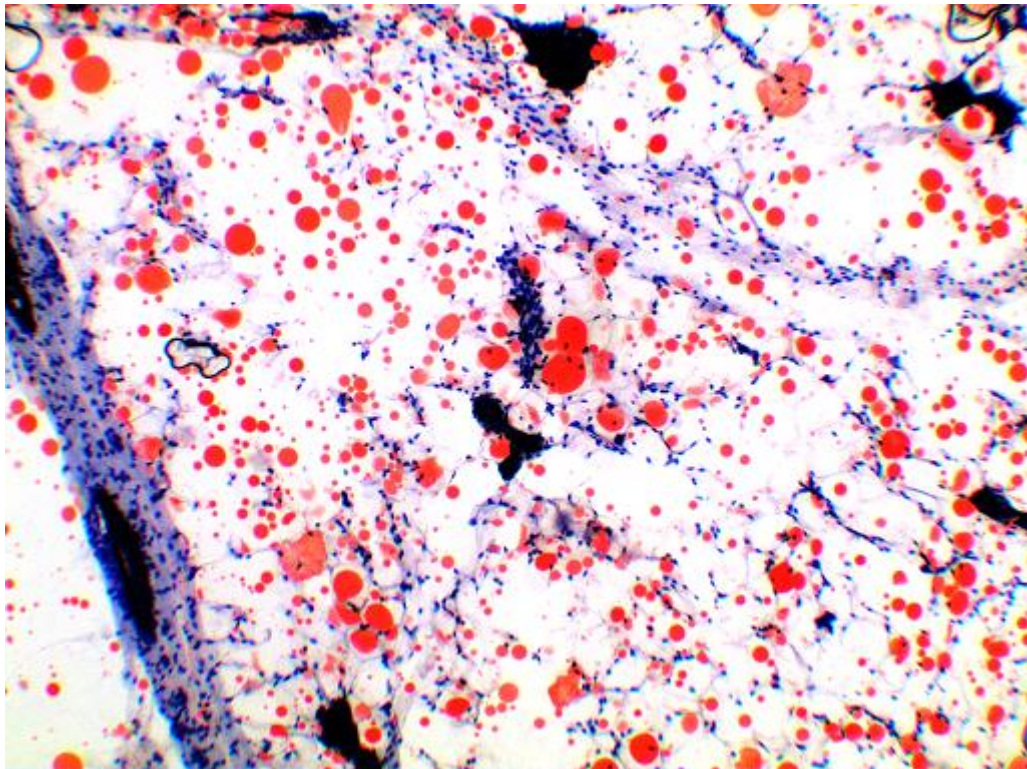


Рис. 3.12. Підшкірний жир контрольної групи (I серія). Забарвлення суданом III. Збільшення x100.

У групі щурів, яким вводили глютамат натрію, спостерігається значне збільшення кількості жирових вакуолей. Жирові вакуолі приблизно однакових розмірів, у порівнянні з контрольною групою не спостерігається дуже дрібних

вакуолей. Жирові вакуолі розміщені досить щільно, місцями мають вигляд таких, що зливаються між собою (Рис. 3.13).

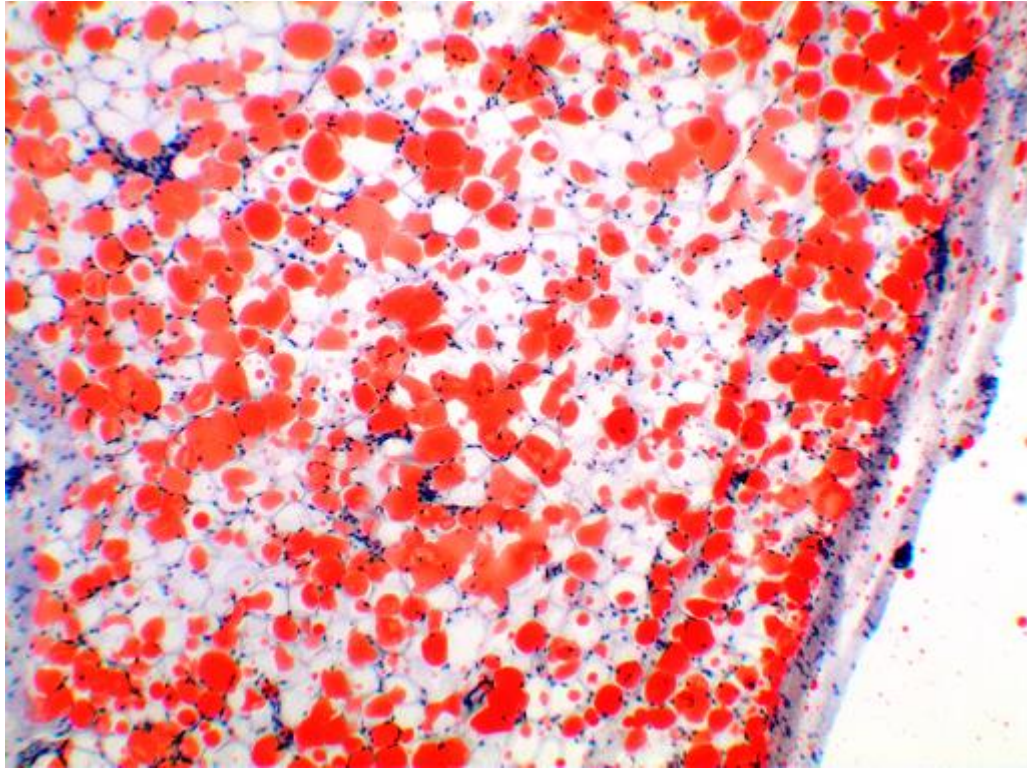


Рис. 3.13. Підшкірний жир групи щурів, яким вводили глютамат натрія (II серія). Забарвлення суданом III. Збільшення x100.

У групі щурів, яким вводили глютамат натрію та меланін, спостерігається значне зменшення кількості жирових вакуолей у порівнянні з групою щурів без корекції меланіном. Щодо порівняння з контрольною групою, то можемо сказати, що змінився розподіл жирових вакуолей – у групі з глютаматом та корекцією меланіна вакуолі розміщуються групами на відміну від дифузного розміщення у контрольній групі (Рис. 3.14).

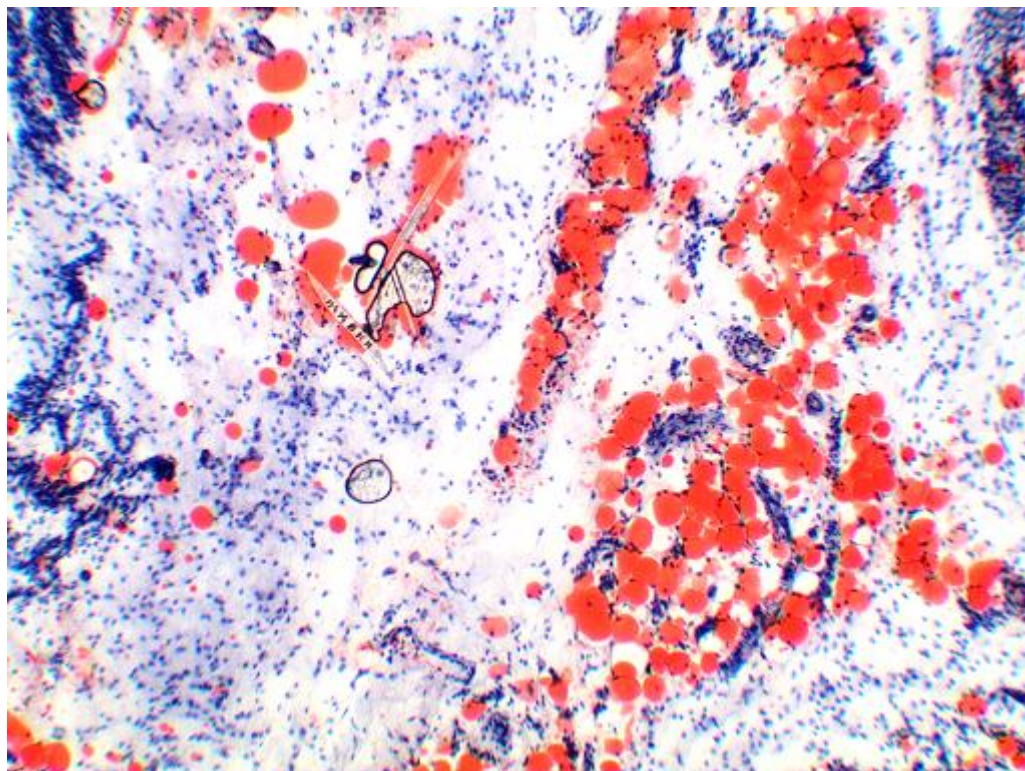


Рис. 3.14. Підшкірний жир групи щурів, яким вводили глютамат натрія +меланін (III серія). Забарвлення суданом III. Збільшення x100.

Отже, при глютамат-індукованому ожирінні спостерігається накопичення підшкірного жиру за рахунок збільшення переважно кількості жирових вакуолей. При меланіновій корекції ожиріння, тобто введенні щурам глютамату натрію та меланіну, спостерігається значно менша кількість жирових вакуолей, ніж у групі без корекції [8].

При дослідженні вісцерального жиру встановлено, що клітини мають у своєму складі гігантські вакуолі з жиром, на відміну від підшкірного жиру, де при дії глютамату натрію збільшується саме кількісний склад адипоцитів, а не якісний. При гістологічному дослідженні вісцерального жиру щурів контрольної групи знайдена помірна кількість вакуолей різного розміру, в основному від дрібних до середнього розміру вакуолей, переважно кулястої форми; окремі вакуолі неправильної форми (Рис.3.15).

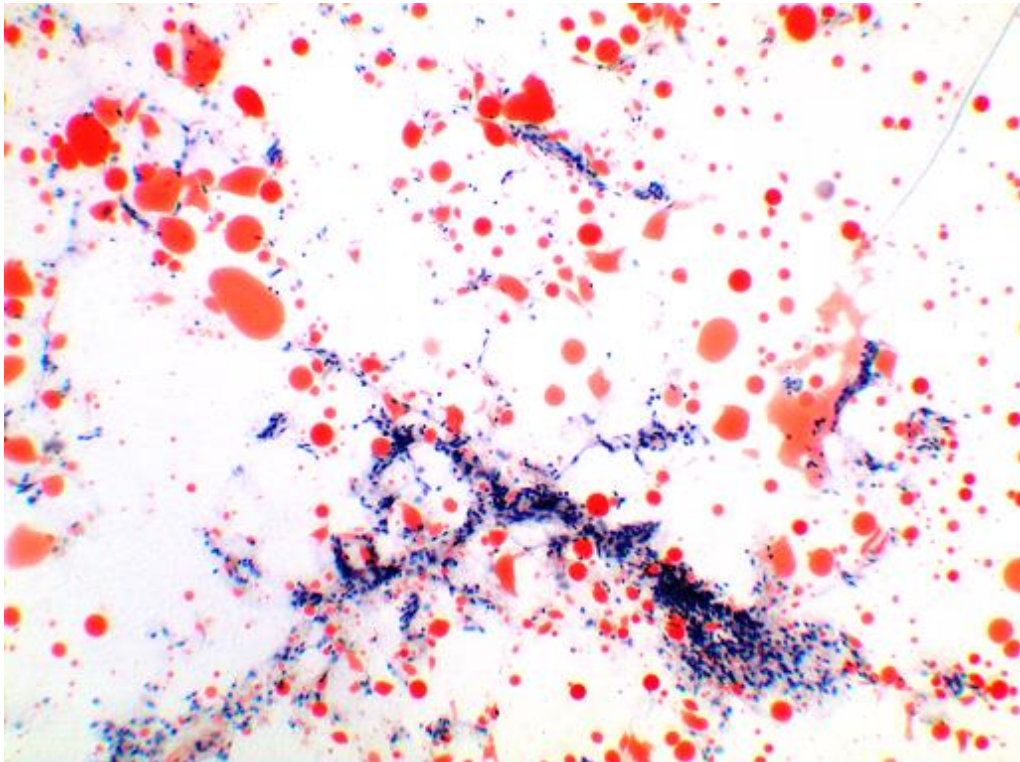


Рис. 3.15. Вісцеральний жир контрольної групи щурів (I серія).
Забарвлення суданом III. Збільшення x100.

У сальнику щурів групи з індукованим ожирінням не спостерігається збільшення кількості жирових вакуолей, як у підшкірній клітковині щурів даної групи, однак жирові вакуолі значно збільшуються в розмірах, окремі з них стають гігантськими, змінюється також і їх форма – від вакуолей неправильної форми до поширених ділянок у вигляді гігантської форми неправильних розмірів вакуолей (Рис. 3.16, 3.17).

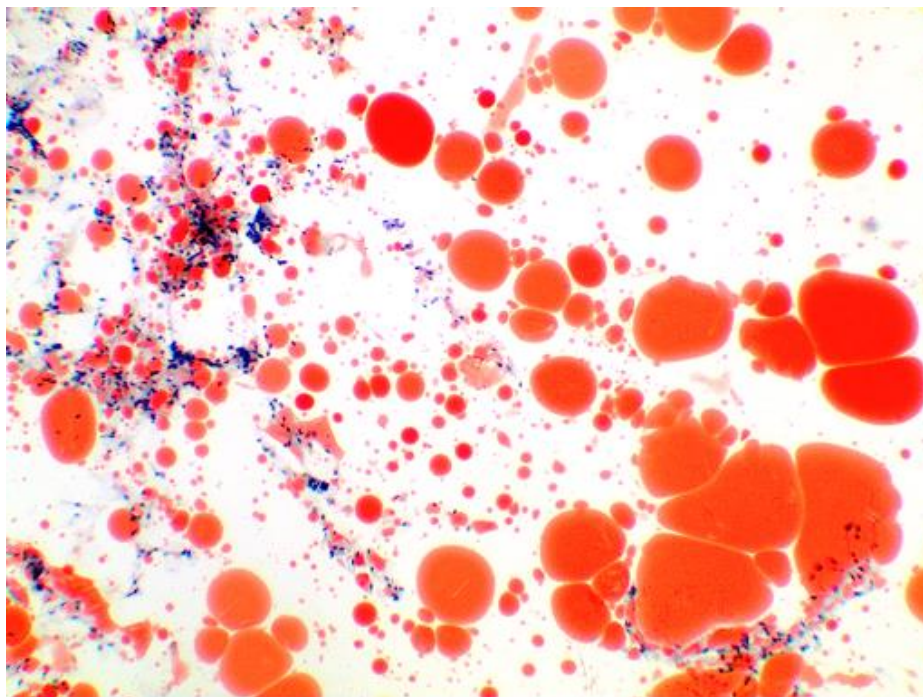


Рис. 3.16. Вісцеральний жир групи щурів, яким вводили глютамат натрія (II серія). Забарвлення суданом III. Збільшення x100.

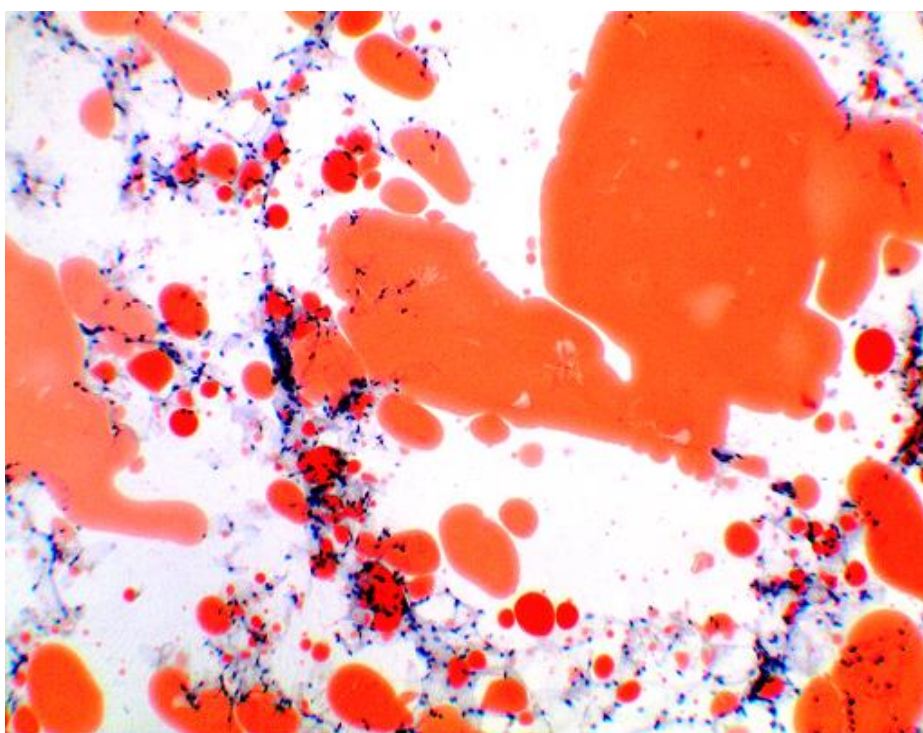


Рис. 3.17. Вісцеральний жир групи щурів, яким вводили глютамат натрія (II серія). Забарвлення суданом III. Збільшення x100.

У групі щурів з корекцією меланіном жирові вакуолі були значно меншого розміру, ніж у групі з індукованим ожирінням без меланіну. Лише окремі вакуолі були більшого розміру, ніж в контрольній групі (Рис.3.18).

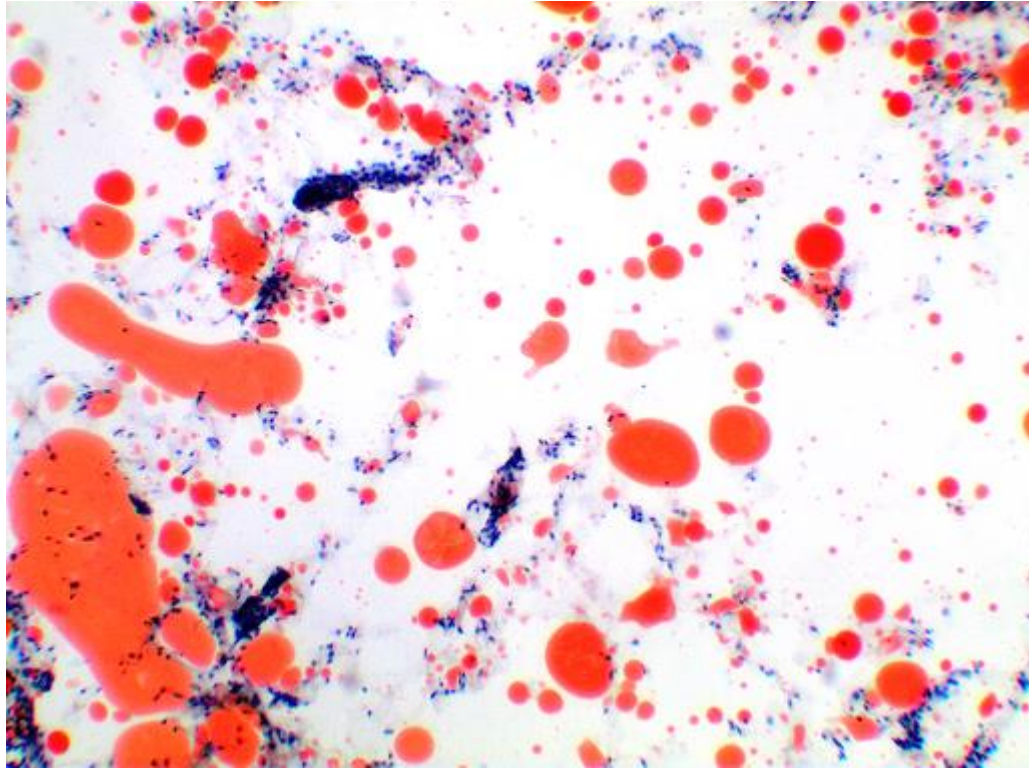


Рис. 3.18. Вісцеральний жир групи щурів, яким вводили глютамат натрія+меланін (III серія). Забарвлення суданом III. Збільшення x100.

Отже, введення новонародженим щурам глютамату натрію призводить до розвитку ожиріння у дорослому віці. Отримані дані є експериментальним обґрунтуванням того, наскільки небезпечним є вживання харчової добавки глютамату натрію, особливо в дитячому віці.

Отримані дані підтверджують результати інших дослідників які встановили, що введення новонародженим гризунам глютамату натрію індукує розвиток вісцерального ожиріння у дорослих тварин та є моделлю ожиріння у гризунів [215].

Було доведено, що введення глютамату натрію викликає ураження в дугоподібному та вентромедіальному ядрах гіпоталамуса, викликаючи не

чутливість до лептину та інсуліну в цьому регіоні в результаті чого розвивається гіперлептинемія та гіперінсулінемія [216].

Отже, використання меланіну справляє корегуючий вплив на відкладання як підшкірного, так і вісцерального жиру, сприяє зменшенню як кількості жирових вакуолей у підшкірному, так і розмірів вакуолей у вісцеральному жирі, тому може бути застосований у розробці препаратів для профілактики і лікування ожиріння.

РОЗДІЛ 4

МОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ ПЕЧІНКИ ЗА УМОВ ГЛУТАМАТ-ІНДУКОВАНОГО ОЖИРІННЯ: МЕХАНІЗМИ КОРИГУЮЧОЇ ДІЇ МЕЛАНІНУ

4.1. Характеристика печінки тварин контрольної групи

Печінка щурів контрольної групи мала паренхіматозний часточковий тип будови з слабо розвинутою міжчасточковою стромою (Рис. 4.1). Ділянки міжчасточкових перегородок визначалися переважно навколо триад, які включали до складу міжчасточкові судини – артерію та вену, а також міжчасточкову жовчну протоку. Паренхіма печінки була представлена часточками полігональної форми різними за розміром та просторовою організацією. В центрі часточок розташовувалася центральна вена неправильної форми, вистелена ендотелієм. До неї сходилися радіально розташовані печінкові балки, між якими визначалися синусоїдні капіляри.

Дослідження мікропрепаратів тканини печінки щурів контрольної групи виявило нормальну гістологічну будову органу [3]. Часточковий малюнок тканини печінки не виразний. Печінкові часточки складаються з тяжів гепатоцитів, які мають чітку радіальну спрямованість; зони триад вузькі. Триади складаються з міжчасточкових артерії, вени і жовчної протоки. В порталному тракті розрізняються і диференціюються три судини. Перша, з добре розвиненою м'язовою оболонкою і базальною мембраною – артерія; друга - в просвіті якої є невелика кількість еритроцитів на всіх полях зору мікроскопу - вена; і третя судина з повністю відсутньою м'язовою оболонкою і фенестрованою тонкою базальною мембраною – це лімфатична судина (Рис.4.2).

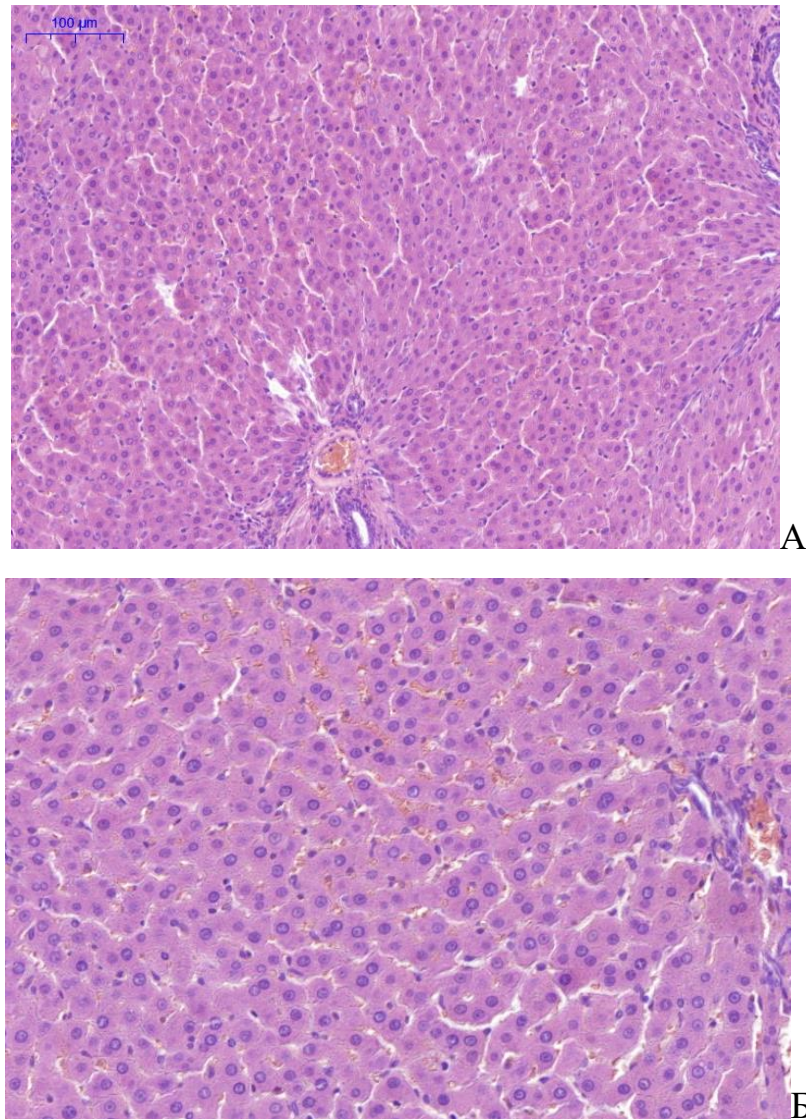


Рис. 4.1. Печінка щура контрольної групи. Часточки чітко не відмежовані одна від одної, складаються з радіально спрямованих печінкових балок, між якими визначаються щілини синусоїдних капілярів. Гепатоцити мають кулясте ядро з ядерцями та оксифільну цитоплазму. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Зб. А – $\times 100$, Б – $\times 200$.

Внутрішньочасточкові синусоїдальні гемокапіляри помірно розширені. Клітини Купфера (зірчасті ретикулоендотеліоцити) не змінені. Гепатоцити мають характерну форму та розмір, цитоплазма рівномірно зафарбована, оптично помірно щільна, не містить включень, які б візуалізувалися при світловій мікроскопії. Ядра гепатоцитів – нормохромні, центрально розташовані, містять одне, іноді два ядерця. Зустрічаються

поодинокі двоядерні гепатоцити як ознака мітотичного поділу гепатоцитів. Вогнищево в гепатоцитах відмічається помірно виражена зерниста дистрофія.

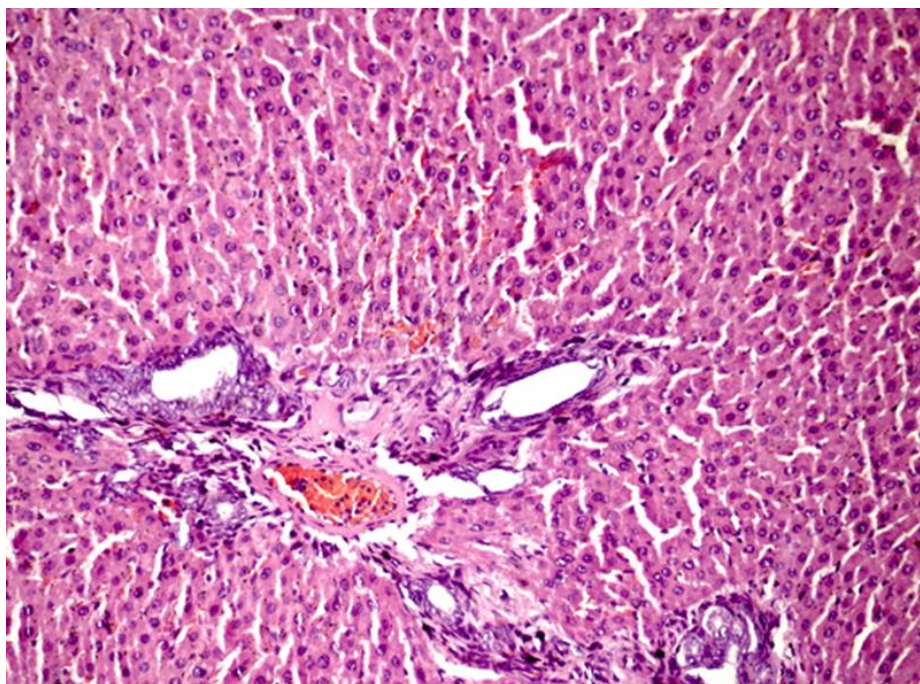


Рис. 4.2. Контрольна група. Нормальна гістологічна будова печінки; печінкова триада (артерія, вена і жовчна протока). Забарвлення гематоксиліном-еозином. x200.

Більшість гепатоцитів у межах печінкових балок мали кулясте центрально розташоване ядро з виразними ядерцями та оксифільну дрібнозернисту цитоплазму. Окремі гепатоцити варіювали за розміром та інтенсивністю забарвлення цитоплазми. Синусоїдні капіляри були різного кровонаповнення – іноді вузькими, їх хід визначався переважно за розташуванням ядер ендотеліоцитів – радіально у напрямку до центральної вени. Ознаки запалення або фіброзу не визначалися.

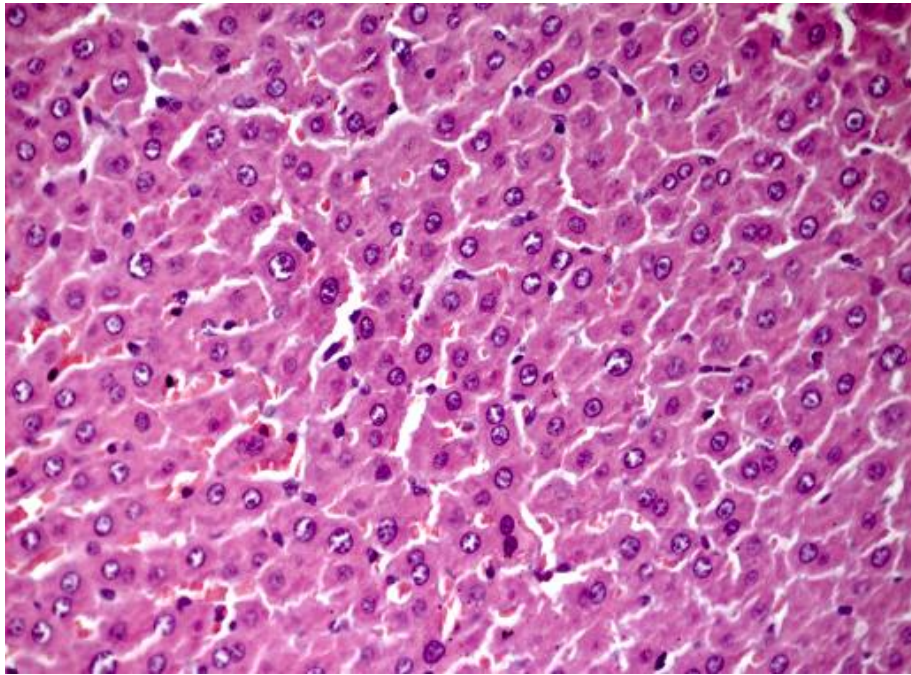


Рис. 4.3. Контрольна група. Нормальна гістологічна будова печінки; чітко візуалізуються ядра гепатоцитів з ядерцями; зустрічаються двоядерні гепатоцити (ядра яких гіперхромні) як ознака мітотичного поділу клітин. Забарвлення гематоксиліном-еозином. x400.

Проведення імуногістохімічного дослідження не виявило суттєвої експресії маркерів запальної активації NF- κ B і TNF- α у гепатоцитах (Рис.4.4, 4.5). Слабка позитивна реакція на TNF- α визначалася в ділянках уздовж синусоїдних капілярів та відповідала за локалізацією візуалізованим CD68 позитивним клітинам (Рис.4.5).

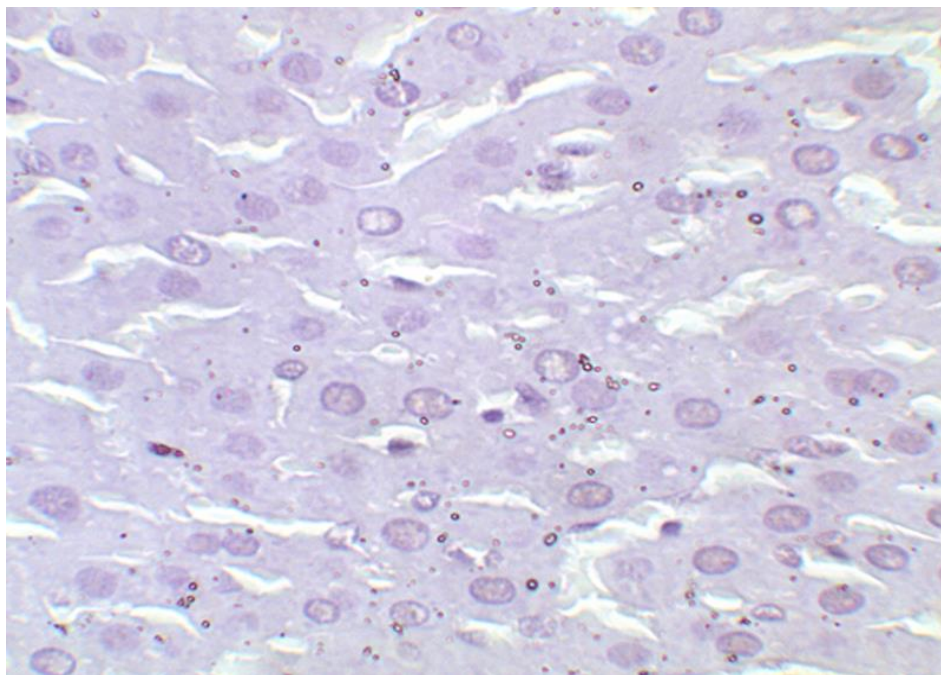


Рис. 4.4. Печінка контрольної групи. Імуногістохімічна реакція з використанням антитіл до NF-kB. Реакція відсутня. Зб. x400.

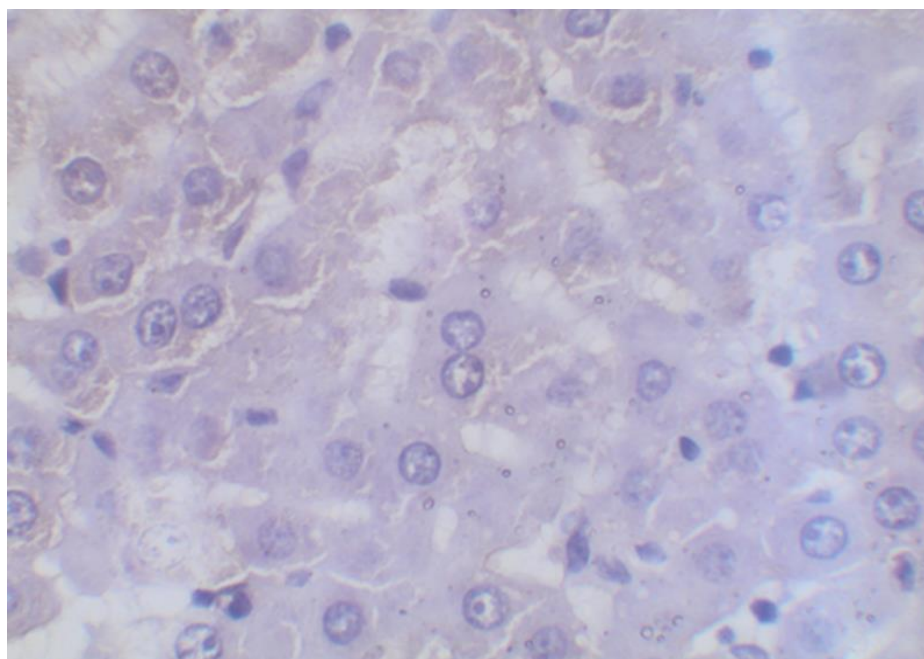


Рис. 4.5. Печінка контрольної групи. Імуногістохімічне дослідження з використанням антитіл до TNF- alpha. Слабка позитивна реакція на TNF-alpha в ділянках уздовж синусоїдних капілярів Зб. x400.

Імуногістохімічна реакція на CD68 визначалася в межах стінки синусоїдних капілярів (близько 50% судинної вистілки) (Рис. 4.6).

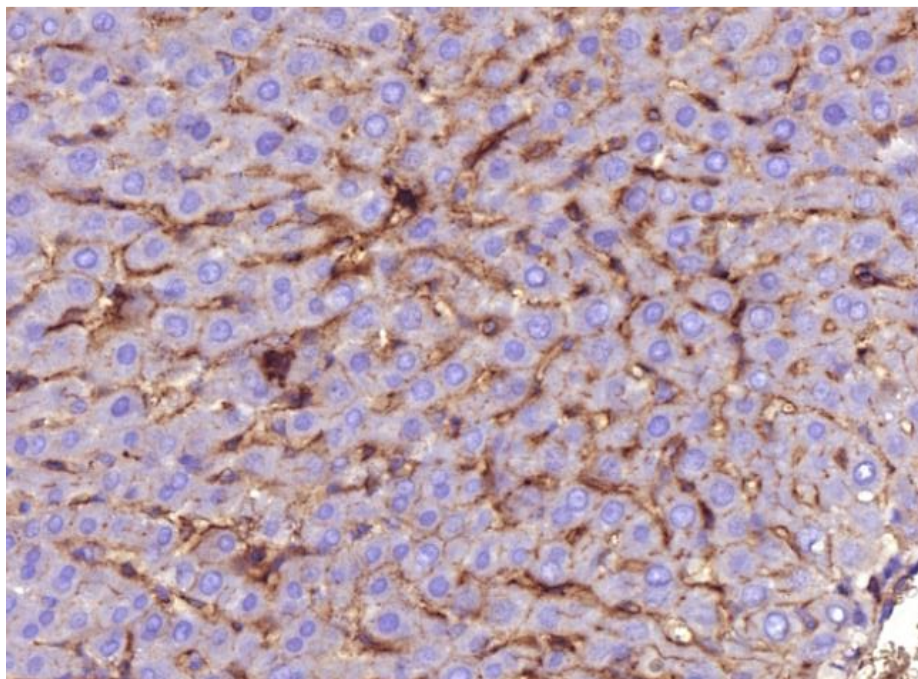


Рис. 4.6. Макрофаги уздовж синусоїдних капілярів печінки щурів контрольної групи. Імуногістохімічна реакція з використанням антитіл до CD68. Зб. x400.

При цьому кількість і розподіл CD68 позитивних клітин може відповідати локалізації клітин Купфера, що за своєю природою є макрофагами і експресують макрофагальні маркери.

4.2. Вплив глутамат-індукованого ожиріння на структуру печінки

У групі тварин з глутамат-індукованим ожирінням структура печінкових часточок відрізнялася від контролю і за особливостями морфологічних змін відповідала НАЖХП. В першу чергу привертала до себе увагу будова

портальних трактів – окрім кровонаповнення міжчасточкових вен, визначалися ознаки запальної інфільтрації у сполучній тканині навколо триад (Рис. 4.7).

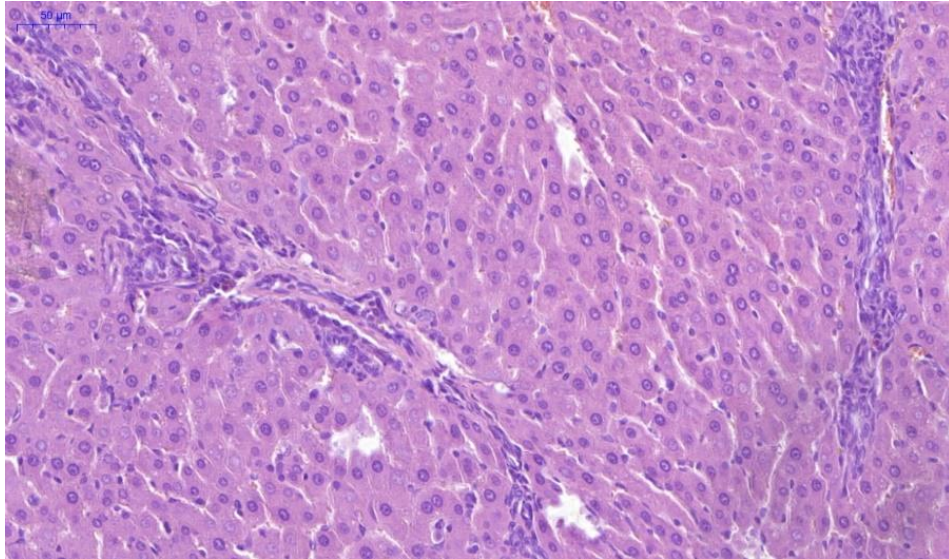


Рис. 4.7. Група щурів з глутамат-індукованим ожирінням. Запальна інфільтрація уздовж навколочасточкових судин (портальних трактів), що визначає чітку візуалізацію меж часточок у печінці тварин з глутамат-індукованим ожирінням. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Зб. х200.

Окрім запалення, у 3 щурів (33,3%) виявлено легкий перивенулярний та перисинусоїдальний фіброз, пов'язаний із портальним запаленням та фіброзом, типовим для неалкогольного стеатогепатиту (Рис. 4.8).

Такі зміни в межах портальних трактів визначали чітку візуалізацію меж часточок. В останніх також визначалися ділянка дифузної чи локальної лімфогістіоцитарної інфільтрації (Рис. 4.9).

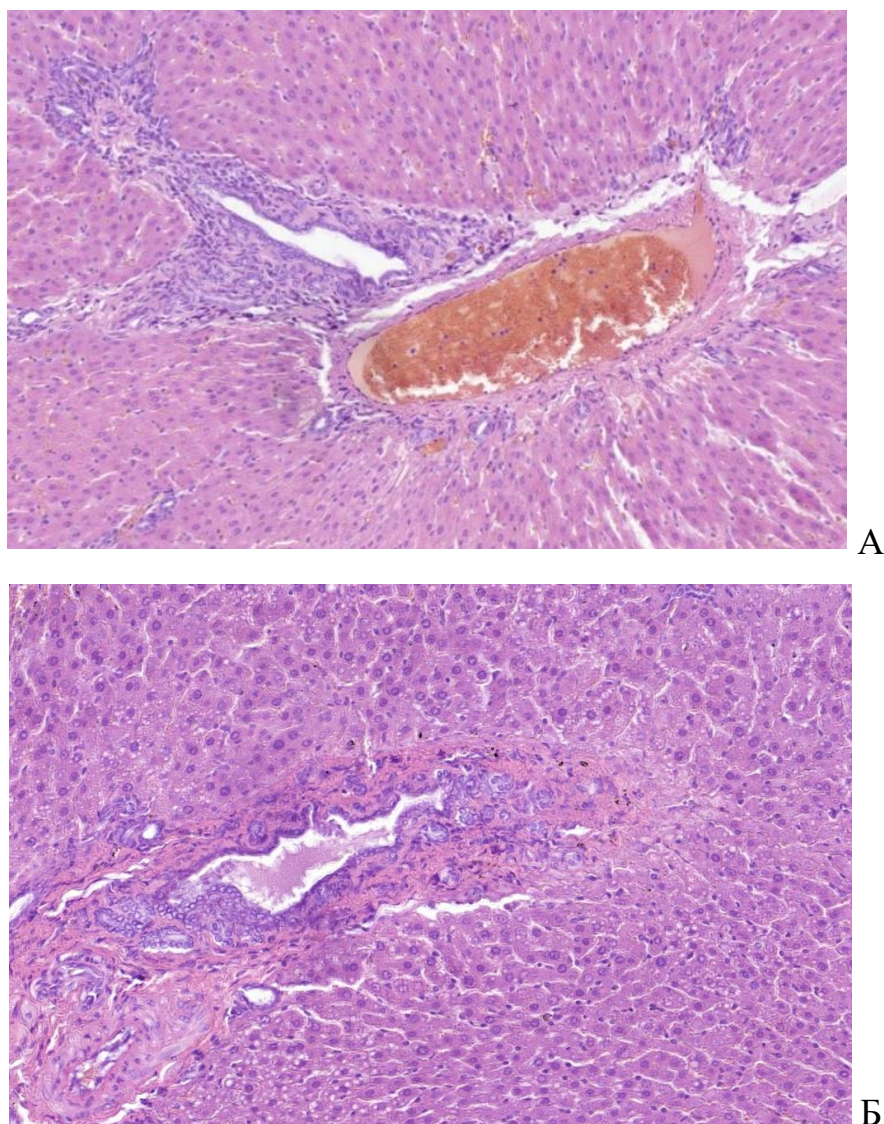


Рис. 4.8. Група щурів з глутамат-індукованим ожирінням. Фібротичні та запальні зміни навколо триад у печінці щурів з глутамат-індукованим ожирінням. Міжчасточкові перегородки розширені за рахунок акумуляції матриксу багатого на колагенові волокна у ділянках навколо триад. А,Б. Збарвлення гематоксиліном та еозином. Зб. x100.

При цьому лімфоцити та макрофаги визначалися переважно у перисинусоїдальному просторі, більшою мірою поблизу центральної вени. Часто лімфоцити та макрофагоподібні клітини виявлялися у просвіті синусоїдних капілярів та вздовж їх внутрішньої вистилки. Виразність лобулярної запальної інфільтрації у тварин з глутамат-індукованим ожирінням варіювала і в середньому складала $1,20 \pm 0,17$.

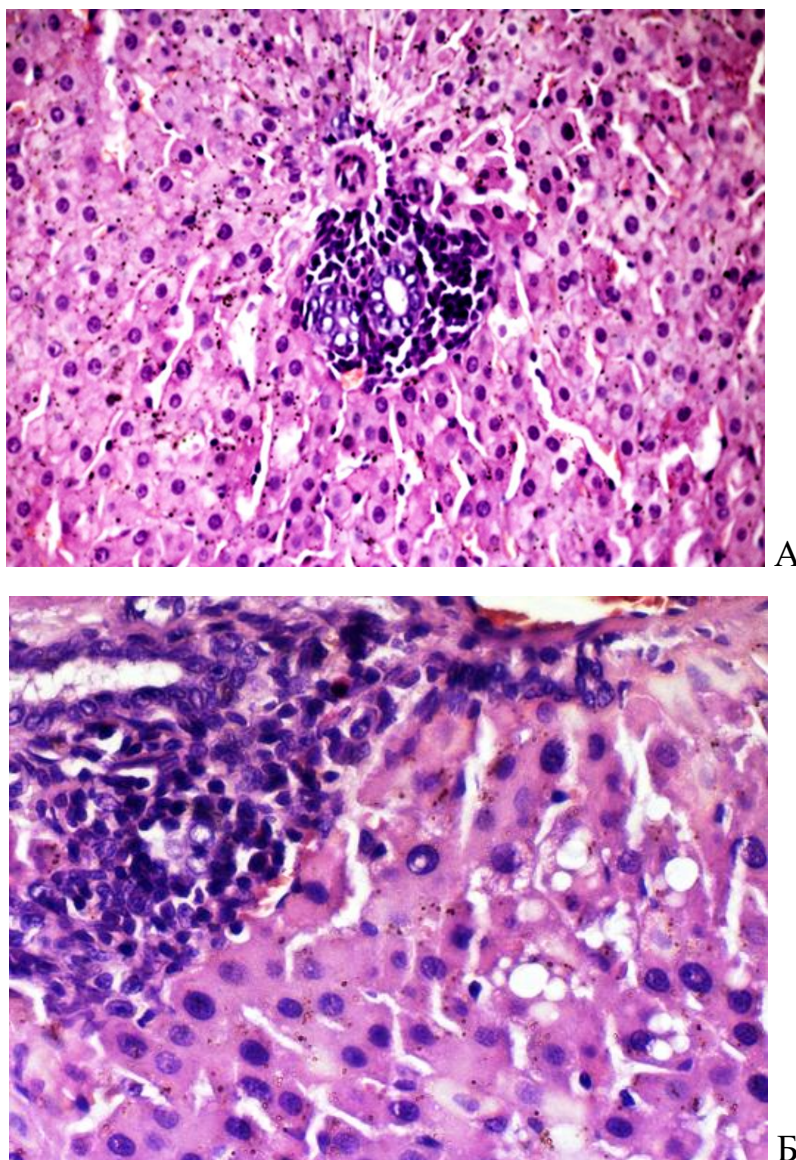


Рис. 4.9. Група щурів з глутамат-індукованим ожирінням. Вогнищева інфільтрація лімфоцитами і макрофагами в межах печінкових часточок, нерівномірне кровонаповнення судин та дистрофічні зміни у гепатоцитах. Забарвлення гематоксиліном та еозином Зб. А - x200, Б – x400.

При цьому місцями визначалася дезорганізація печінкових балок на фоні нерівномірного кровонаповнення синусоїдних капілярів та центральних вен. Гепатоцити були гетерогенні за розміром та будовою. В них варіювали розмір та кількість ядер, об'єм та забарвлення цитоплазми, виразність дистрофічних змін. Частина гепатоцитів були великих розмірів і мали ознаки

дистрофічних змін – за рахунок інфільтрації цитоплазми жировими краплинами, які при забарвленні гематоксиліном та еозином мали вигляд незабарвлених кулястих вакуолей. У більшості щурів спостерігалась дрібно-і середньокрапельна жирова дистрофія (Рис. 4.10). В двох випадках жирові вакуолі були значних розмірів, спостерігалася дифузна великокрапельна жирова дистрофія (Рис. 4.11). Такі ознаки мала значна кількість гепатоцитів, що визначало формування типового морфологічного фенотипу стеатозу.

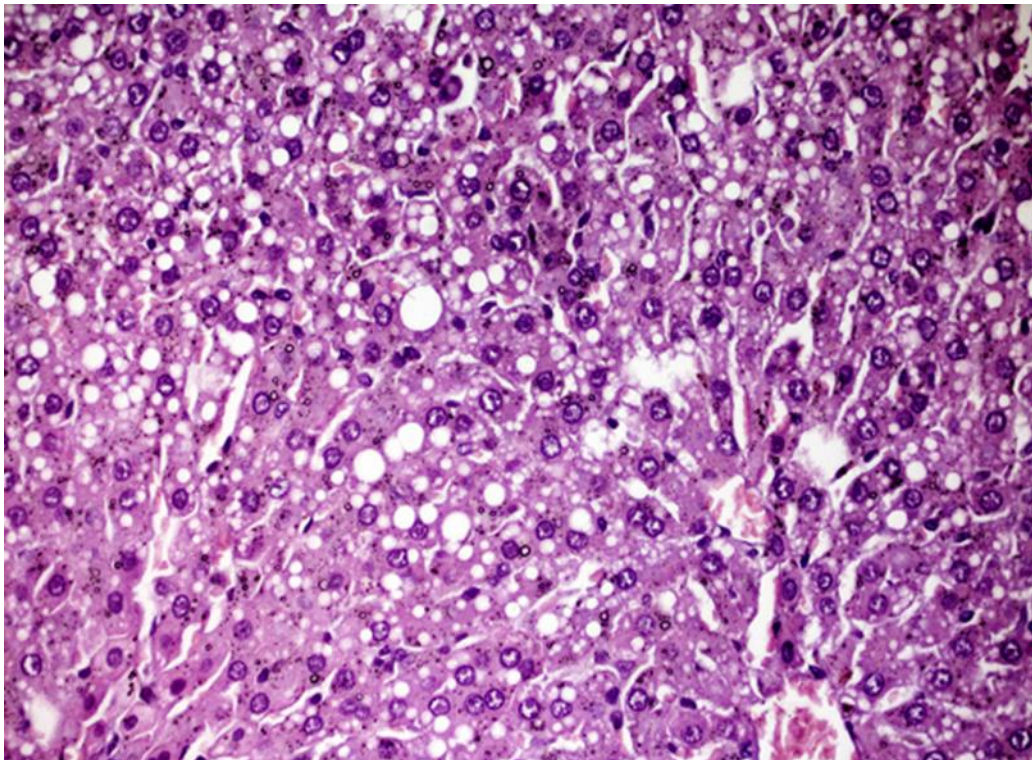
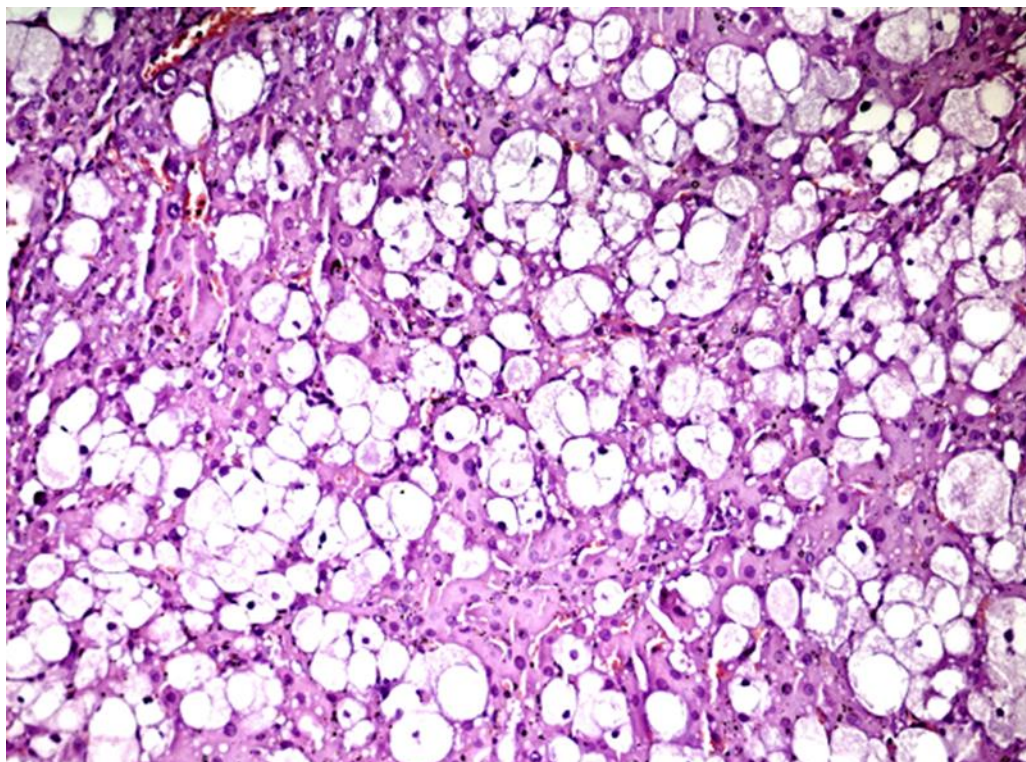
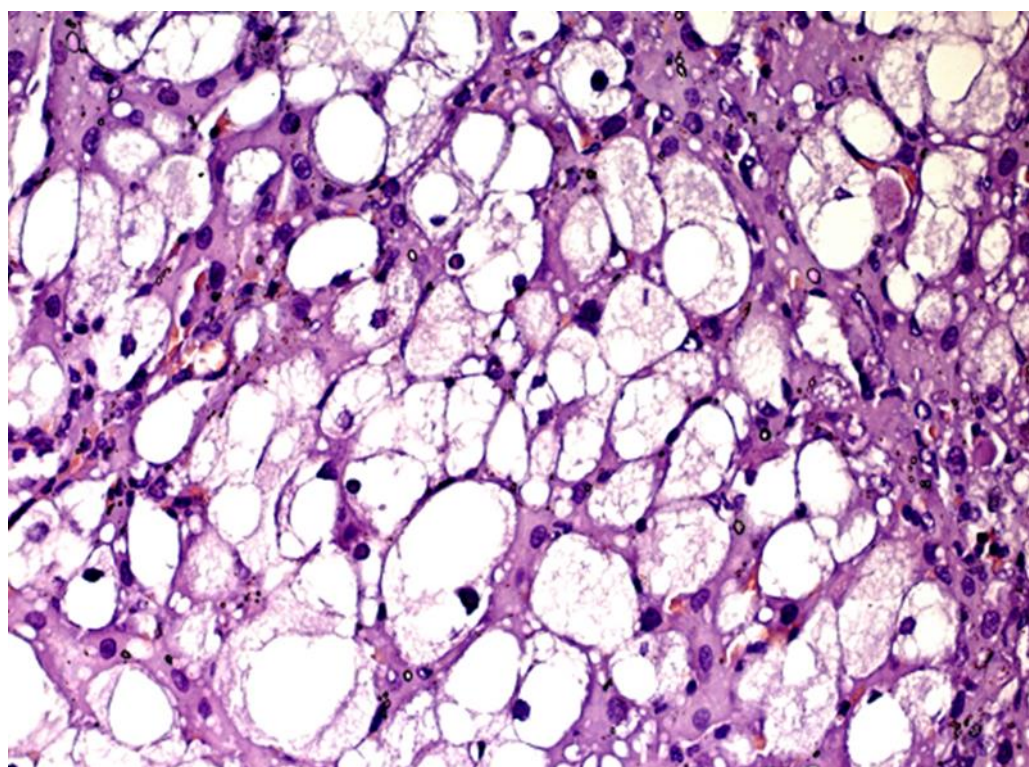


Рис. 4.10. Група щурів з глутамат-індукованим ожирінням. Дрібно-середньокрапельна жирова дистрофія гепатоцитів. Забарвлення гематоксиліном та еозином Зб. х200.



А



Б

Рис. 4.11. Група щурів з глутамат-індукованим ожирінням. Дифузна великокравельна жирова дистрофія гепатоцитів. Збарвлення гематоксиліном-еозином. Зб. А - x200, Б – x400.

Окрім дрібнокраплинної жирової інфільтрації у ряді клітин виявлялися глибокі дистрофічні зміни у вигляді балонної дегенерації (Рис. 4.12).

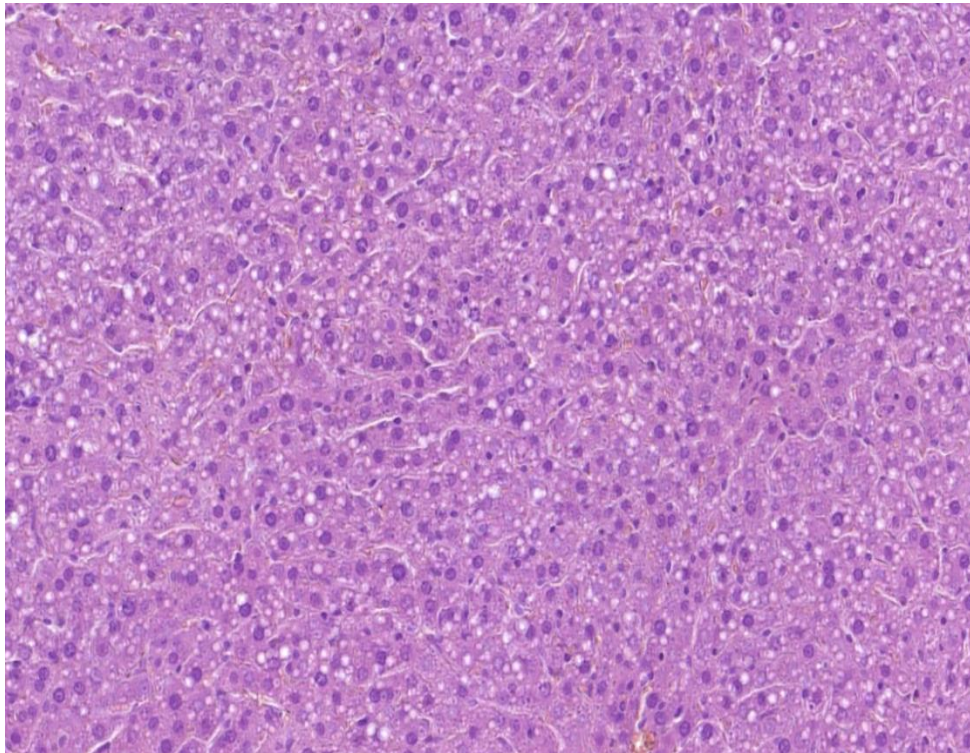


Рис. 4.12. Група щурів з глутамат-індукованим ожирінням. Балонні зміни у гепатоцитах щурів з глутамат-індукованим ожирінням. Забарвлення гематоксиліном та еозином. 36.х200.

Виразність стеатозу варіювала у різних тварин експериментальної групи, дорівнюючи в середньому $1,8 \pm 0,17$. Окрім ектопічного накопичення жиру та дистрофії, ряд гепатоцитів мали ознаки репаративних змін. Такі клітини були невеликого розміру, мали світле кулясте ядро, багате на еухроматин, з 2-4 ядерцями та базофільно забарвленою цитоплазмою. Оцінюючи запальні та дистрофічні зміни в печінці експериментальних тварин, загальний показник НАСГ досяг $3,33 \pm 0,36$ бали.

Ці зміни супроводжувались збільшенням кількості макрофагів у печінці. Численні позитивні CD68 клітини покривали майже всю поверхню синусоїдальних капілярів, що дозволило віднести їх до клітин Купфера (Рис.4.13). Крім того, у перипортальних інфільтратах виявлено численні

позитивні CD68 позитивних клітини. Їх чисельність була пов'язана з виразністю запальної інфільтрації стромы навколо триад.

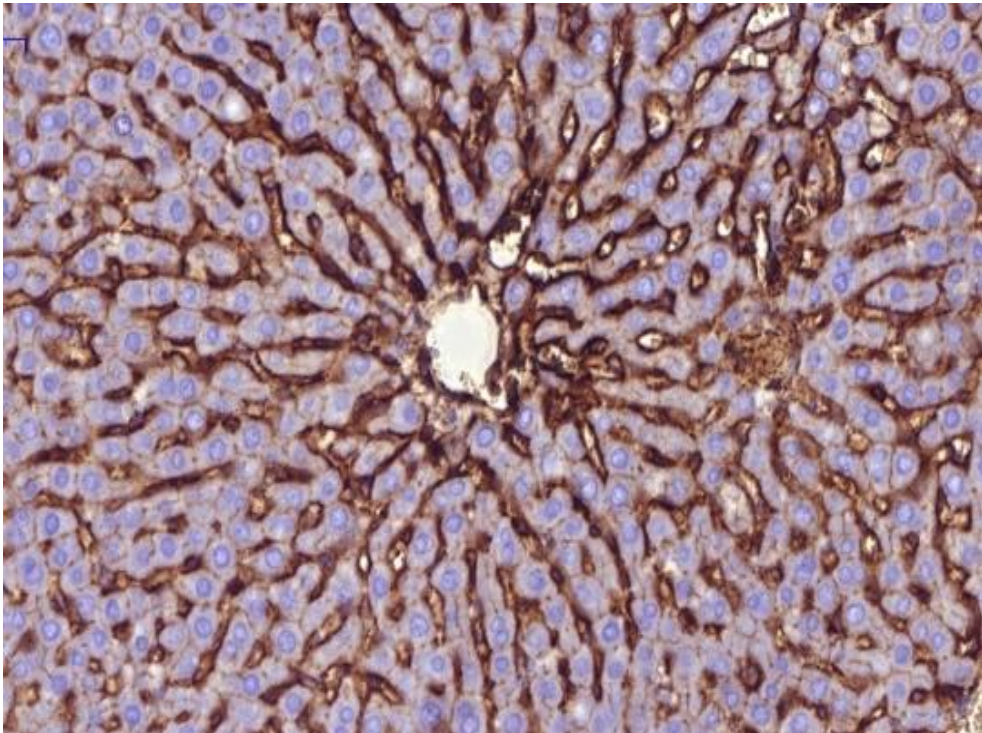
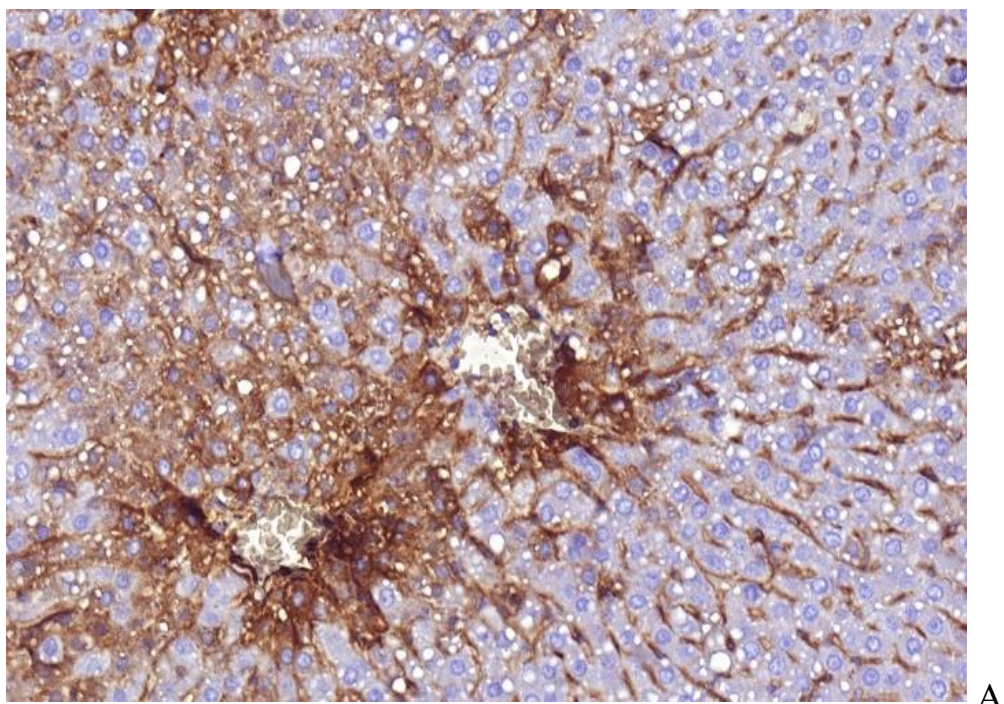
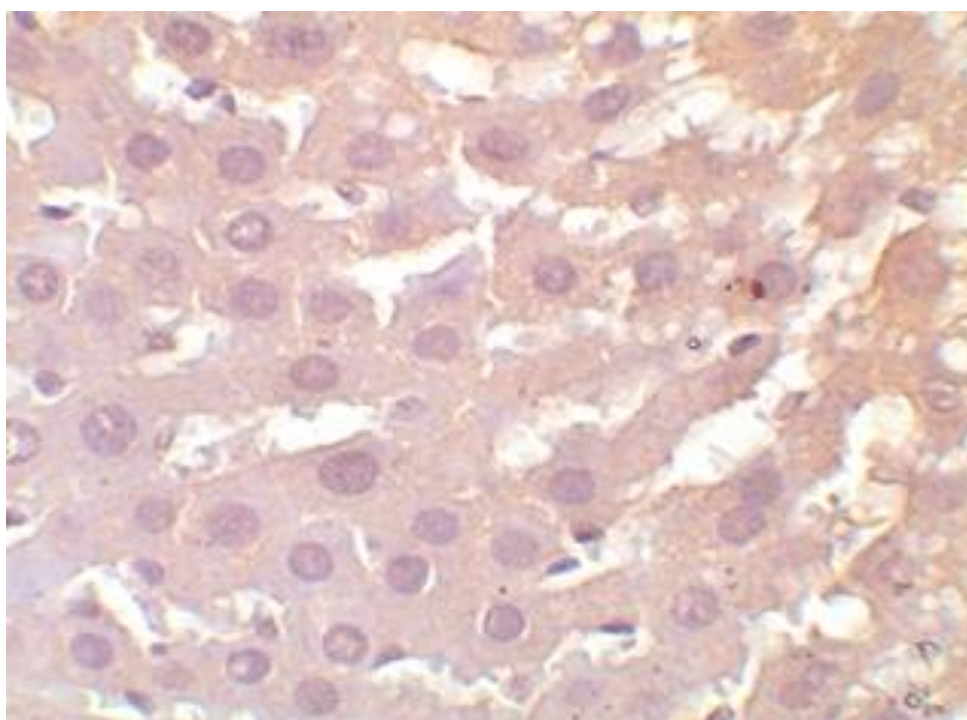


Рис. 4.13. Група щурів з глутамат-індукованим ожирінням. Чисельні макрофаги у печінці щурів з глутамат-індукованим ожирінням визначаються удовж усіх синусоїдних капілярів. Максимальні реакція на CD68 визначається поблизу від центральної вени. Імуногістохімічна реакція з використанням антитіл до CD68. 3б. x200.

Схожим до просторової візуалізації CD68 позитивних клітин був розподіл клітин з ознаками експресії NF- κ B і TNF- α . Оскільки макрофаги і, зокрема, клітини Купфера вважаються основним джерелом продукції TNF- α , отримані результати можуть продемонструвати роль прозапальної активації і продукції TNF- α у розвитку НАСГ. Крім того, помірна імунопозитивна реакція на TNF- α була виявлена в гепатоцитах у щурів з НАСГ (Рис. 4.14).



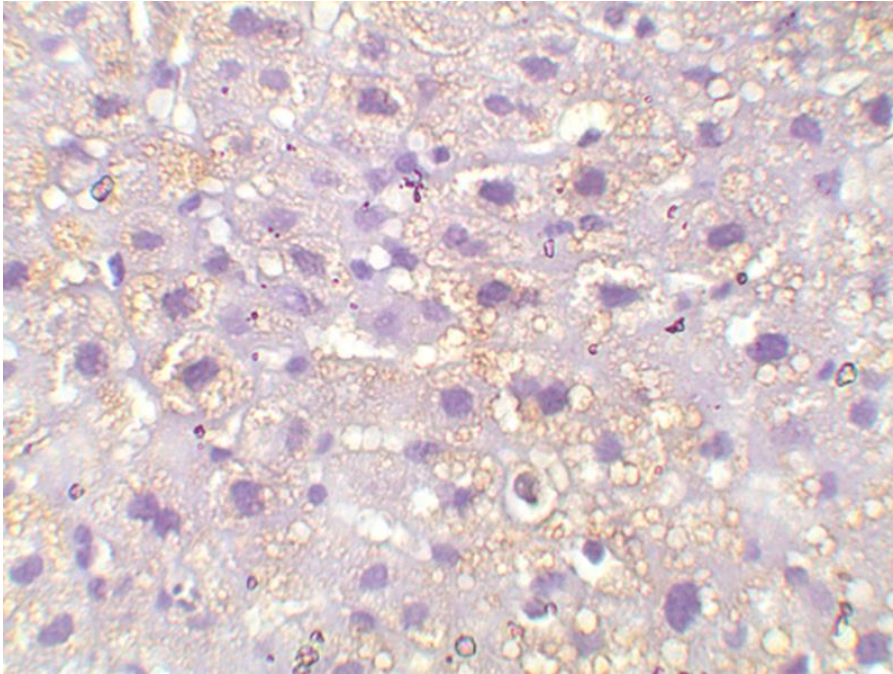
А



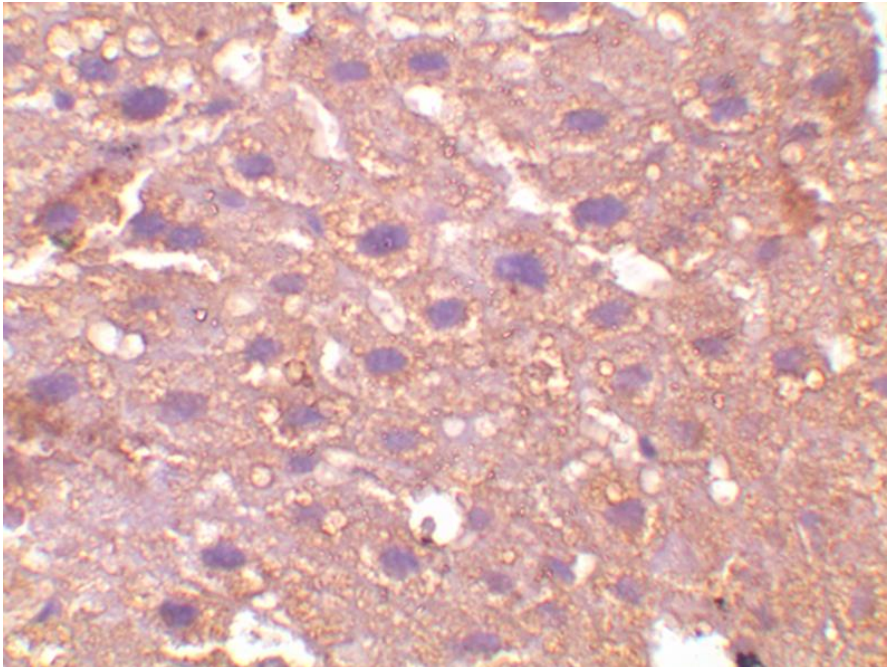
Б

Рис.4.14. Група щурів з глутамат-індукованим ожирінням. Експресія TNF-alpha в клітинах стінки синусоїдних капілярів та гепатоцитах з ознаками жирової інфільтрації. Імуногістохімічна реакція з використанням антитіл до TNF- alpha. 3б. А - x200, Б – x400.

Закономірно, що інтенсивність імуногістохімічного забарвлення щодо TNF-alpha корелювала з виразністю експресії NF-kB ($r = 0,782$, $P < 0,001$). Остання визначалася не тільки в макрофагах, але й в цитоплазмі гепатоцитів, особливо в ділянках стеатозу (Рис. 4.15).



А



Б

Рис. 4.15. Група щурів з глютамат-індукованим ожирінням. Експресія NF-kB в цитоплазі гепатоцитів. Імуногістохімічне забарвлення з використанням антитіл до NF-kB. А – помірна експресія, Б – виражена експресія. Зб. x400.

Характерно, що виразний стеатоз та пошкодження клітин супроводжувались ядерною експресією NF- κ B в гепатоцитах (Рис. 4.16).

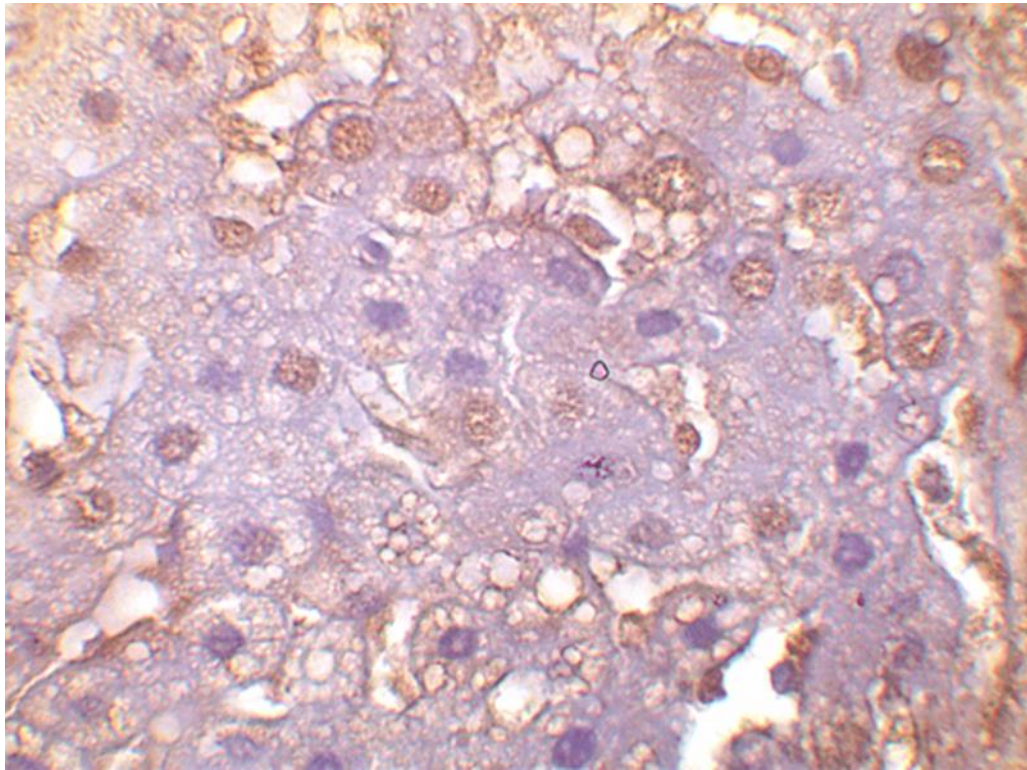


Рис. 4.16. Група щурів з глутамат-індукованим ожирінням. Експресія NF- κ B в ядрах гепатоцитів. Імуногістохімічна реакція з використанням антитіл до NF- κ B. Зб. $\times 400$.

Таким чином, ожиріння, спричинене глутаматом натрію у новонароджених, асоційоване з розвитком НАЖХП, що супроводжується активацією запальних шляхів як в клітинах перисинусоїдального простору, так і в гепатоцитах. Активація сигнального шляху NF- κ B було асоційоване з виразністю лобулярного та перипортального запалення і експресією TNF- α .

4.3. Вплив меланіну на розвиток неалкогольної жирової хвороби печінки у щурів з ожирінням

Призначення меланіну щурам з глютаMAT-індукованим ожирінням обмежувало виразність патологічних змін у печінці, значно знижуючи ступінь стеатозу та запобігаючи незворотному ушкодженню гепатоцитів у вигляді балонної дегенерації. Менш виразною була інфільтрація гепатоцитів ліпідами – лише незначна частка клітин печінки мала вакуолізацію, що відбиває ектопічне відкладення жиру (Рис. 4.17, 4.18).

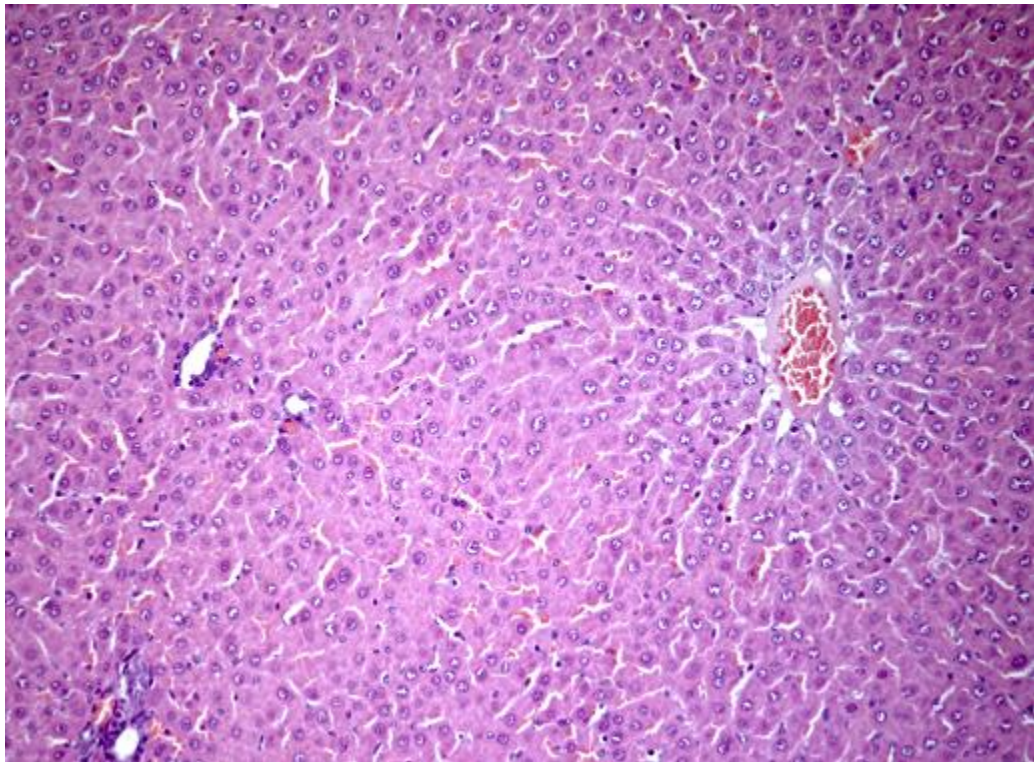


Рис. 4.17. Гістологічна будова печінки щурів з глютаMAT-індукованим ожирінням після корекції меланіном. Забарвлення гематоксиліном-еозином. Зб. x200.

Це призвело до статистично значущого зменшення показника ступеню стеатозу в умовах введення меланіну – він виявився на 59,4% нижчим ($p < 0,01$) порівняно з групою тварин з глютаMAT-індукованим ожирінням без корекції.

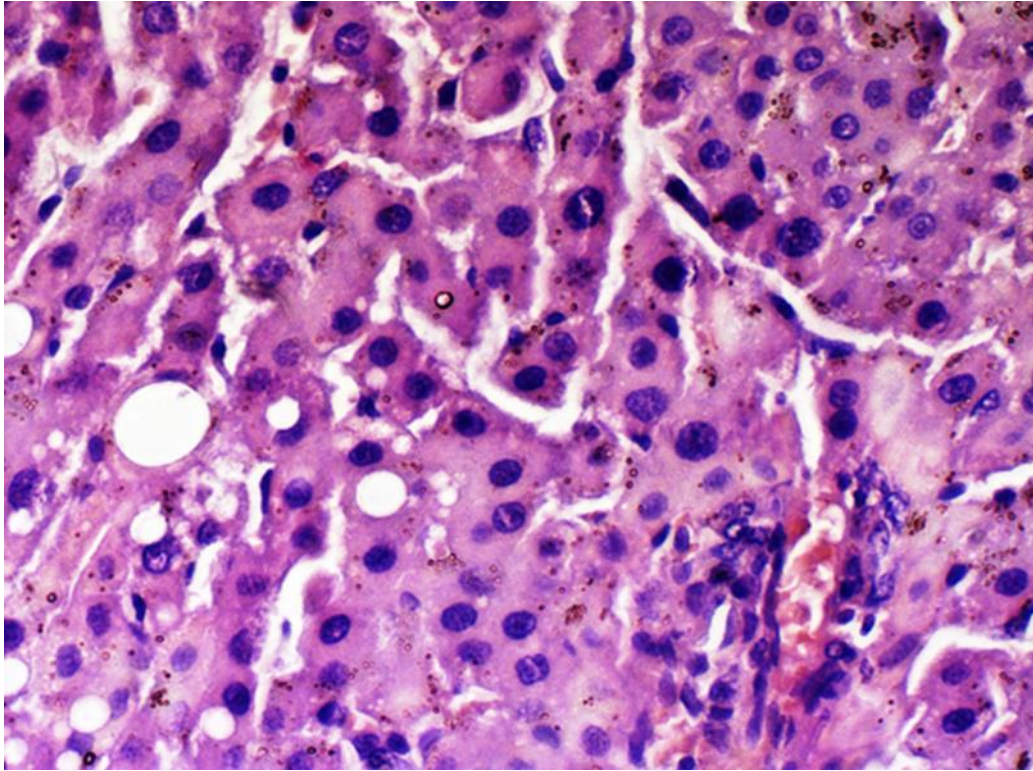


Рис. 4.18. Гістологічна будова печінки щурів з глютаMAT-індукованим ожирінням після корекції меланіном. Слабо виражена жирова дистрофія гепатоцитів. Забарвлення гематоксиліном-еозином. $\times 400$.

Характерно, що на відміну від щурів з глютаMAT-індукованим ожирінням без корекції, печінка тварин, які отримували меланін, характеризувалася відсутністю чітких меж часточок. Визначаються лише незначні локальні лімфогістіоцитарні інфільтрати (Рис. 4.19).

Міжчасточкова строма була ніжною, лише локально визначалися незначні за розміром інфільтрати. Спостерігалася вогнищева помірна інфільтрація портальних трактів лімфоцитами, макрофагами (Рис. 4.20).

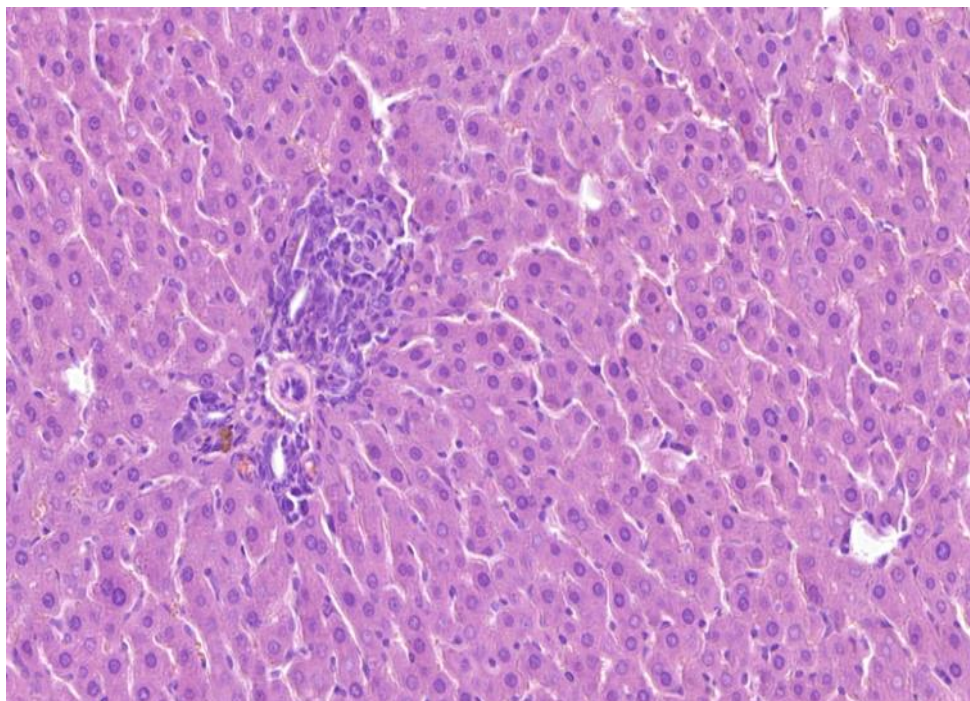


Рис. 4.19. Гістологічна будова печінки щурів з глутамат-індукованим ожирінням після корекції меланіном. Визначаються лише незначні локальні лімфогістіоцитарні інфільтрати. Межі часточок не візуалізуються. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Зб. x200.

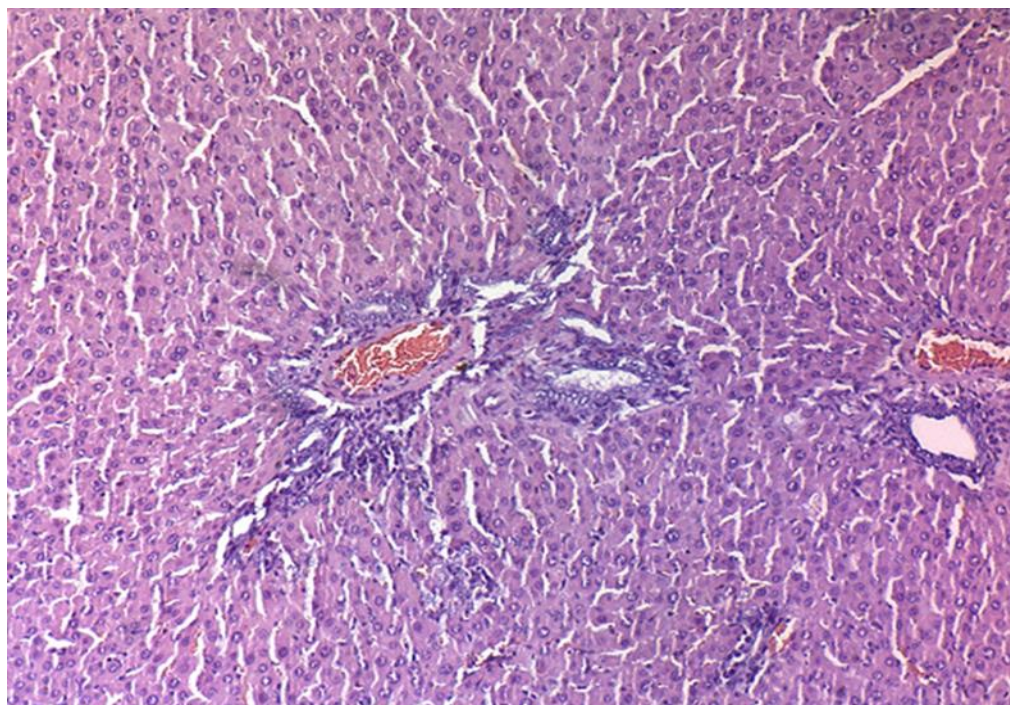


Рис. 4.20. Гістологічна будова печінки щурів з глутамат-індукованим ожирінням після корекції меланіном. Вогнищева помірна інфільтрація портальних трактів лімфоцитами, макрофагами. Забарвлення гематоксиліном-еозином. Зб. x200.

За рахунок такого протизапального ефекту меланіну було зареєстроване істотне ослаблення показника лобулярного запалення у щурів (4.21-4.22).

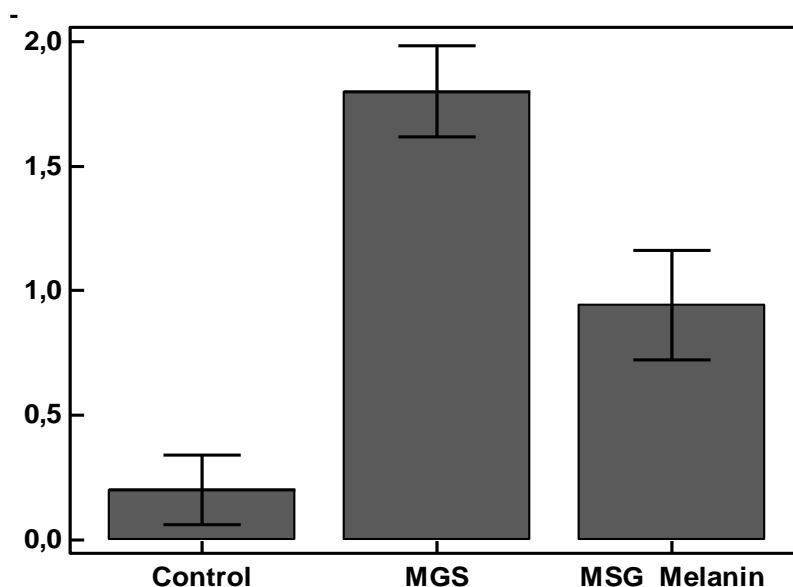


Рис. 4.21. Ефект меланіну на показник стеатозу в печінці щурів з глутамат-індукованим ожирінням.

Примітка. По осі абсцис – групи тварин: MSG – тварини з глутамат-індукованим ожирінням. MSG+Melanin – тварини з глутамат-індукованим ожирінням які отримували корекцію меланіном. По осі ординат – виразність стеатозу, що оцінювалася за шкалою у балах.

Разом з позитивним ефектом меланіну на гепатоцити, це призвело до зменшення загального показника НАСГ у тварин з глутамат-індукованим ожирінням на фоні корекції (Рис. 4.23), порівняно з щурами експериментальної групи, що не отримували меланін ($p < 0,001$).

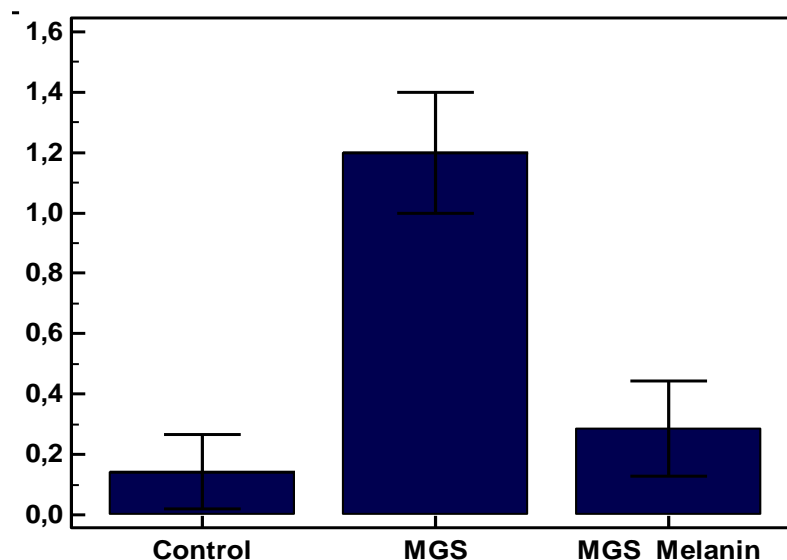


Рис. 4.22. Ефект меланіну на показник запальної інфільтрації в печінці щурів з глутамат-індукованим ожирінням.

Примітка. По осі абсцис – групи тварин: MSG – тварини з глутамат-індукованим ожирінням. MSG+Melanin – тварини з глутамат-індукованим ожирінням які отримували корекцію меланіном. По осі ординат – виразність запалення, що оцінювалася за шкалою у балах.

Описані гістологічні зміни були пов'язані зі значним зниженням кількості макрофагів (Рис.4.24), експресії TNF α в клітинах синусоїдних капілярів (Рис. 4.25, 4.26) і обмеження експресії NF- κ B (Рис. 4.27) в гепатоцитах та клітинах перисинусоїдального простору (Табл. 4.1).

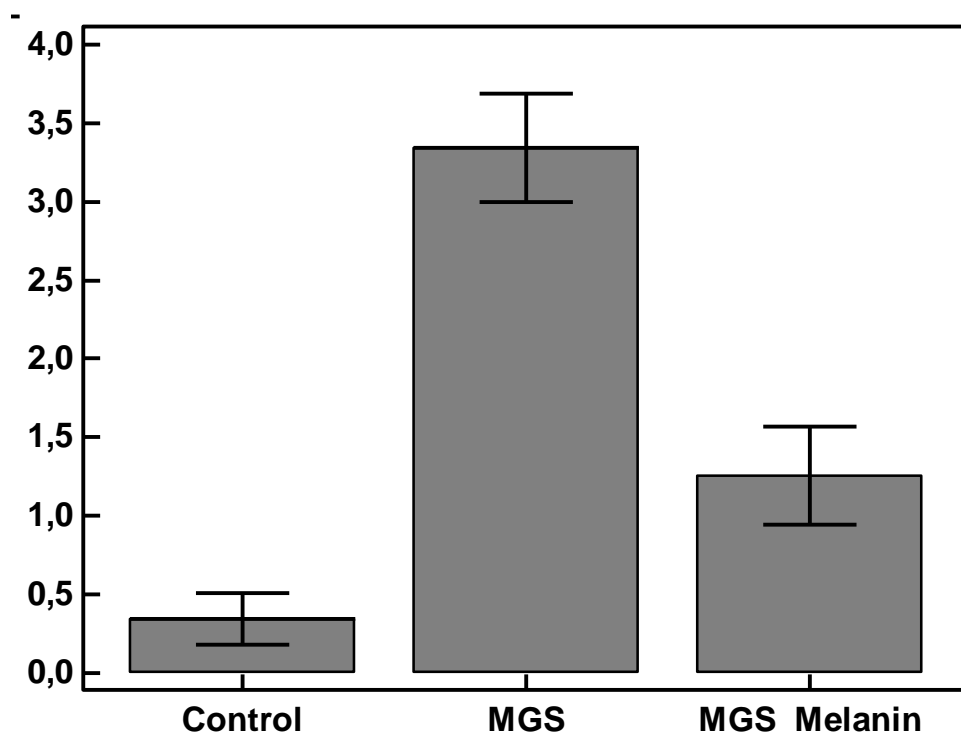


Рис. 4.23. Ефект меланіну на загальний показник виразності НАСГ у щурів з глутамат-індукованим ожирінням.

Примітка. По осі абсцис – групи тварин: MSG – тварини з глутамат-індукованим ожирінням. MSG+Melanin – тварини з глутамат-індукованим ожирінням які отримували корекцію меланіном. По осі ординат – виразність неалкогольного жирового ураження печінки у виді стеатогепатиту, що оцінювалася за шкалою у балах.

При аналізі кількості та розподілу макрофагів визначалася чітка тенденція до центрипетального збільшення кількості клітин позитивних до CD68. Якщо на периферії часточок визначалася лише незначна кількість CD68 позитивних клітин, то у напрямку до центральної вени їх кількість значно зростала, формуючи площу вистилки синусоїдних капілярів.

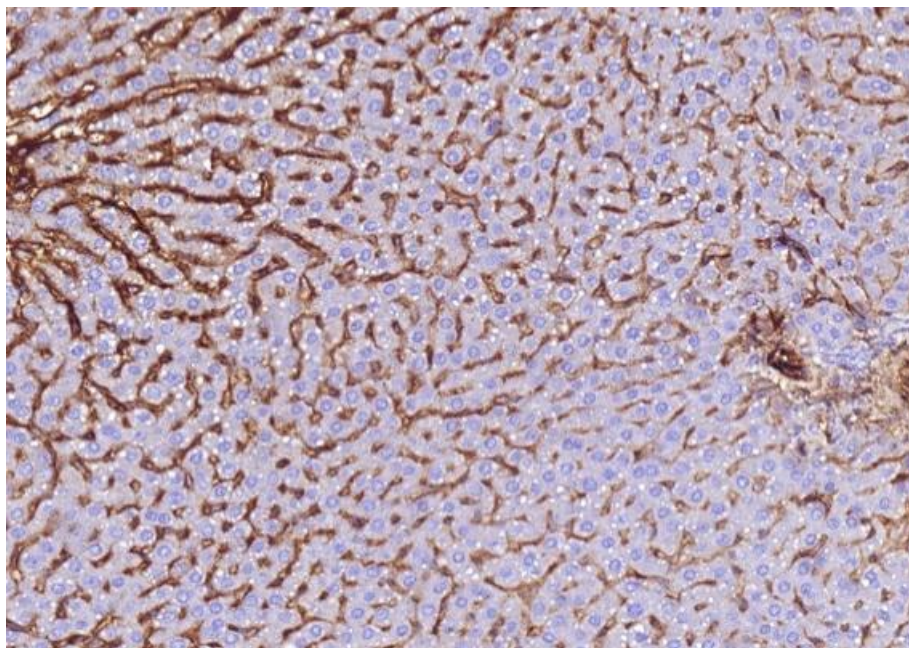


Рис. 4.24. Група щурів з глутамат-індукованим ожирінням і корекцією меланіном. Зменшення кількості та центрипетальний паттерн розподілу макрофагів у печінці щурів з глутамат-індукованим ожирінням на фоні корекції меланіном. Імуногістохімічна реакція з використанням антитіл до CD68. Зб. x200.

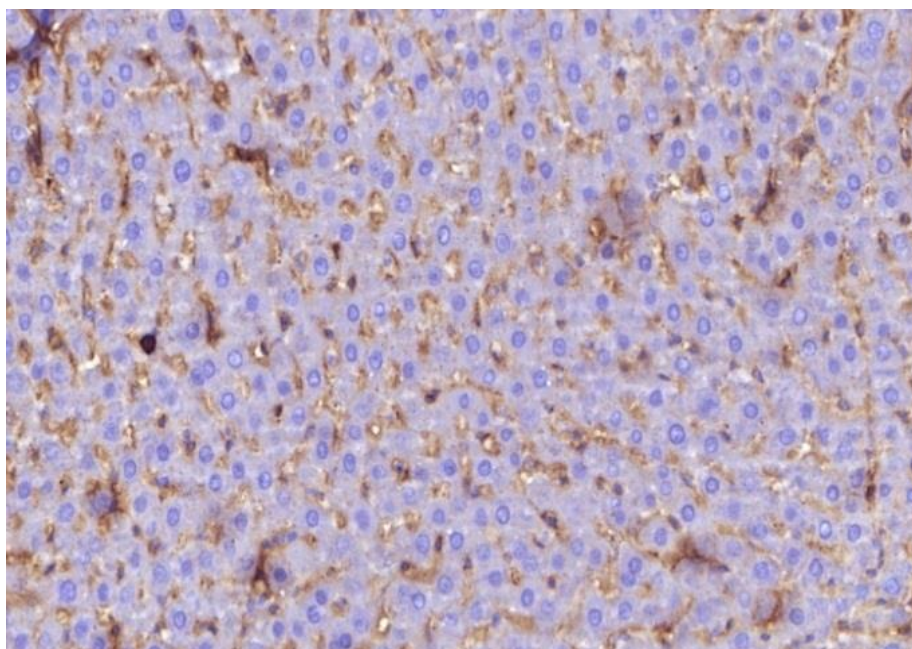


Рис. 4.25. Група щурів з глутамат-індукованим ожирінням і корекцією меланіном. Зменшення експресії TNF-alpha у печінці щурів з глутамат-індукованим ожирінням на фоні корекції меланіном. Імуногістохімічна реакція з використанням антитіл до TNF-alpha. Зб. x200.

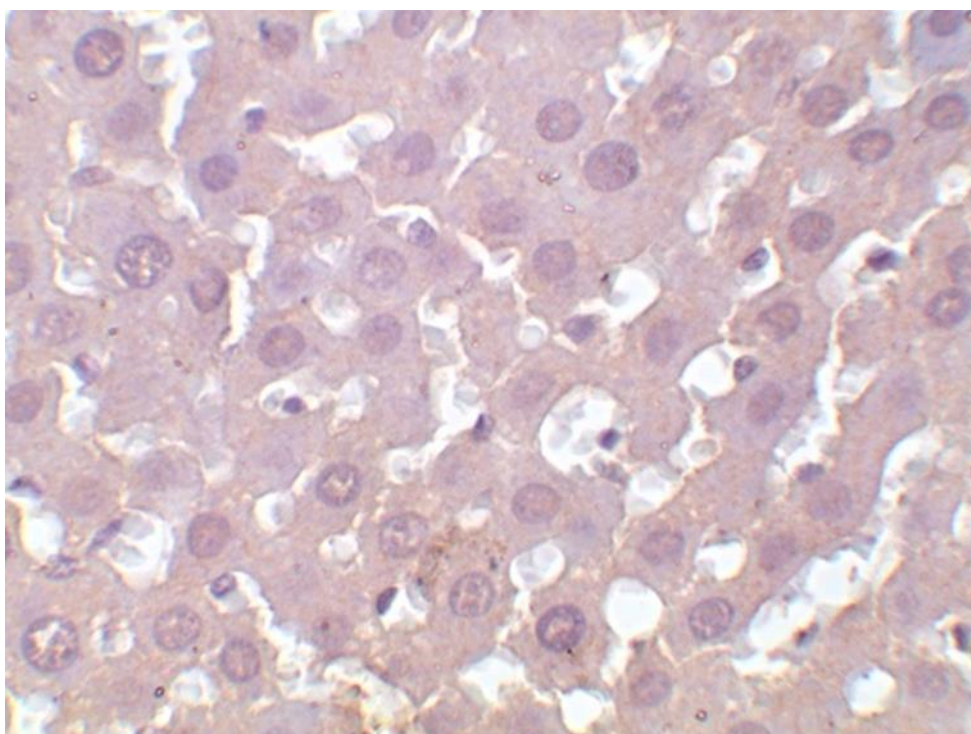


Рис. 4.26. Група щурів з глутамат-індукованим ожирінням і корекцією меланіном. Зменшення експресії TNF-alpha у печінці щурів з глутамат-індукованим ожирінням на фоні корекції меланіном. Імуногістохімічна реакція з використанням антитіл до TNF-alpha. Зб. x400.

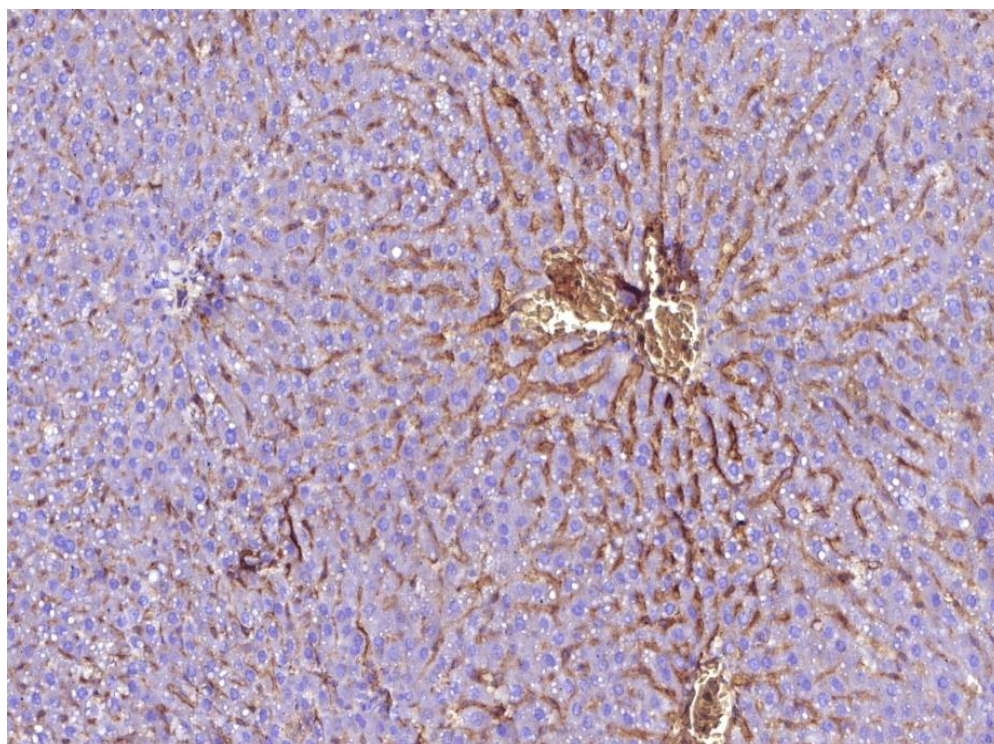


Рис. 4.27. Гетерогенна експресія NFkappaB в печінці щурів з глутамат-індукованим ожирінням на фоні корекції меланіном. Імуногістохімічна реакція з використанням антитіл до NFkappaB Зб. x200.

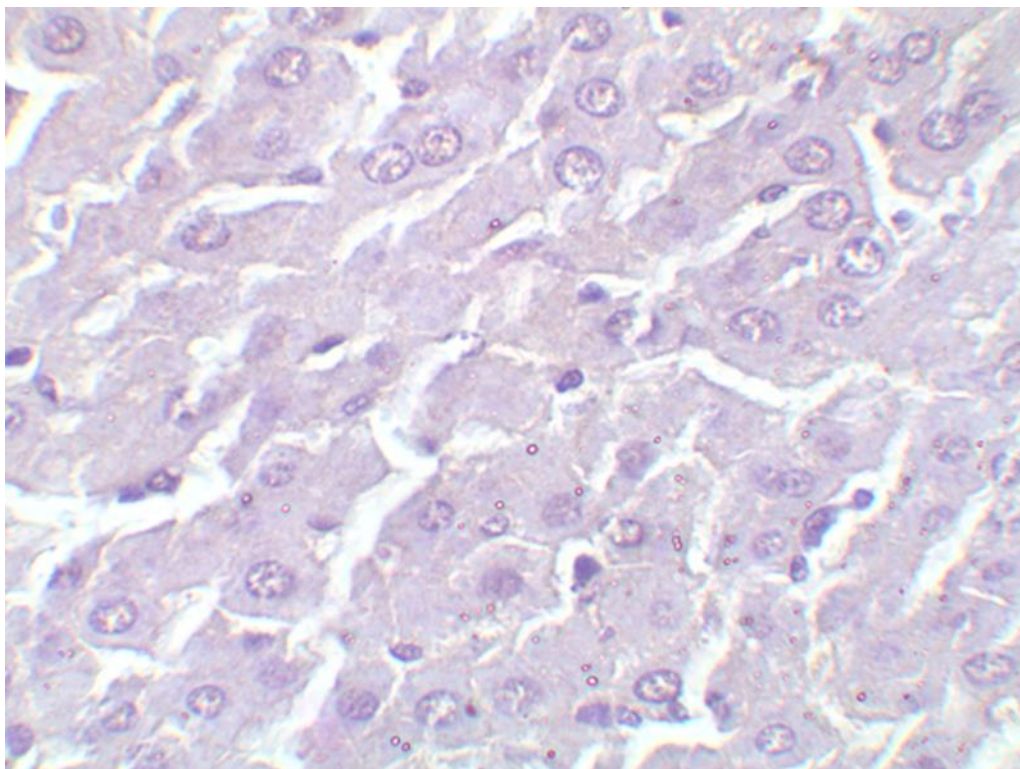


Рис. 4.28. Слабка експресія NFκB в печінці щурів з глутамат-індукованим ожирінням на фоні корекції меланіном. Імуногістохімічна реакція з використанням антитіл до NFκB 3б. х400.

Таблиця 4.1

Вплив меланіну на експресію NF-κB та TNFα в печінці

| Параметри | Контроль | Глутамат-індуковане ожиріння | Глутамат-індуковане ожиріння + Меланін | P |
|-----------------|------------|------------------------------|--|----------|
| Експресія TNFα | 0,19±0,09 | 3,49 ± 0,26 | 1,2 ± 0,13 | P <0,001 |
| Експресія NF-κB | 0,810±0,12 | 7,19 ± 0,36 | 1,61 ± 0,1 | P <0,001 |

Таким чином, введення меланіну тваринам з глютамат-індукованим ожирінням має гепатопротекторний вплив. Цей ефект обумовлений обмеженням жирової інфільтрації гепатоцитів та виразності стеатозу.

Крім того, меланін мав протизапальний ефект, забезпечуючи значне зниження кількості макрофагів та обмежуючи активацію експресії NF- κ B і TNF α . Це визначило обмеження лімфогістіоцитарної інфільтрації в межах печінкових часточок та перипортального просторі, результатом чого стало обмеження запальних та фібротичних змін, що відбиває пригнічення розвитку статогепатиту.

РОЗДІЛ 5

МОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ ЗА УМОВ ГЛУТАМАТ-ІНДУКОВАНОГО ОЖИРІННЯ: МЕХАНІЗМИ КОРИГУЮЧОЇ ДІЇ МЕЛАНІНУ

5.1. Характеристика підшлункової залози тварин контрольної групи

Підшлункова залоза контрольних щурів мала нормальну будову, що характеризувалася паренхіматозно-часточковим типом організації (Рис.5.1).

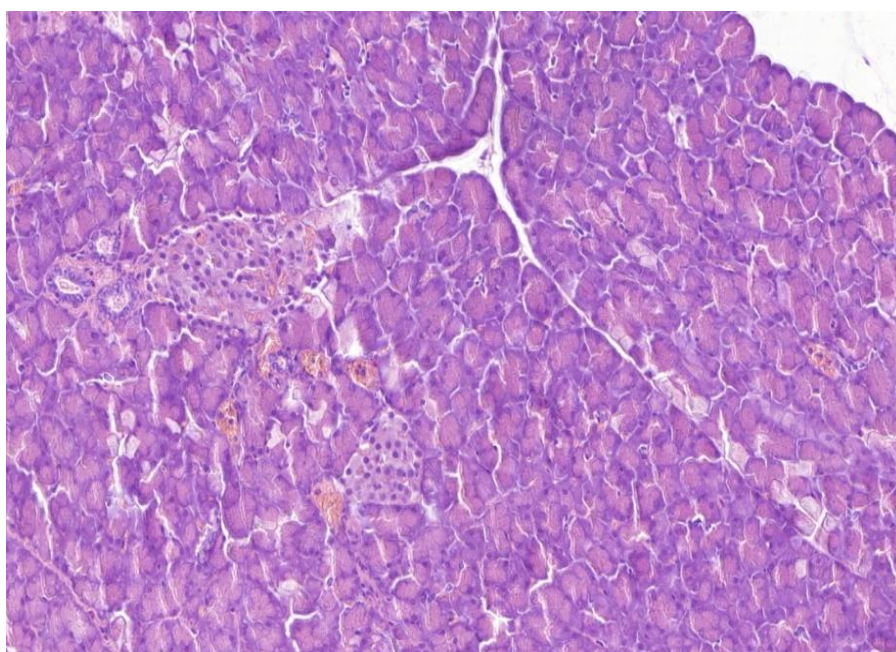


Рис. 5.1. Підшлункова залоза щура контрольної групи. Часточкова будова, превалювання екзокринної частини, поодинокі розташовані ендокринні острівці. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Зб. x100.

Більшу частину паренхіми підшлункової залози склали екзокринні ацинуси, в той час як частка ендокринні острівців сягала $8,3 \pm 0,72\%$ (95ДІ 6,68-9,92%). Екзокринна частина підшлункової залози формувала більшу частку

залози і була представлена щільно розташованими ацинусами. У межах кожного ацинусу ациноцити були орієнтовані регулярно, з відповідними базофільним забарвленням гомогенної, та оксифільним забарвленням зимогенної зони.

У центральній частині ацинусів виявлялися подекуди центроацинарні клітини. Строма у межах часточок була представлена тонкими прошарками пухкої волокнистої сполучної тканини, з ніжною сіткою капілярів. Міжчасточкові перегородки були представлені вузькими прошарками сполучної тканини, що розділяли підшлункову залозу на частки та містили кровоносні судини та міжчасточкові вивідні протоки. Протоки були вистелені одношаровим призматичним епітелієм, мали чіткий просвіт (Рис. 5.2).

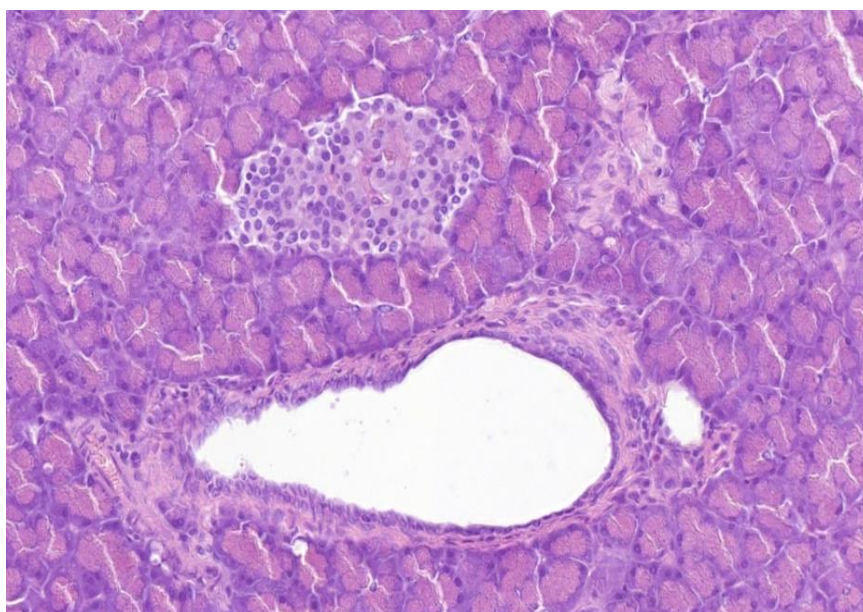


Рис. 5.2. Підшлункова залоза щура контрольної групи. Більшу частину часточки формують екзокринні ацинуси. Ендокринні острівці невеликого розміру. В межах нешироких міжчасточкових перетинок розташована міжчасточкова вивідна протока. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Зб. x200.

Ендокринні острівці були овальної або кулястої форми, найчастіше визначалися поодинокі розташовані острівці у межах часточок (Рис. 5.3).

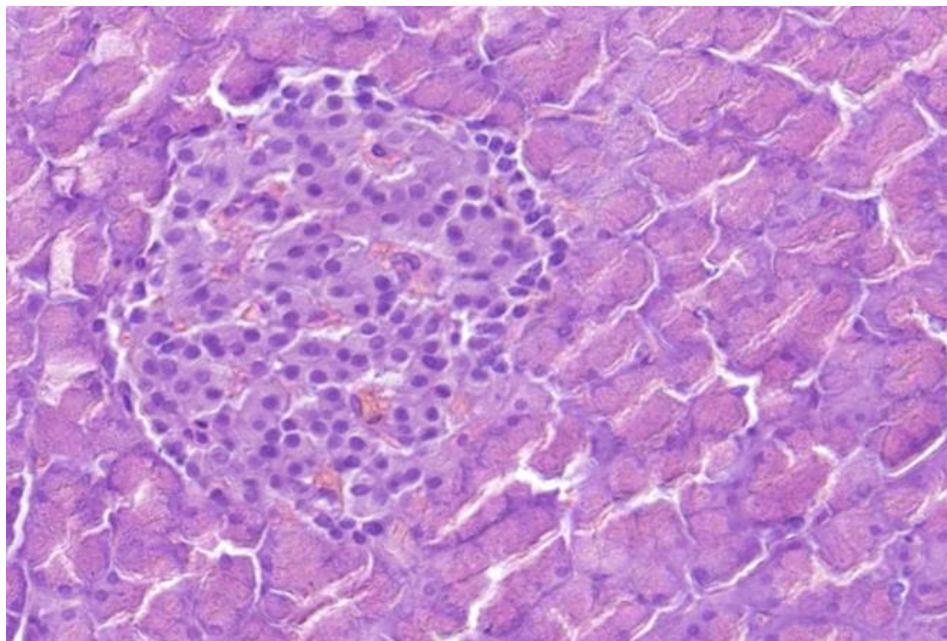


Рис. 5.3. Підшлункова залоза щура контрольної групи. Ендокринний острівець підшлункової залози кулястої форми, в межах острівця визначаються численні кровоносні капіляри. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Зб. х200.

Діаметр острівців дещо коливався у різних ділянках підшлункової залози, проте в середньому складав $167,7 \pm 5,48$ мкм (95% ДІ 155,3-180,1 мкм), а площа зрізу дорівнювала $21209,5 \pm 489,5$ (95% ДІ 20102,26 - 22316,68) мкм². В межах острівців визначалися рівномірно розташовані зрізи кровоносних судин, діаметр яких був більшим порівняно з капілярами екзокринної частини підшлункової залози.

Клітини у межах острівців були представлені переважно інсулоцитами, більшість з яких мали світло-базофільне забарвлення. Середня кількість клітин у межах одного острівця складала $127,1 \pm 1,0$ (95% ДІ 122,749 - 131,451).

Імуногістохімічне дослідження з оцінкою експресії прозапальних біомаркерів визначило наявність лише поодиноких макрофагів у межах підшлункової залози. При цьому виявлено помірну позитивну реакції щодо експресії індукованої ізоформи ферменту циклооксигенази-2 (COX-2),

залученого у біосинтез простаноїдів. Слабо виражена експресія COX-2 виявлялася переважно у межах острівців у нечисленних клітинах переважно у стінці кровоносних капілярів або у периваскулярному компартменті (Рис. 5.4), що може відповідати ендотеліальній експресії даного ферменту.

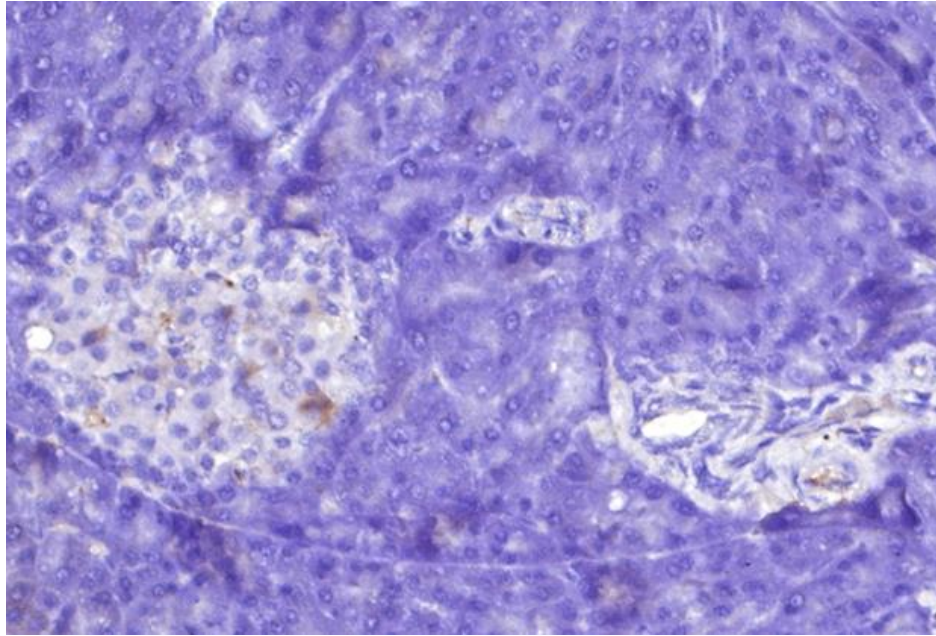


Рис. 5.4. Підшлункова залоза щура контрольної групи. Експресія COX-2 в окремих клітинах у межах панкреатичних острівців – переважно в межах стінки судин. Імуногістохімічна реакція з використанням МАТ до COX-2. Зб. x200.

Імуногістохімічна реакція з антитілами проти TNF-alpha антигену і проти NF-кВ антигену в підшлунковій залозі щурів контрольної групи була негативною як в ацинусах екзокринної частини, так і в клітинах острівців (Рис. 5.5, 5.6, 5.7).

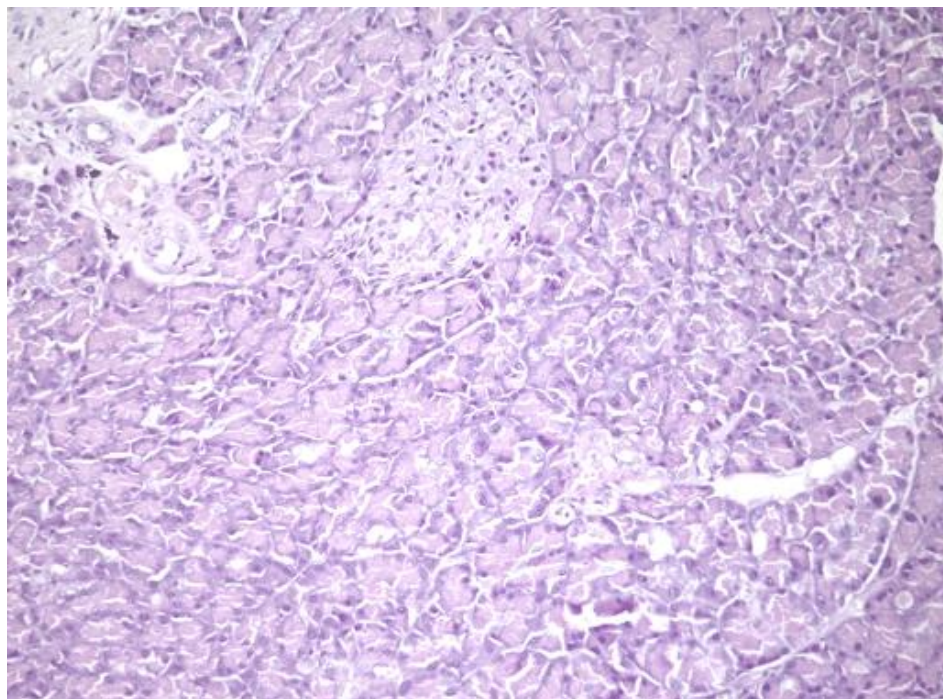


Рис. 5.5. Підшлункова залоза щура контрольної групи. Негативна імуногістохімічна реакція з антитілами проти NF-κB антигену. Зб. x200.

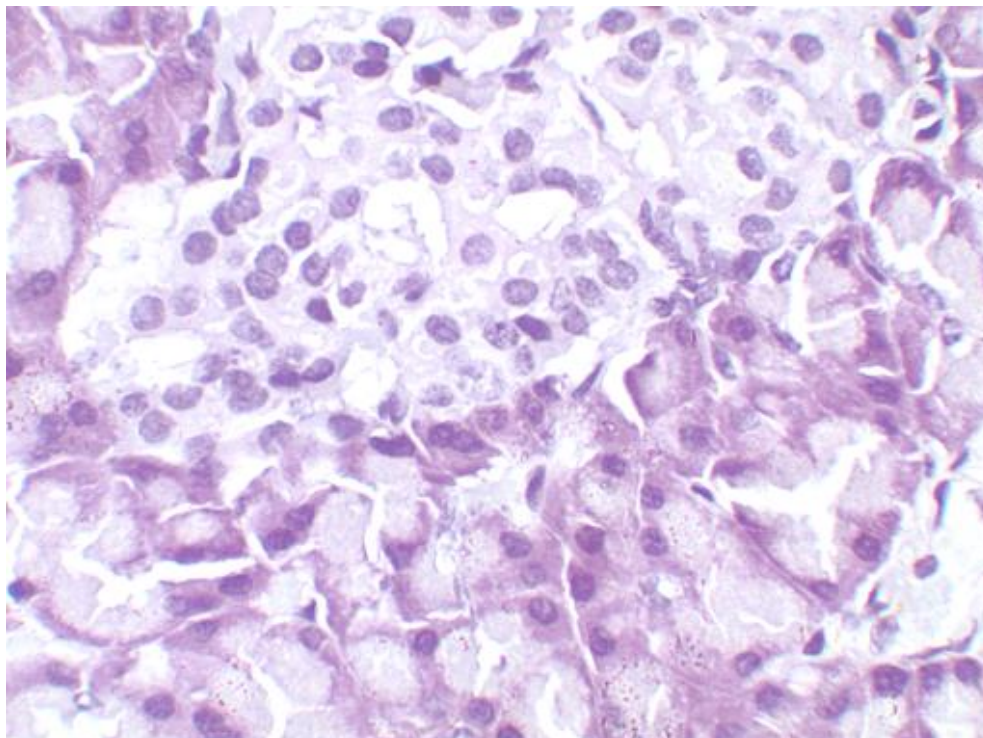


Рис. 5.6. Підшлункова залоза щура контрольної групи. Негативна імуногістохімічна реакція з антитілами проти NF-κB антигену в ацинусах і острівцях підшлункової залози. Зб. x400.

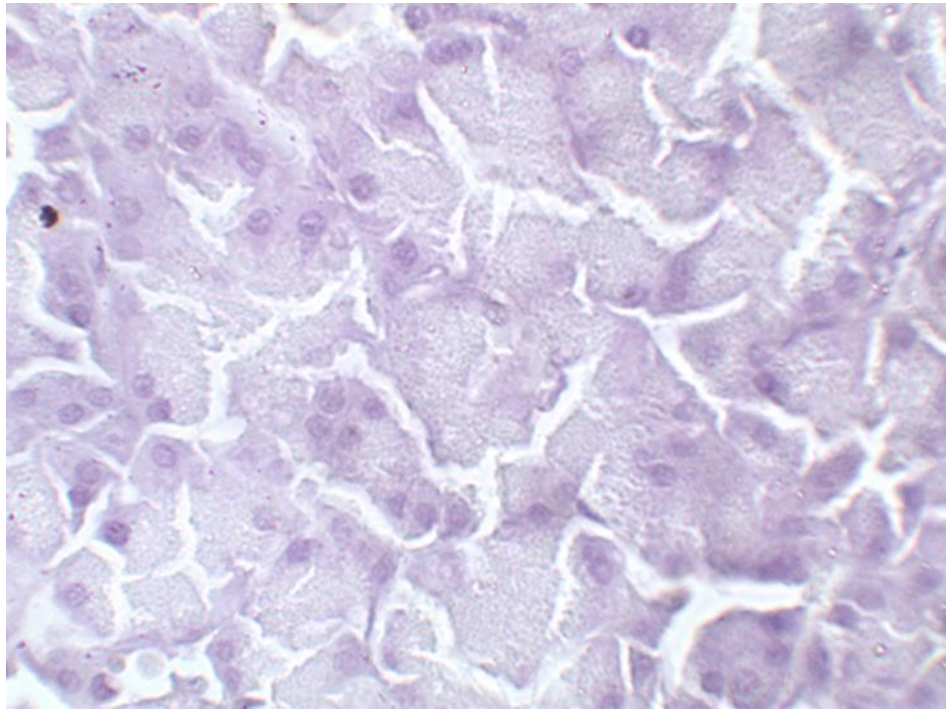


Рис. 5.7. Підшлункова залоза щура контрольної групи. Негативна імуногістохімічна реакція з антитілами проти TNF-alpha антигену в ацинусах підшлункової залози. Зб. x400.

5.2. Зміни підшлункової залози у щурів з експериментальним ожирінням

Розвиток глутамат-індукованого ожиріння супроводжувався накопиченням вісцерального та заочеревиного жиру, в межах якого визначалися явища гіпертрофії адипоцитів. Останні варіювали за розміром та формою. В межах жирової тканини навколо підшлункової залози визначалася значна кількість кровоносних судин, місцями з ознаками помірного набряку та запальної інфільтрації (Рис. 5.8).

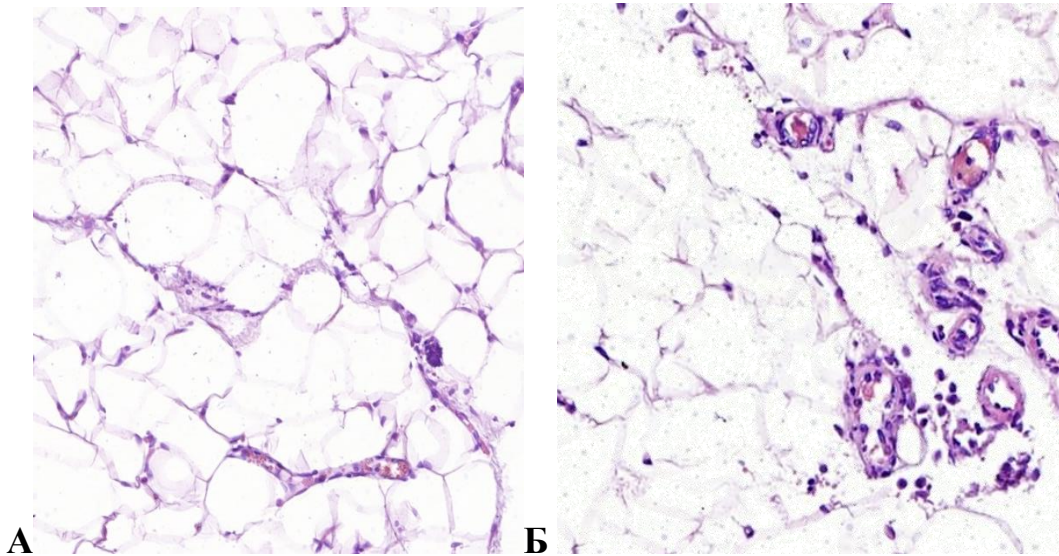


Рис. 5.8. Жирова тканина позаочеревинного простору у щурів з експериментальним ожирінням. Гіпертрофія адипоцитів (А) та запальна інфільтрація (Б). Забарвлення гематоксиліном та еозином. Зб. x100.

Проведення імуногістохімічного дослідження виявило наявність між адипоцитами і в межах інфільтратів значної кількості прозапальних макрофагів, позитивних на маркер CD68, а також наявності виразної експресії COX-2, NF- κ B і TNF- α (Рис. 5.9).

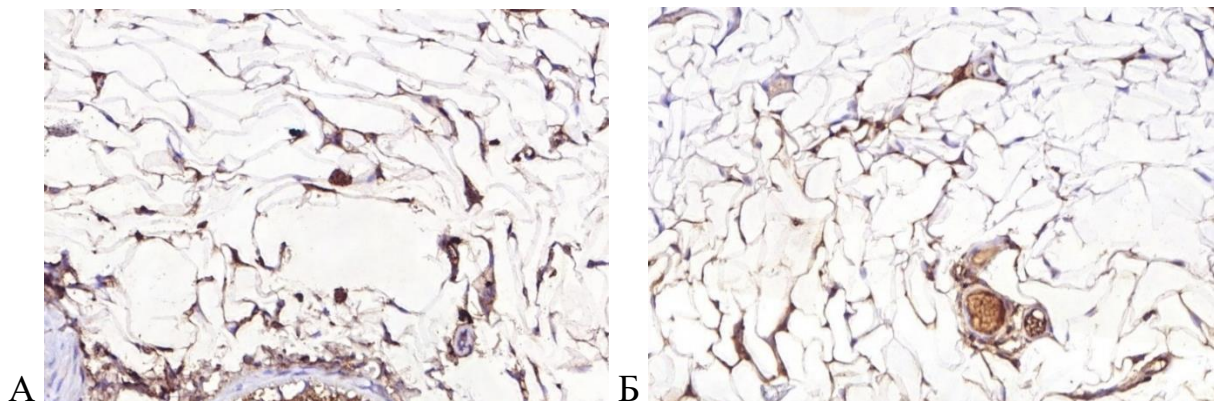


Рис. 5.9. Жирова тканина при експериментальному глутамат-індукованому ожирінні. Імуногістохімічне забарвлення. А - експресія NF- κ B; Б - експресія TNF- α . Зб. x200.

Підшлункова залоза експериментальних тварин з глютамат-індукованим ожирінням характеризувалася помірним набряком строми, який був більш виразним у межах міжчасточкових перетинок та в периваскулярному компартменті (Рис. 5.10).

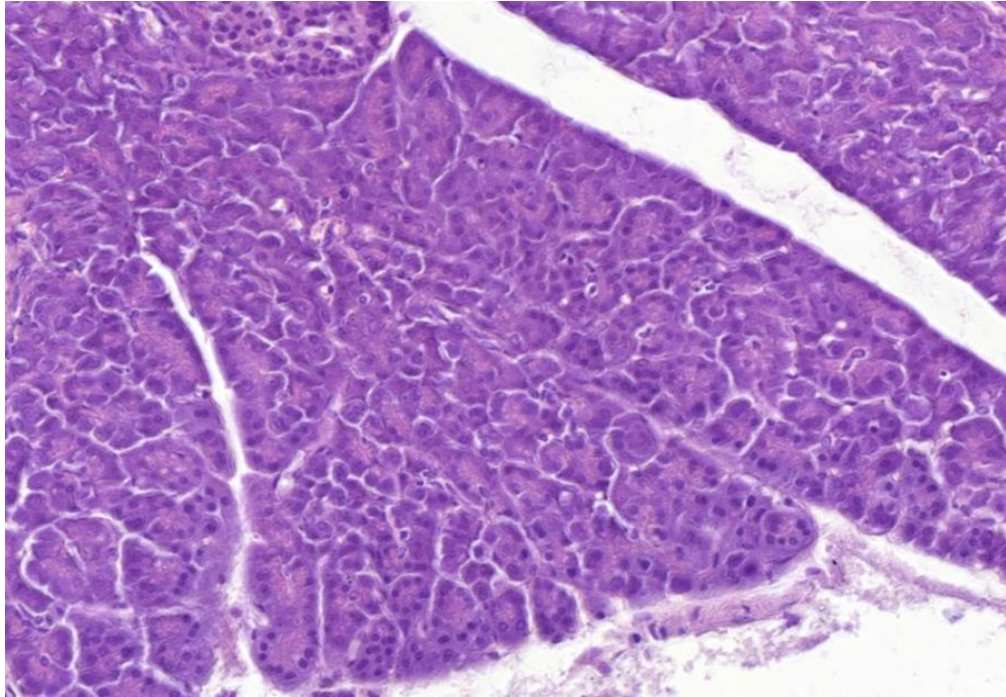


Рис. 5.10. Набряк строми міжчасточкової сполучної перетинках підшлункової залози у щурів в групі з експериментальним ожирінням. Заб. гематоксиліном та еозином. Зб. 200.

При цьому у межах внутрішньопанкреатичної строми визначалася поява білих адипоцитів, які були відсутні в підшлунковій залозі контрольних щурів (Рис.5.11). Крім того, вздовж міжчасточкових судин та протоків визначалися ділянки запальної інфільтрації (Рис. 5.12). Рідше лейкоцитарна інфільтрація виявлялася у внутрішньочасточковій сполучній тканині.

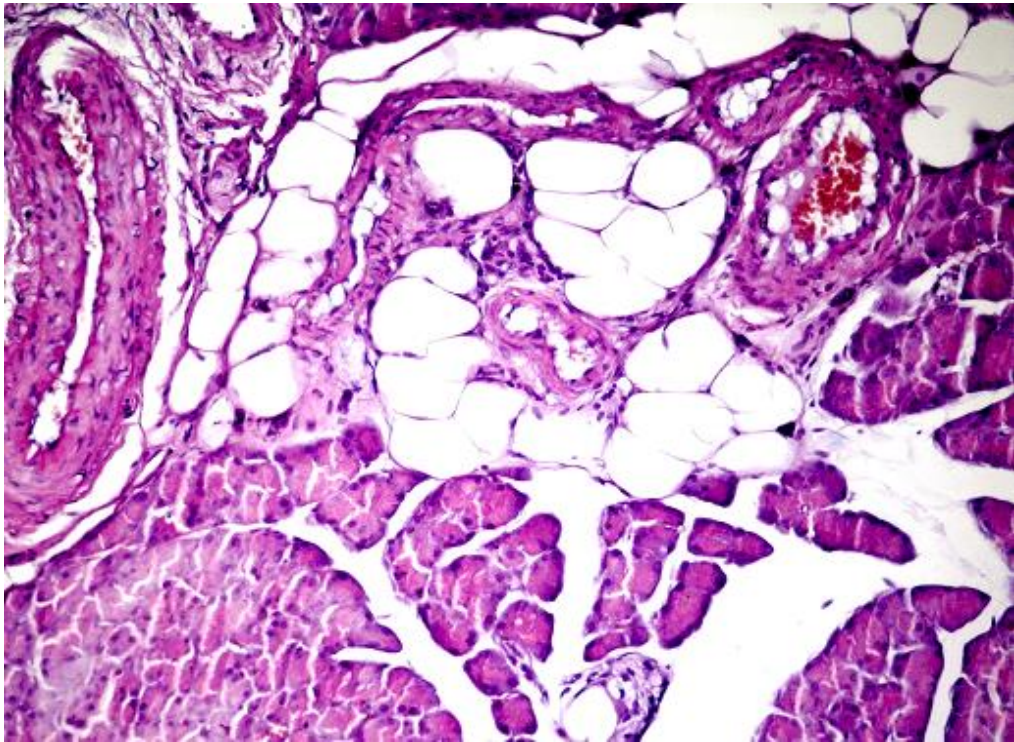


Рис.5.11. Наявність адипоцитів в стромі підшлункової залози у щурів групи з експериментальним ожирінням. Заб. гематоксиліном та еозином. Зб. x200.

При аналізі екзокринної частини підшлункової залози було зазначено комбінацію протилежних змін: у частині ацинусів визначалися ознаки гіперсекреції, тоді як на периферії залози визначалися дрібні ацинуси з переважанням базofilного забарвлення клітин. Такі ознаки, притаманні репаративним процесам, можуть відбивати новоутворення нових ацинусів в периферичній частині підшлункової залози.

Більш значних змін зазнала ендокринна частина підшлункової залози. В першу чергу, було зазначено зростання кількості та розмірів панкреатичних острівців.

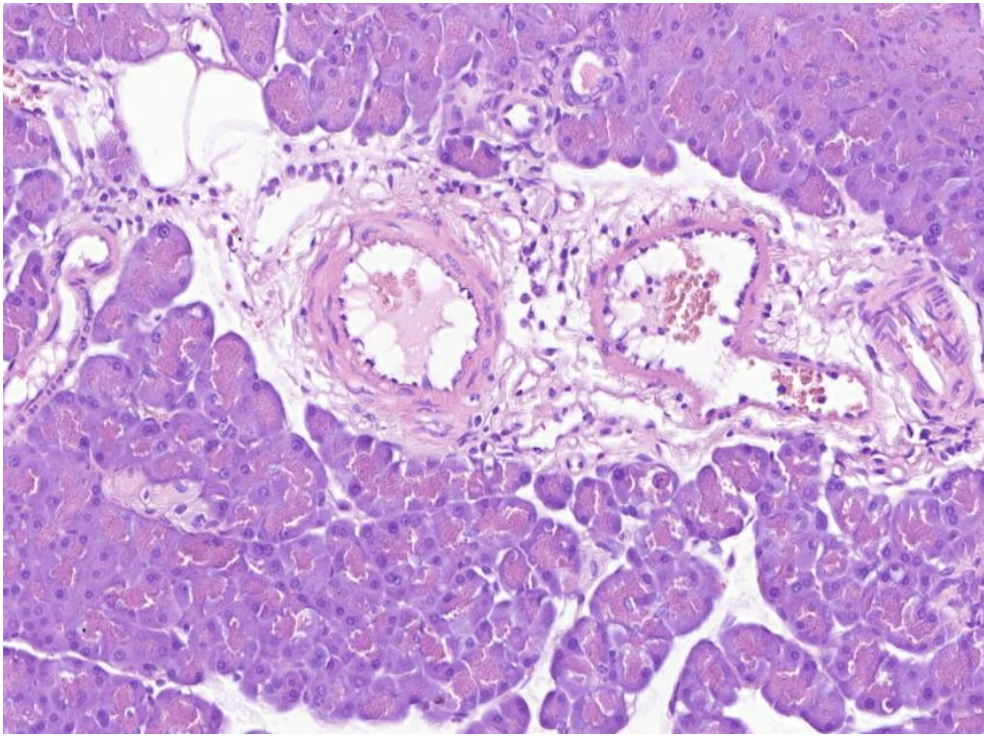


Рис. 5.12. Запальна інфільтрація вздовж міжчасточкових судин та протоків підшлункової залози у шурів групи з експериментальним ожирінням. Заб. гематоксиліном та еозином. Зб. x200.

Що призвело до збільшення частки ендокринної частини у структурі паренхіми залози більш, ніж в 2,5 рази (Рис. 5.13, табл. 5.1).

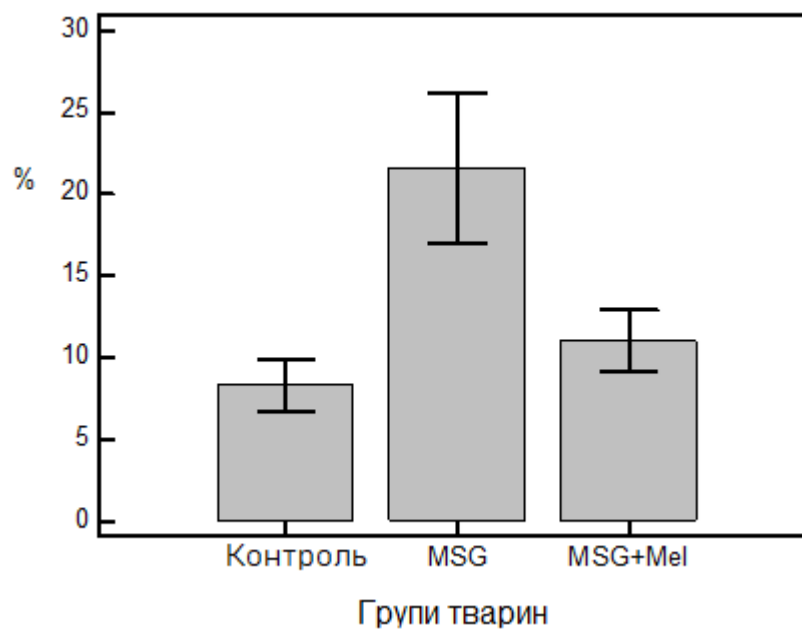


Рис. 5.13 Питома частка ендокринних островців у складі паренхіми підшлункової залози тварин різних груп. Примітка. По осі абсцис – експериментальні групи, по осі ординат – частка островців у структурі ПЗ (%).

Таблиця 5.1

Характеристики ендокринних острівців у тварин різних груп

| Параметри | Контроль | Ожиріння | Вірогідність розбіжностей |
|-----------------------------|-----------------|---------------|---------------------------|
| Питома частка острівців (%) | 8,3±0,71 | 21,6±2,03 | P < 0,001 |
| | 6,681 - 9,919 | 17,01 - 26,19 | |
| ID1 (мкм) | 173,3±4,19 | 297,1±9,75 | P = 0,004 |
| | 163,80 - 182,79 | 275,1 - 319,2 | |
| ID2 (мкм) | 163,9±5,38 | 193,6±9,69 | P = 0,042 |
| | 151,71 - 176,09 | 177,7 - 215,5 | |
| F (ID2 / ID1) | 0,956±0,05 | 0,657±0,038 | P < 0,001 |
| | 0,841 - 1,07 | 0,572 - 0,742 | |

Примітка. Всі дані в таблиці представлені у форматі Mean±SEM (95% ДІ)

При цьому острівці мали видовжену овальну форму (Рис. 5.14), на відміну від острівців тварин контрольної групи, що мали більш кулясту форму та фактор форми, близький до 1. Оцінка фактора форми острівців виявила значне зменшення цього показника до 0,657±0,038 (95% ДІ 0,572 - 0,742) (Табл.5.1). Крім того, видовження острівців було часто асоційоване з картинами розділення острівців на два (Рис. 5.15), що по суті відбиває ключовий механізм розвитку острівців під час онтогенезу.

Описані зміни супроводжувалися закономірним зростанням кількості клітин у межах острівця. Кількість інсулоцитів у тварин з глютамат-індукованим ожирінням зросла більш ніж вдвічі (p<0,001). При цьому найбільша щільність розташування ендокринних клітин була зареєстрована на периферії острівців.

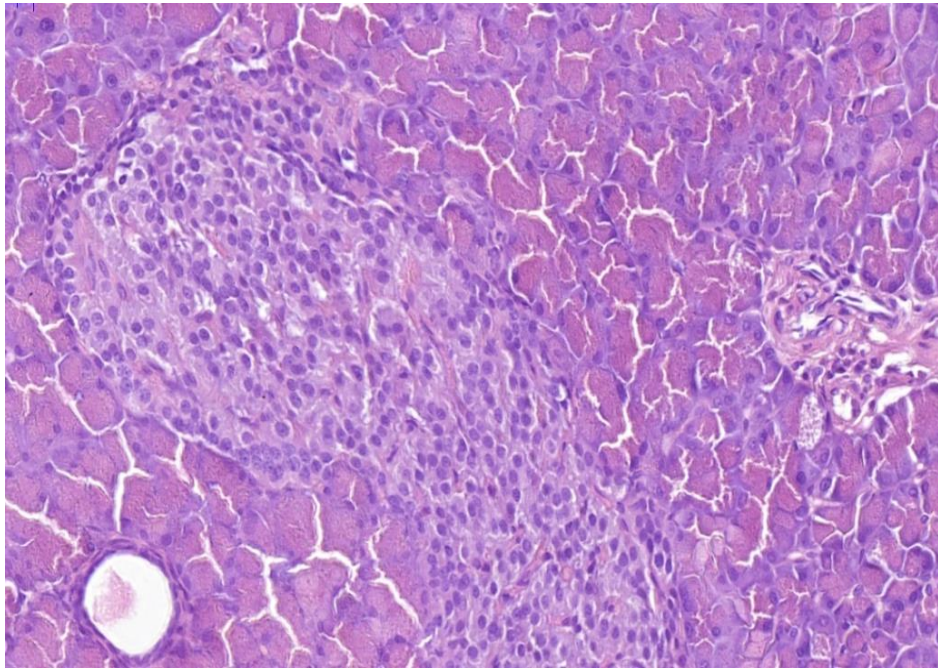


Рис. 5.14. Ендокринний острівець підшлункової залози тварин з експериментальним ожирінням. Збільшення розмірів та видовження форми острівця. Заб. гематоксиліном та еозином. Зб. x200.

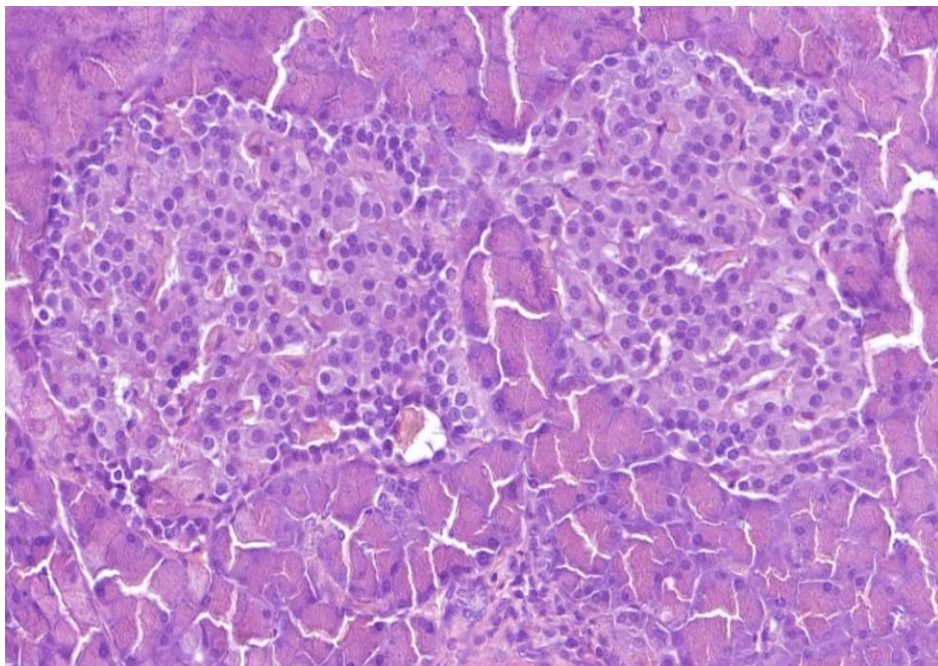


Рис. 5.15. Розділ острівців у підшлунковій залози тварин з експериментальним ожирінням. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Зб. x200.

Такі зміни можуть свідчити про гіперплазію ендокринних клітин за умов глутамат індукованого ожиріння. Для верифікації цього факту було проведено оцінку кількості клітин на одиницю площу острівця (Рис. 5.16). Оцінка даного показника показала зростання кількості інсулоцитів з $5,82 \pm 0,16$ (5,46-6,17) клітин на $1 \text{ мм}^2 \times 10^3$ до $7,69 \pm 0,53$ (95% ДІ 6,49 - 8,90) клітин на $1 \text{ мм}^2 \times 10^3$ ($p < 0,05$). Цей факт відбиває зростання щільності ендокринних клітин у острівцях і переконливо свідчить на користь гіперплазії інсулоцитів при експериментальному ожирінні.

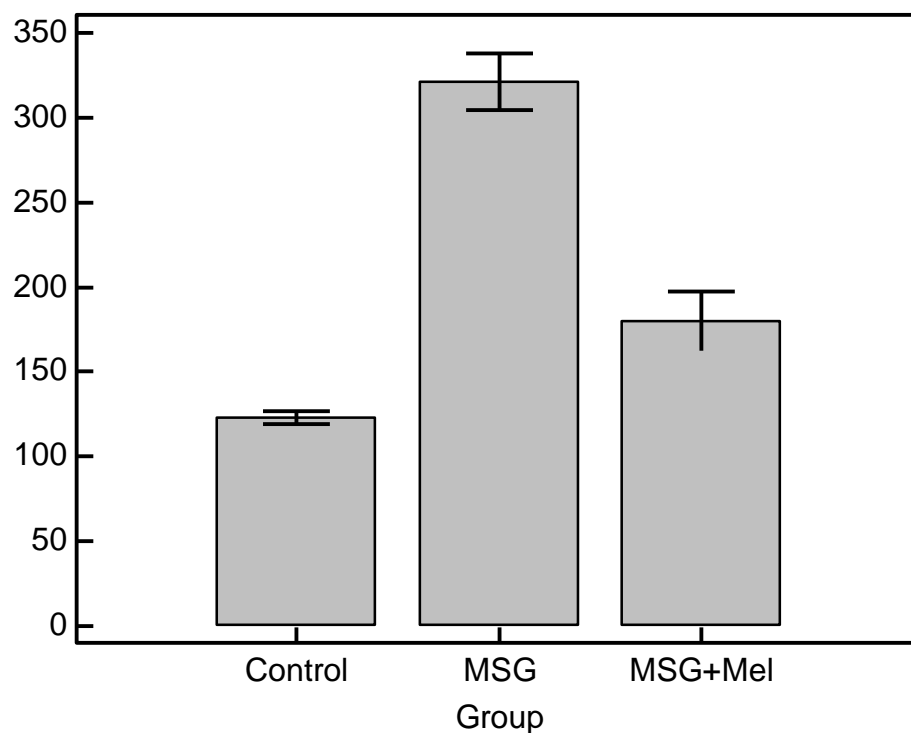


Рис. 5.16. Кількість інсулоцитів у межах одного острівця у тварин різних груп. Примітка. По осі абсцис – групи тварин. По осі ординат – кількість клітин в межах 1 острівця.

Проведене імуногістохімічне дослідження показало, що описані зміни розвивалися на фоні активації прозапальних змін у межах підшлункової залози. Як вже згадувалося, характерною ознакою будови підшлункової залози щурів з глутамат-індукованим ожирінням була наявність у міжчасточкових

перегородках лейкоцитарної інфільтрації - переважно в периваскулярних і перидуктальних зонах (рис. 5.17).

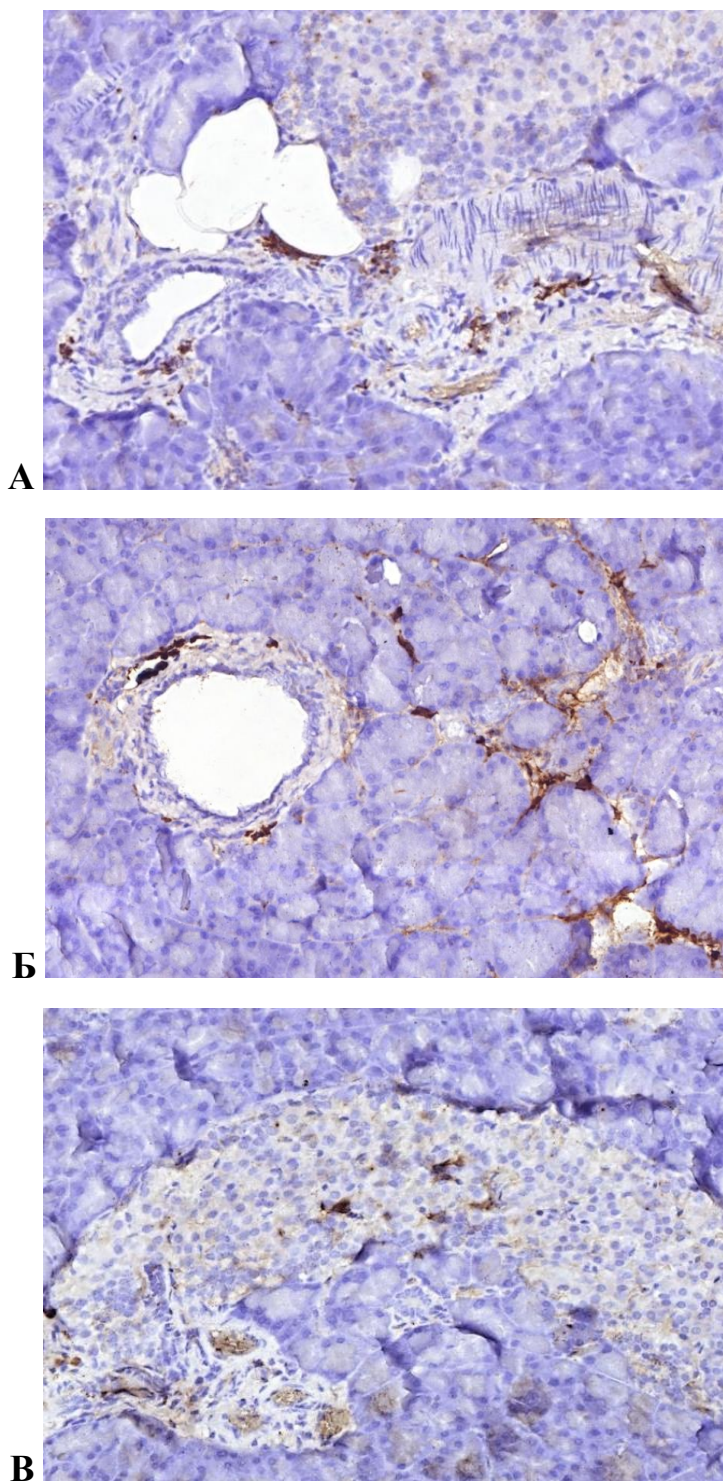


Рис. 5.17. Макрофаги у міжчасточкових перетинках (А), навколо ацинусів (Б) та в острівцях (В) підшлункової залози при експериментальному ожирінні. Імуногістохімічне дослідження з використанням моноклональних антитіл до CD68. $\times 200$.

Виразність інфільтрації варіювала від слабкої до помірної. Проведення імуногістохімічного дослідження виявило значне збільшення кількості макрофагів як в межах міжчасточкових перетинок, так і всередині часточок (Рис. 5.17). Крім того, макрофаги визначалися в межах ендокринних острівців ($2,8 \pm 0,3$ CD68-позитивних клітин в межах одного острівця), хоча у контрольних тварин CD68-позитивні клітини не були виявлені в острівцях.

Наявність CD68+ макрофагів у експериментальних тварин була асоційована з аналогічним підвищенням експресії COX-2 і NF- κ B. Експресія COX-2 виявлена у вигляді мозаїчної позитивної реакції в клітинах острівців (Рис. 5.18).

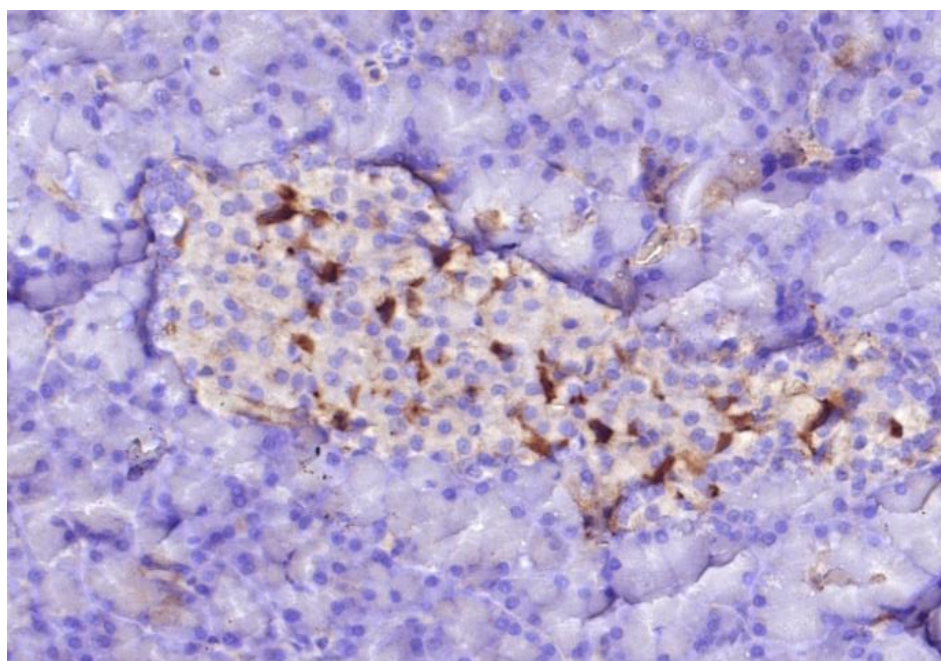


Рис. 5.18. Експресія COX-2 в острівцях підшлункової залози тварин з експериментальним ожирінням. Імуногістохімічне забарвлення з використанням моноклональних антитіл до COX-2. 3б. х200.

Крім того, в межах острівців було визначено позитивну реакцію щодо експресії NF- κ B, яка виявлялася переважно в периваскулярній зоні та на периферії острівців (Рис. 5.19).

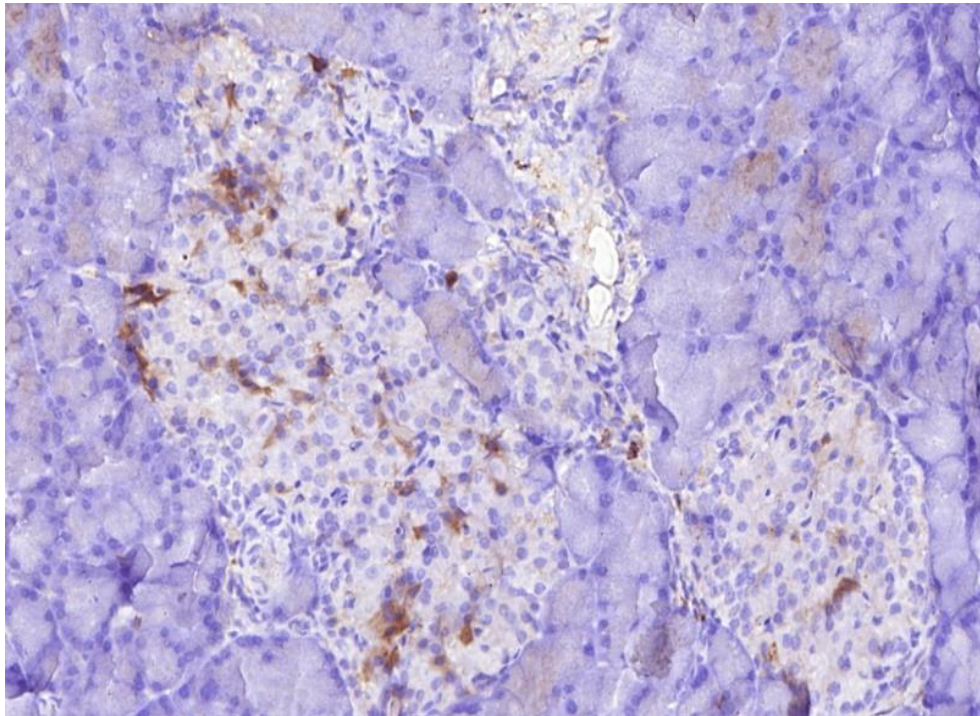


Рис. 5.19. Експресія NF- κ B в острівцях підшлункової залози тварин з експериментальним ожирінням. Імуногістохімічне забарвлення з використанням моноклональних антитіл до NF- κ B. Зб. 200.

У більшості випадків в групі щурів з глутаматним ожирінням спостерігались помірні і виражені імуногістохімічні реакції з антитілами проти TNF- α антигену і проти NF- κ B антигену, тобто в епітеліальних клітинах ацинусів підшлункової залози (рис.5.20, 5.21).

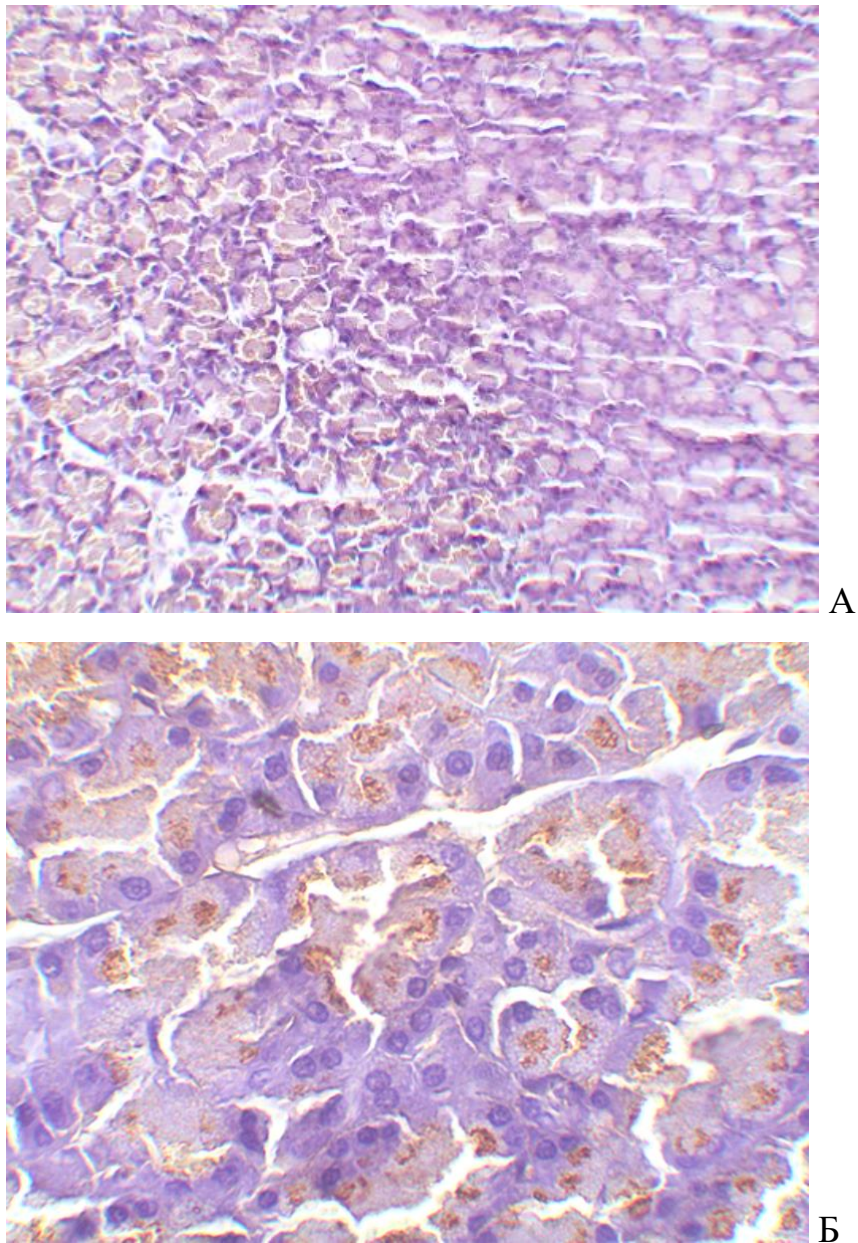
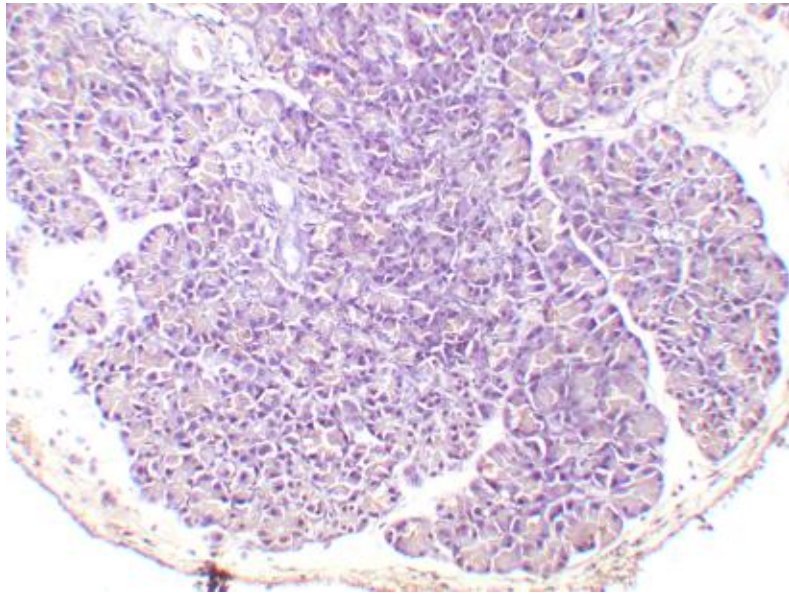
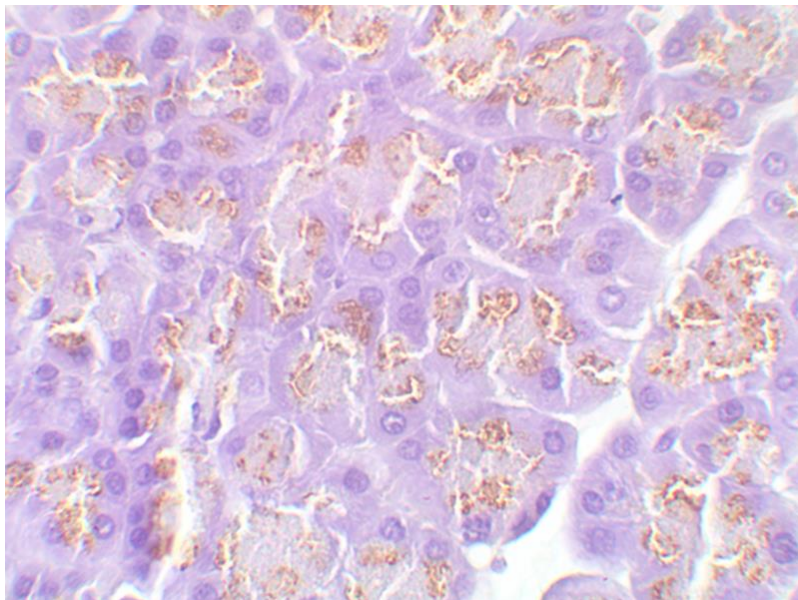


Рис. 5.20. Підшлункова залоза щурів з експериментальним ожирінням. Позитивна імуногістохімічна реакція з антитілами проти NF-κB антигену в епітеліальних клітинах ацинусів. А - Зб. 200, Б - Зб. 400.

Таким чином, глутамат-індуковане ожиріння супроводжувалося розвитком гіперплазії інсулярного апарату підшлункової залози і запальними змінами в екзокринній частині залози. Останнє було обумовлено збільшенням кількості макрофагів з активацією експресії COX-2, TNF-alpha і транскрипційного фактора NF-κB.



А



Б

Рис. 5.21. Підшлункова залоза щурів з експериментальним ожирінням. Позитивна імуногістохімічна реакція з антитілами проти TNF-alpha антигену в епітеліальних клітинах ацинусів. Зб. А - х200, Б - х400.

5.3. Вплив меланіну на стан підшлункової залози за умов експериментального ожиріння

Введення меланіну запобігало патологічним змінам в підшлунковій залозі. Порівняно з картиною, що спостерігалася у щурів з глютамат-

індукованим ожирінням, тварини, що отримували меланін мали меншу питому частку ендокринних острівців у структурі залози ($11 \pm 0,83\%$ проти $21,6 \pm 2,03\%$ відповідно), хоча цей показник був дещо вищим за контроль. Це було зумовлене зменшенням щільності розташування та розміру панкреатичних острівців. Площа одного острівця в підшлунковій залозі щурів, які отримували меланін, відповідно до результатів морфометричного дослідження, була значно менша за такий у тварин з експериментальним ожирінням (Рис. 5.22, табл. 5.2), хоча даний показник був вищим за контроль.

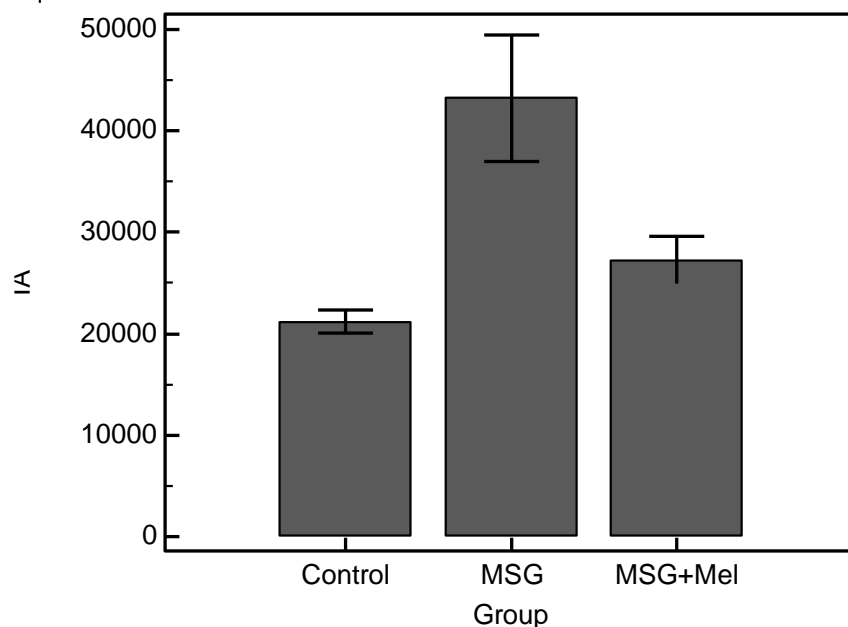


Рис. 5.22. Площа одного острівця підшлункової залози у тварин різних експериментальних груп. Примітка. По осі абсцис – групи експериментальних тварин, по осі ординат – площа острівця (у μm^2).

Зменшення розмірів острівців супроводжувалися й зміною їх форми з витягнутої на біль кулясту, про що свідчила динаміка форм-параметра (Рис. 5.23). Як було згадано вище, зменшення форм-параметру острівців у тварин з ожирінням було асоційоване з розділом острівців.

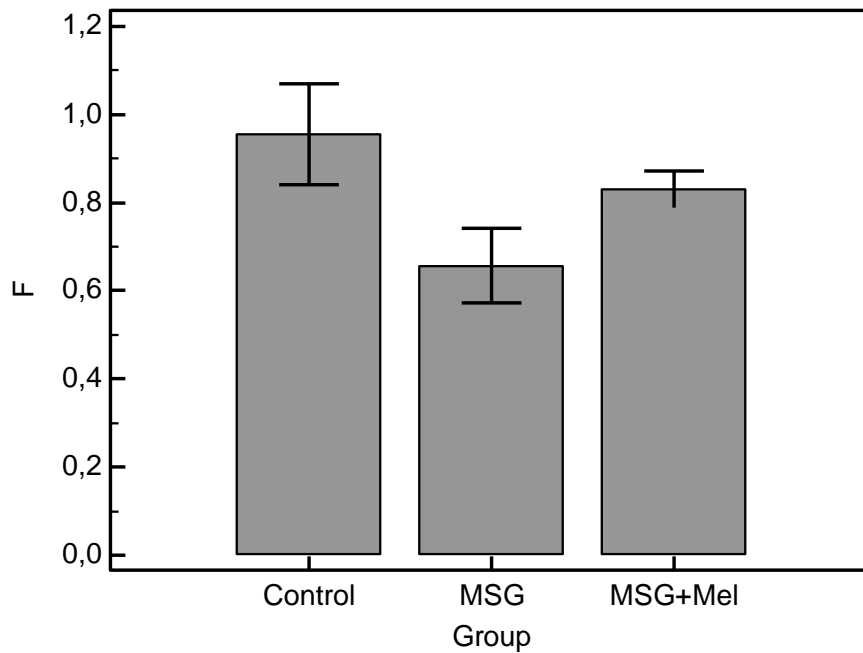


Рис. 5.23. Зміна форм-параметру, що відбиває форму острівців підшлункової залози, у тварин різних експериментальних груп.

Примітка. По осі абсцис – групи експериментальних тварин, по осі ординат – показник форм параметру що відбиває елонгацію острівців.

На відміну від цього, у щурів, що отримували меланін, форм-параметр був вищим - $0,831 \pm 0,02$ (95% ДІ 0,79 - 0,87) порівняно з $0,657 \pm 0,038$ (95% ДІ 0,572 - 0,742) у тварин з ожирінням без корекції меланіном, що означає зміну форми острівців з видовженої на більш кулясту. Така зміна форми може по суті відбивати завершення розділу острівців у тварин, що отримували меланін, і опосередковано відображає обмеження гіперпластичних процесів.

Проте для аналізу гіперплазії, у роботі було проведено підрахунок кількості інсулоцитів у межах панкреатичних острівців. Як показали результати морфометричного дослідження, даний показник зменшився майже вдвічі ($P < 0,001$).

Це було обмовлене не тільки зменшенням абсолютної кількості острівцевих клітин й зменшенням щільності їх розташування при оцінювання на одиницю площі острівця (Рис. 5.24).

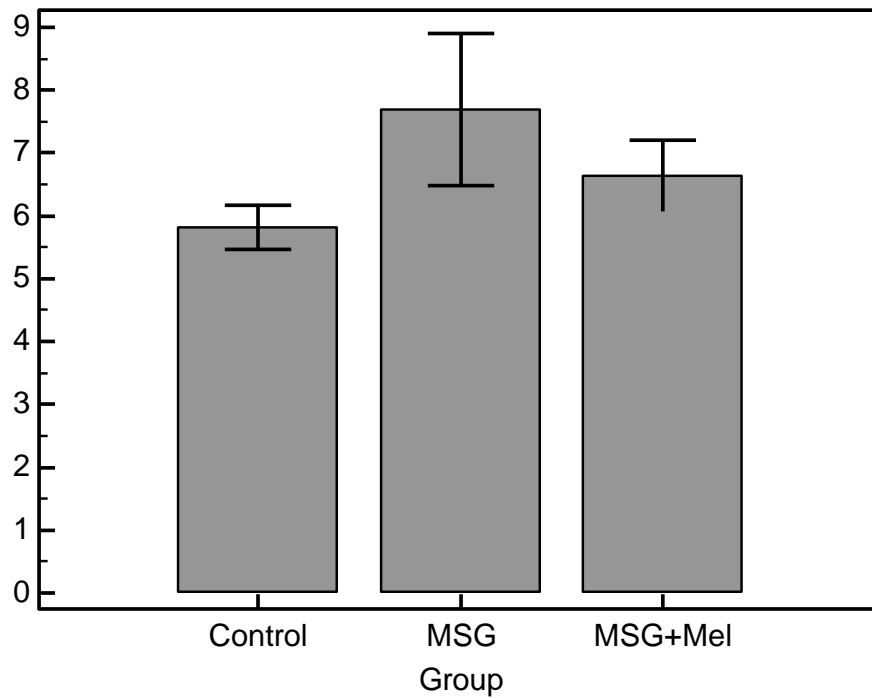


Рис. 5.24. Обмеження щільності розташування інсулоцитів у межах панкреатичних острівців тварин різних експериментальних груп.

Примітка. По осі абсцис – групи експериментальних тварин, по осі ординат – кількість ендокринних клітин на $1 \text{ мкм}^2 \times 10^3$.

По суті, ці дані свідчать про те, що введення меланіну обмежує гіперплазію інсулоцитів у межах ендокринних острівців та запобігає гіперфункції інсулярного апарату підшлункової залози.

Проведення імуногістохімічного дослідження дозволило виявити лише поодинокі макрофаги в межах ендо- та екзокринної частини ПЗ, в яких визначалася слабка експресія COX-2, TNF-alpha, NF-κB (Рис. 5.25, 5.26, 5.27).

Площа островців та кількість ендокринних клітин у панкреатичних островцях тварин різних груп

| Параметри | Контроль | Ожиріння | Лікування меланіном |
|--|------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|
| Площі островця (ІА; мкм ²) | 21195,5±490,9 20084,8 - 22306,2 | 43251,4±2746,7 37037,8 - 49464,9 | 27265,8±1029,0 24938,0 - 29593,7 |
| Кількість клітин (на 1 острівець) | 122,8±1,72 118,899 - 126,701 | 321±7,36 304,346 - 337,654 | 180,1±7,63 162,828 - 197,372 |
| Кількість клітин в островці на 1 мкм ² *10 ³ | 5,821±0,156 5,469 - 6,173 | 7,69±0,533 6,489 - 8,903 | 6,636±0,249 6,071 - 7,201 |

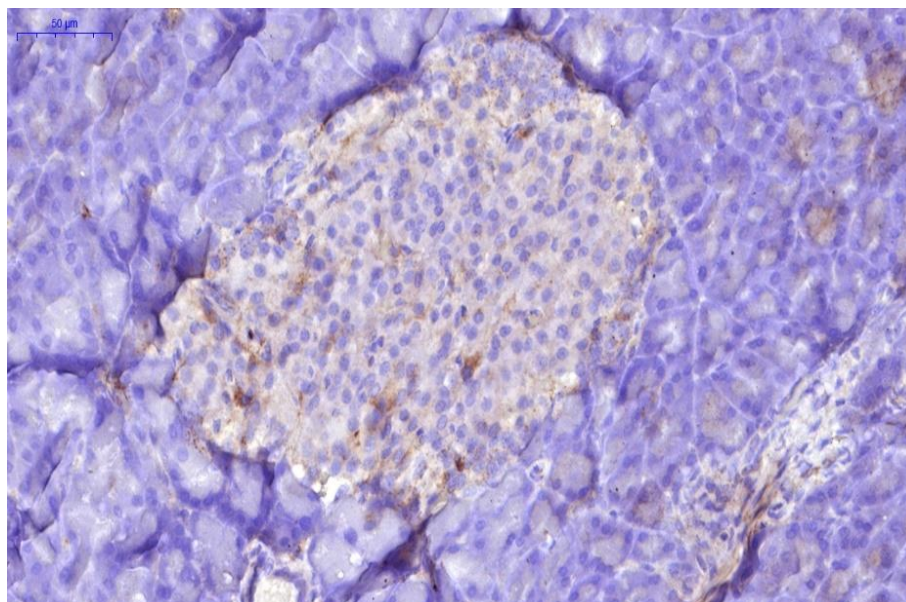


Рис. 5.25. Слабка експресія СОХ-2 в островці підшлункової залози у щурів що отримували меланін після моделювання глутамат-індукованого ожиріння. Імуногістохімічне дослідження з використанням моноклональних антитіл до СОХ-2.

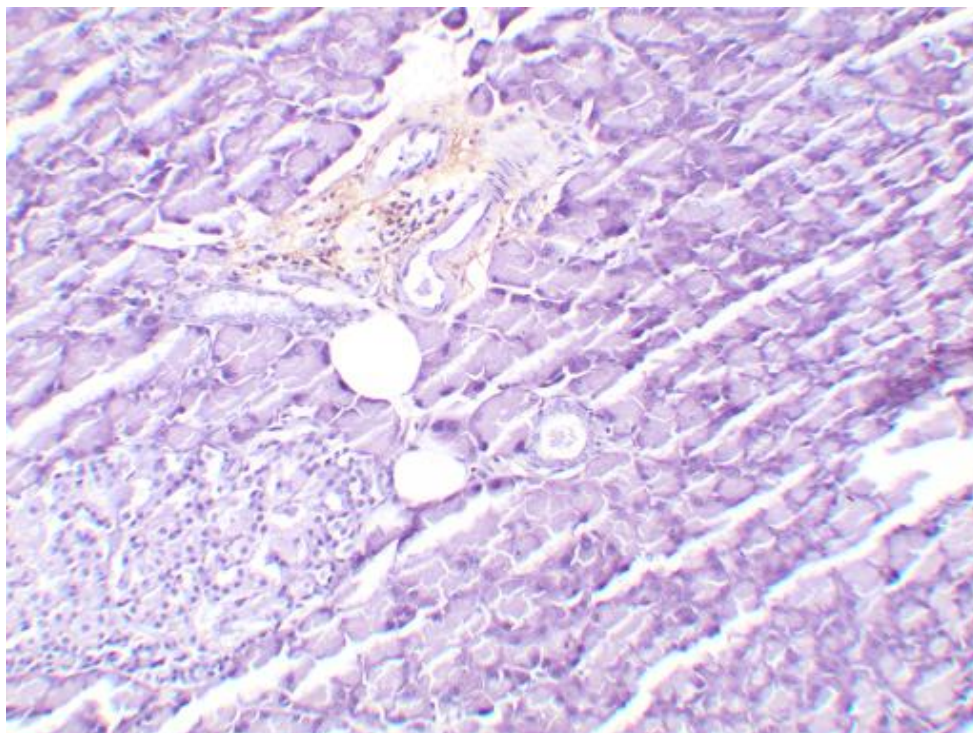


Рис. 5.26. Підшлункова залоза щурів з експериментальним ожирінням з корекцією меланіном. Імуногістохімічна реакція з антитілами проти TNF-alpha антигену. Зб. x200.

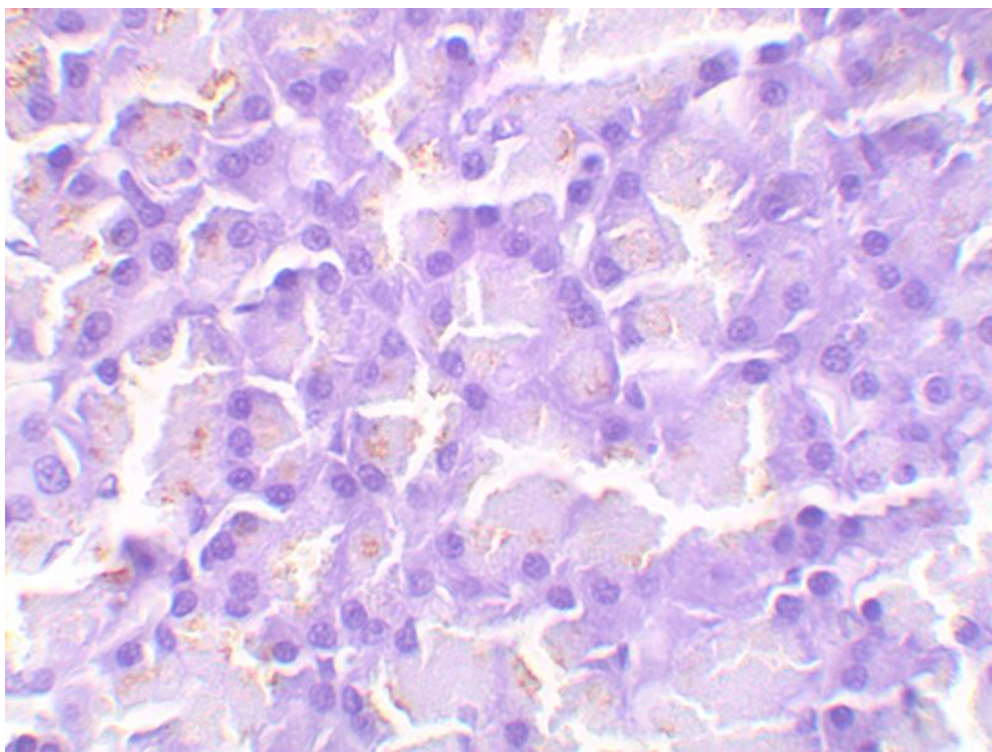


Рис. 5.27. Підшлункова залоза щурів з експериментальним ожирінням з корекцією меланіном. Імуногістохімічна реакція з антитілами проти NF-kB антигену в епітеліальних клітинах ацинусів. Зб. x400.

Таким чином, введення меланіну запобігало порушенню морфологічної структури підшлункової залози у тварин з глутамат-індукованим ожирінням. Крім того, відмічається протизапальний ефект меланіну у вигляді зниження кількості макрофагів та обмеження активації експресії NF- κ B і TNF- α .

При узагальнені проведених досліджень у цьому розділі можна заключити, що введення глутамату натрію викликає розвиток ожиріння зі збільшенням обсягу вісцерального жиру, зростанням кількості у ньому прозапальних макрофагів та підвищенням експресії NF- κ B і TNF- α . При глутамат-індукованому ожирінні в підшлунковій залозі відбувається гіперплазія інсулярного апарату, асоційована з макрофагальною інфільтрацією і підвищенням експресії COX-2 і NF- κ B. У екзокринній частині підшлункової залози при глутамат індукованому ожирінні відзначено розвиток лейкоцитарної інфільтрації зі збільшенням кількості макрофагів у міжчасточкових перегородках і навколо ацинусів, що супроводжувалося підвищенням активності COX-2 і NF- κ B. Введення меланіну запобігало порушенню морфогенезу підшлункової залози у тварин з глутамат-індукованим ожирінням, нівелюючи активацію прозапальних сигнальних шляхів [1].

РОЗДІЛ 6

АНАЛІЗ ТА ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ

Організм людини в процесі життєдіяльності споживає різні речовини і витрачає значну кількість енергії. Із зовнішнього середовища повинні надходити сполуки, необхідні для пластичних і енергетичних потреб організму. Припинення або недостатнє надходження поживних речовин призводить до порушення гомеостазу та є несумісним з життям. Разом з тим організм людини не здатний асимілювати складні білки, жири, вуглеводи і ряд інших харчових речовин без попередньої обробки. Цю функцію в організмі виконує травна система. Тут здійснюється механічна обробка їжі (подрібнення, перемішування, переміщення) і секреція травних соків, що беруть участь в її хімічній обробці.

Невід'ємною, обов'язковою складовою життя є здорове збалансоване адекватне раціональне харчування. Природно, що задля забезпечення процесів росту та розвитку організму людини мають бути задоволені ряд потреб, серед яких чи не найголовнішою є харчування. Адже, за великим рахунком, організм людини є те, що він споживає. Харчування повинно забезпечувати енергетичні, пластичні та інші потреби організму, необхідний рівень обміну речовин, гомеостаз внутрішнього середовища організму, підтримувати ріст та розвиток організму, функціонування органів та систем сприяючи розвитку за різноманітних умов праці та відпочинку [70, 217].

Тому в даний час раціональне харчування та правильний режим є чи найголовнішими факторами, які забезпечують міцне здоров'я та відсутність захворювань. Адже, за останніми даними ВООЗ, здоров'я людини на 15% залежить від організації медичної служби, на 25% – від генетичних особливостей організму, а на 60% – від збалансованого харчування. За даними, що в 2019 році опубліковані в Європейському журналі епідеміології Україна

зайняла перше місце в рейтингу країн з найвищим рівнем смертності через серцево-судинні захворювання, пов'язані з неправильним харчуванням та ожирінням [28]. Ці данні підтверджуються роботами і інших авторів [15, 74, 218, 219].

Виникає питання чому так сталося, що на сьогодні від переїдання помирає більше людей, ніж від голоду? Якщо поглянути на історію, то 19 та 20 сторіччя було пов'язане з багатьма війнами, смертельними хворобами і епідеміями різного генезу та масовим голодом. Тому, головною метою людства 20 сторіччя було нагодувати жителів планети і перемогти голод. Ця мета була досягнута, завдяки промисловій революції в обробці їжі. Після Другої світової війни технологічний прогрес у виробництві продуктів харчування призвів до нової ери, яка характеризувалася надмірною дешевизною їжі та порівняно невеликими фізичними навантаженнями людей. У наступні десятиліття інші соціокультурні зрушення продовжували сприяти погіршенню харчування населення. Жінки, які раніше сиділи дома та займалися приготуванням їжі, стали значною робочою силою. І перероблена харчова промисловість почала використовувати свої потреби в швидкій зручній їжі. Це означало, що менше їжі для приготування в домашніх умовах, а оскільки зручна їжа, як правило, більше калорій, ніж домашня їжа, середній показник калорійності споживачів різко збільшувався. Населення планети стало менше їсти здорової їжі, а більше солі, жирів та цукру. Люди також їдять більше їжі, оскільки оброблена їжа, часто розроблена як закуска, і продається нам як спосіб постійно їсти протягом дня.

У 21 сторіччі кількість людей з надмірною масою тіла та ожирінням зростає тривожними темпами, що має величезні наслідки для здоров'я та економіки. Поширеність ожиріння у світі збільшилася майже вдвічі менш ніж за 35 останні роки. Ожиріння викликає багато фізіологічних порушень функцій організму, які вражають майже кожен орган, що в свою чергу викликає асоційовані захворювання. Незважаючи на пандемію ожиріння у світі та прикуту увагу світової наукової спільноти до розробки профілактично-

лікувальних засобів, досі, нажаль, немає чіткого визначеного рішення вказаної проблеми. Незважаючи на руйнівну розповсюдженість та наслідки ожиріння, на сьогодні Управлінням санітарного нагляду за якісними харчовими та медикаментозними продуктами (FDA - Food and Drug Administration) затвердило лише п'ять лікарських засобів: орлістат, лоркасерин, фентермін-топірамат, бупропіон-налтрексон та ліраглутид для довготривалого лікування ожиріння [14, 37, 158]. Ці засоби мають серйозні протипоказання до застосування та, дивлячись на статистику поширення ожиріння останніх років, не вирішують вказану проблему. Тому, залишається актуальним пошук нових профілактично-лікувальних засобів для попередження розвитку ожиріння, що і обумовило мету наших досліджень. В дисертаційній роботі, як засіб корекції був обрана поліфенольна сполука – меланін.

В дисертаційній роботі була використана загальноживана модель експериментального ожиріння, викликаного за умов неонатального введення глютаму натрію. Так, що в 70-х роках минулого століття з'явилася низка публікацій в яких було встановлено, що глютамат натрію, який вводили в неонатальний період (2–11 днів) мишам, призводив до цілого ряду порушень функцій у дорослому віці: збільшення маси тіла, зниження ваги гіпофіза, щитоподібної залози, яєчників та яєчок. Репродуктивна дисфункція спостерігалася як у самиць, так і у самців. У самиць, які отримували глютамат натрію, було менше вагітностей і менше посліду, тоді як у самців - виявлено знижену фертильність [209, 210]. За останні 50 років це явище було вивчено досконало і доведено, що неонатальне введення глютаму натрію є вдалою моделлю вісцерального ожиріння, тому що у дорослих тварин (4 місяці) розвивається загальне запалення організму, вісцеральне ожиріння, порушується ліпідний обмін, інсулінорезистентність та лептинорезистентність [59, 81, 211–214].

Введення глютаму натрію в неонатальному періоді (на 2,4,5,6,8,10 день життя підшкірно призводило до розвитку вісцерального ожиріння у 4-х місячних щурів. Так, спостерігалася незначне збільшення маси тіла щурів на

11,2% ($p < 0,05$). Проте, не дивлячись на незначні зміни в показниках маси тіла щурів, маса вісцеральної жирової тканини у щурів з глютамат-індукованим ожирінням була збільшена в 7,3 рази ($p < 0,001$) у порівнянні з інтактним щурам. Вказані зміни параметрів тіла пов'язані зі зменшенням довжини тіла щурів на 16,0 % ($p < 0,01$). Індекс маси тіла та індекс Лі були збільшені відповідно на 39,0% ($p < 0,001$) та на 16,0% ($p < 0,001$) [4].

В дисертаційній роботі ми також проаналізували морфофункціональний стан жирової тканини. В оглядовій статті Хламанової Л.І. та ін. (2018) розглянута структура та функцій жирової тканини в нормі та при патології [220]. Зазначається, що жирова тканинна – це особливий різновид сполучної тканини зі спеціальними властивостями, яка представлена в організмі людини у двох основних формах, у вигляді білої та бурої жирової тканини. Вона повсюдно поширена в організмі і становить в нормі близько 15-20% маси тіла у чоловіків і близько 20-25% – у жінок. Маса жирової тканини здатна різко змінюватися при патологічних станах. При ожирінні (яким страждають у більшості розвинених країнах не менше 30% дорослого населення) вона збільшується до 40-100 кг і більше, при голодуванні або нервовій анорексії – може знижуватися до 3% нормального рівня. Підтримання порівняно постійної маси жирової тканини забезпечується рівновагою між процесами відкладення жирів (літогенезу) і їх мобілізації (ліполізу). Аномальний вміст і розподіл даної тканини пов'язані з генетичними порушеннями і розладами ендокринної системи та нерідко служать діагностично важливими ознаками захворювань.

Жирова тканина — це не просто прошарок жирових клітин, а важливий функціональний орган ендокринної системи. Вона синтезує чимало гормонів, одночасно активізуючи або дезактивуючи функції інших гормонів. З жирової тканини постають адипоцити та типи клітин, відомі як стромальна судинна фракція, які виділяють фактори росту — особливі месенджери, що їх використовує організм для сигналу росту різним клітинам організму, зокрема стовбуровим клітинам, клітинам крові та безлічі інших типів.

Зрілі жирові клітини не здатні до поділу, однак клітини-попередники адипоцитів цю здатність зберігають. Саме завдяки ним відбувається другий період активного розмноження клітин жирової тканини при настанні статевого дозрівання. В інші періоди життя людини клітини-попередники адипоцитів розмножуватися не повинні. Але, жир накопичується у наявних жирових клітинах завдяки збільшенню їх розмірів — клітини просто «ростуть». Але якщо можливість клітин вмістити більше жиру вичерпується, а його надходження в організм з їжею не скорочується, клітини-попередники отримують відповідний сигнал і «запускають» процес розмноження. Так з'являються нові, зайві в організмі, жирові клітини. Новоутворені адипоцити не здатні до зворотного розвитку і залишаються на все життя. Приміром, доросла людина з нормальною масою тіла має приблизно 35 мільярдів жирових клітин, а людина з вираженим ожирінням — у 4 рази більше, тобто близько 125 мільярдів жирових клітин.

Жирова тканина є метаболічно активною, і її основна мета полягає у збереженні надлишкової енергії. Вона також синтезує ряд біологічно активних сполук, що регулюють метаболічний гомеостаз. Іншими словами, жирова тканина контролює енергетичний баланс вашого організму, регулюючи сигнали апетиту центральної нервової системи та метаболічну активність у периферичних тканинах. Хронічне надмірне харчування може призвести до порушення обміну речовин, а зрештою і до ожиріння.

Відомо, що основна маса жирових відкладень в людському організмі знаходиться під шкірою, найбільше — в області живота. Товщина підшкірно-жирової клітковини на передній черевній стінці у огрядних людей може досягати 15-20 сантиметрів. У черевній порожнині також є особливе утворення — сальник, який може накопичувати дуже багато жиру. Значні жирові депо знаходяться у заочеревинному просторі, де розташовані важливі внутрішні органи.

Зазвичай розрізняють два типи відкладення жиру: абдомінальний (за типом «яблука») та периферичний (за типом «груші»). За абдомінального

жирові тканини накопичуються переважно у черевній порожнині, а за периферичному — під шкірою. За абдомінального ожиріння навколо внутрішніх органів відкладається метаболічно активний бурий жир. А за периферичного під шкірою відкладається білий жир, який є метаболічно неактивним.

При дослідженні вісцерального жиру у 4-х місячних щурів, яким неонатально було введено глютамат натрію, встановлено, що клітини мають у своєму складі гігантські вакуолі з жиром, на відміну від підшкірного жиру, де при дії глютамату натрію збільшується саме кількісний склад адипоцитів, а не якісний [8].

У жировій тканині продукуються такий важливий гормон, як лептин. Лептин регулює тривалість проміжків між прийомами їжі. Чим вище рівень лептину, тим рідше людина їсть. Фізіологічна функція лептину полягає в попередженні розвитку ожиріння в умовах надлишкового надходження їжі в організм. Зниження секреції лептину при голодуванні є свого роду сигналом для підвищення поглинання енергії. При надмірному надходженні їжі в організм підвищується термогенез шляхом активування утворення енергії в бурому жирі, за допомогою індукції експресії генів, відповідальних за синтез мітохондріальних білків 1, 2 і 3 типу, що роз'єднують окисне фосфорилування і які регулюють швидкість термогенеза в організмі. Зниження рівня лептину в крові нижче порогового рівня супроводжується підвищенням апетиту. Гіполептінемія збільшує відчуття голоду і пригнічує функцію репродуктивної системи. Гіперлептінемія, яка спостерігається при ожирінні, не супроводжується значними змінами з боку здоров'я і є своєрідним сигналом зниження маси жиру і наявності голодування [221].

Показано, що за умов глютамат-індукованого ожиріння у жировій тканині щурів вірогідно підвищився рівень лептину на 61,1% ($p < 0,01$) порівняно з контролем [8]. Патогенетична роль лептину у регуляції вуглеводного, жирового обмінів пов'язана з його дією на гепатоцити та скелетну мускулатуру. Важливими є результати досліджень К. Ікеїма та

співавторів, згідно з якими лептин виявляє антистеатогенні властивості, схожі до ефектів інсуліну, регулює і контролює внутрішньоклітинний гомеостаз глюкози та вільних жирних кислот (ВЖК), попереджає розвиток глюко- і ліпотоксичності [194]. Використання лептину в якості терапевтичного агента обмежене через виражену лептинорезистентність у більшості осіб, що страждають на ожиріння. На сьогодні терапія лептином успішно використовується тільки у хворих з генетичним дефіцитом лептина або ліподистрофією [195].

Рівень адипонектину в плазмі достовірно знижений при вісцеральному ожирінні та патологічних станах, для яких характерна інсулінорезистентність – ЦД2, НАЖХП, атеросклероз. Всі олігомерні форми адипонектину присутні в крові. Групою вчених висловлено припущення, що співвідношення (а не абсолютна кількість) HMW/LMW форм адипонектина в сироватці крові має вирішальне значення у визначенні чутливості до інсуліну периферичних тканин [196]. Помірна втрата ваги призводить до відносного збільшення співвідношення HMW/MMW та зниження абсолютної кількості LMW-форми адипонектина в сироватці крові [197].

Відомо, що рівень адипонектина знижений у людей з ожирінням та інсулінорезистентністю. Дослідження на макаках-резус, у яких моделювали ожиріння та ЦД2, підтвердило дане твердження і продемонструвало, що рівень адипонектину знижується паралельно з прогресуванням даних патологічних станів [198].

За умов нашого експерименту в сироватці крові щурів вірогідно знижується на 59,6% ($p < 0,01$) рівень адипонектину порівняно із щурами, яким не моделювали глютамат-індуковане ожиріння [8]. Лікування рекомбінантним адипонектином експериментальних тварин з ожирінням призводить до зниження рівня гіперглікемії, вільних жирних кислот (ВЖК) в плазмі крові та покращує чутливість до інсуліну [199]. Активація PPAR γ *in vivo* призводить до підвищення рівня адипонектина в крові [200]. У мишей, позбавлених адипонектина, спостерігається печінкова інсулінорезистентність паралельно зі

зниженням терапевтичної відповіді на агоністи PPAR γ , що вказує на те, що адипонектин є важливим фактором, який забезпечує PPAR γ -опосередковане покращення чутливості до інсуліну [201].

Дисбаланс продукції адипокінів і прозапальних цитокінів є однією з причин розвитку оксидативного стресу при ожирінні. Адипоцити є джерелом прозапальних цитокінів, у тому числі TGF- β , IL-1 і IL-6, що є сильними стимуляторами продукції АФК макрофагами і моноцитами [183]. Виявлено підвищення вмісту прозапальних цитокінів IL-1 та IL-12В p40 у сироватці жиру щурів. Рівень IL-1 підвищився на 33,3% ($p < 0,05$), а IL-12В p40 - на 22,1% ($p < 0,05$) порівняно з контрольними щурами. Навпаки, ми не виявили різниці в рівні INF- γ між ожирінням та контрольними щурами [10].

За умов вісцерального ожиріння активність протизапальної системи знижувалась. Це було очевидно через зменшення IL-4 на 22,1% ($p < 0,05$), IL-10-на 31,9% ($p < 0,05$) та TGF- β на 31,4% ($p < 0,05$) у групі щурів з ожирінням порівняно з контрольною групою [4]. Таким чином, імуноферментний аналіз показав інтенсифікацію запальних процесів в умовах ожиріння, викликаного глютаматом натрію. Разом вказані зміни свідчать про розвиток вісцерального ожиріння в цій групі тварин. Отримані нами результати, узгоджуються і підтверджують роботи інших дослідників [59, 81, 211–214].

Значна увага науковців та лікарів приділяється питанню вивчення широкого спектру поліфенольних речовин, які володіють протизапальними та антиоксидантними властивостями [156, 157].

На сьогодні встановлено, що поліфенольні сполуки, біологічно активні сполуки рослинного походження завдяки своїм потужним антиоксидантним, протизапальним, антипроліферативним і антиапоптозним властивостям значно послаблюють метаболічні зміни за інсулінорезистентності [67, 159–162]. Також, було проведено дослідження, в якому продемонстрована експресія компонентів меланогенного шляху та наявність меланіну у вісцеральному жирі. Було виявлено більшу кількість меланіну в жировій тканині хворих на ожиріння відносно худорлявих, отже автори припустили,

що меланін, пігмент, відомий своїми антиоксидантними та протизапальними властивостями, може очищати реактивні види кисню та зменшувати окислювальний стрес та запалення в жировій тканині. Все частіше вважається, що жирова тканина відіграє активну роль при патологіях, пов'язаних з ожирінням, таких як інсулінорезистентність та НАЖХП. Ожиріння сильно пов'язане із системним запаленням і, меншою мірою, з окислювальним стресом, хоча причинно-наслідкові зв'язки між цими факторами до кінця незрозумілі [49].

Хоча введення поліфенольної сполуки меланіну не викликало значимих змін у показнику маси тіла щурів, проте маса вісцеральної жирової тканини у щурів була зменшена на 55% ($p < 0,01$), а довжина тіла збільшилася до на 5,1% ($p < 0,05$) у порівнянні з щурами з глутамат-індукованим ожирінням. Також, за умов введення меланіну спостерігали зменшення індексу маси тіла на 10% ($p < 0,05$) та індексу Лі на 6,5% ($p < 0,05$).

Введення меланіну призводило до збільшення рівня адипонектину в сироватці крові на 77,1% ($p < 0,01$) та зменшення рівня лептину на 17% ($p < 0,05$) у вісцеральній жировій тканині щурів у порівнянні з групою глутамат натію. При введенні меланіну спостерігали значну активацію протизапальної системи, що було підтверджено підвищенням рівня ІЛ-10 на 26,7% ($p < 0,05$) та TGF- альфа на 29,5% ($p < 0,05$) порівняно з щурами з експериментальним ожирінням. Рівень ІЛ-4 статистично значимо не змінювався. У щурів, яким вводили меланін, рівень прозапального ІЛ-12В p40 був нижчим на 22,1% ($p < 0,05$) порівняно з групою глутаматом натрію, а рівень ІЛ-1 був відновлений до контрольних значень [5].

Отже, досліджувана сполука зменшувала концентрацію в сироватці крові щурів прозапальних цитокінів (інтерлейкіну (ІЛ)-1 β , ІЛ 12В p40) на тлі збільшення концентрації антизапальних цитокінів (ІЛ-10, ФРП- β).

Таким чином, отримані дані дозволяють заключити, що періодичне введення 2-х тижневими курсами меланіну щурам, яким в неонатальному

періоді вводили глютамат натрію, попереджало розвиток вісцерального ожиріння у щурів.

У зв'язку з тим, що ожиріння зазвичай пов'язане з НАЖХП, доброякісним станом, що характеризується накопиченням ліпідів печінки [48]. Однак НАЖХП може прогресувати у деяких пацієнтів до НАСГ, а потім до важких уражень печінки, включаючи обширний фіброз, цироз і гепатоцелюлярну карциному. Діагноз НАЖХП встановлюється при виявленні ознак стеатозу печінки візуалізаційними або морфологічними методами та виключенні причин вторинного походження жирової інфільтрації печінки, а саме використання стеатогенних ліків, спадкових, метаболічних захворювань тощо [105]. Золотим стандартом для верифікації НАЖХП є біопсія печінки [106, 107]. Тому, наступним етапом наших досліджень було проаналізувати морфологічні зміни печінки за умов глютамат-індукованого ожиріння та введення меланіну.

Печінка щурів контрольної групи мала класичну будову без ознак запалення та фіброзу [3]. Проведення імуногістохімічного дослідження не виявило суттєвої експресії маркерів запальної активації NF- κ B і TNF- α у гепатоцитах. Слабка позитивна реакція на NF- κ B визначалася в ділянках уздовж синусоїдних капілярів та відповідала за локалізацією візуалізованим CD68 позитивним клітинам. Імуногістохімічна реакція на CD68 визначалася в межах стінки синусоїдних капілярів (близько 50% судинної вистилки), що може відповідати локалізації клітин Купфера, які експресують макрофагальні маркери.

У групі тварин з глютамат-індукованим ожирінням структура печінкових часточок відрізнялася від контролю і за особливостями морфологічних змін відповідала НАЖХП [7]. В першу чергу привертала до себе увагу будова порталних трактів – визначалися ознаки запальної інфільтрації у сполучній тканині навколо триад. Окрім запалення, у 3 щурів (33,3%) виявлено легкий перивенулярний та перисинусоїдальний фіброз, пов'язаний із порталним запаленням та фіброзом, типовим для

неалкогольного стеатогепатиту. В межах часточок також визначалися ділянка дифузної чи локальної лімфогістіоцитарної інфільтрації. Виразність лобулярної запальної інфільтрації у тварин з глутамат-індукованим ожирінням складала $1,20 \pm 0,17$. Виразність стеатозу варіювала у різних тварин експериментальної групи, дорівнюючи в середньому $1,8 \pm 0,17$. Окрім дрібнокраплинної жирової інфільтрації у ряді клітин виявлялися глибокі дистрофічні зміни у виді балонної дегенерації. Оцінюючи запальні та дистрофічні зміни в печінці експериментальних тварин, загальний показник НАСГ досяг $3,33 \pm 0,36$ бали [2]. Такі зміни супроводжувались збільшенням кількості макрофагів у печінці. Численні CD68 позитивні клітини покривали майже всю поверхню синусоїдальних капілярів та виявлялися у перипортальних інфільтратах. Їх кількість в цих зонах напряду була пов'язана з виразністю запальної інфільтрації стромы навколо триад. Схожим до просторової візуалізації CD68 позитивних клітин був розподіл клітин з ознаками експресії NF- κ B і TNF- α . Оскільки макрофаги і клітини Купфера вважаються основним джерелом продукції TNF- α , отримані результати можуть продемонструвати роль прозапальної активації і продукції TNF- α у розвитку НАСГ. Крім того, помірна імунопозитивна реакція на TNF- α була виявлена в гепатоцитах у щурів з НАСГ. Інтенсивність імуногістохімічного забарвлення щодо TNF α корелювала з виразністю експресії NF- κ B ($r = 0,782$, $p < 0,001$). Остання визначалася не тільки в макрофагах, але й в цитоплазмі гепатоцитів, особливо в ділянках стеатозу. Виразний стеатоз та пошкодження клітин супроводжувались ядерною експресією NF- κ B в гепатоцитах [5, 9].

Таким чином, ожиріння, спричинене глутаматом натрію у новонароджених, асоційоване з розвитком НАЖХП, що супроводжується активацією запальних шляхів як в клітинах перисинусоїдального простору, так і в гепатоцитах. Активація сигнального шляху NF- κ B може було асоційоване з виразністю лобулярного та перипортального запалення і експресією TNF- α .

Введення меланіну щурам з глутамат-індукованим ожирінням обмежувало виразність патологічних змін у печінці, значно знижуючи ступінь стеатозу та запобігаючи незворотному ушкодженню гепатоцитів у виді балонної дегенерації. Менш виразною була інфільтрація гепатоцитів ліпідами – лише незначна частка клітин печінки мала вакуолізацію, що відбиває ектопічне відкладення жиру. Це призвело до статистично значущого зменшення показника ступеню стеатозу в умовах введення меланіну – він виявився на 59,4% нижчим ($p < 0,01$) порівняно з групою тварин з глутамат-індукованим ожирінням без корекції [2, 9].

Міжчасточкова строма була ніжною, лише локально визначалися незначні за розміром інфільтрати. За рахунок такого протизапального ефекту меланіну було зареєстроване істотне ослаблення показника лобулярного запалення у щурів з глутамат-індукованим ожирінням, які отримували меланін, $p < 0,001$. Разом з позитивним ефектом меланіну на гепатоцити, це призвело до зменшення загального показника НАСГ у тварин з глутамат-індукованим ожирінням на фоні корекції, порівняно з щурами експериментальної групи, що не отримували меланін ($p < 0,001$) [5].

Таким чином, введення меланіну тваринам з глутамат-індукованим ожирінням має гепатопротекторний вплив. Цей ефект обумовлений обмеженням жирової інфільтрації гепатоцитів та виразності стеатозу. Крім того, меланін мав протизапальний ефект, обмежуючи активацію експресії NF- κ B і TNF- α . Це визначило обмеження лімфогістіоцитарної інфільтрації в межах печінкових часточок та перипортального просторі, результатом чого стало обмеження запальних та фібротичних змін, що відбиває пригнічення розвитку статогепатиту.

Ожиріння і виникаючі при ньому метаболічні порушення є одним з етіологічних факторів хвороб підшлункової залози. Показано, що у людей які мають надлишкову вагу, є схильність до розвитку важких форм панкреатиту з ускладненнями, а ожиріння при цьому є досить надійною прогностичною ознакою перебігу гострого панкреатиту [112, 113]. Але деякі дані є

суперечливими, не дивлячись на численні дослідження. Це певною мірою може бути зумовлено використанням різних діагностичних критеріїв та класифікацій, при цьому точний механізм взаємозв'язку ожиріння та панкреатиту поки ще не встановлений [114].

Тому далі ми проаналізували морфо-функціональний стан підшлункової залози за умов глутамат-індукованого ожиріння та введення меланіну. Встановлено, розвиток глутамат-індукованого ожиріння супроводжувався накопиченням вісцерального та заочеревиного жиру, в межах якого визначалися явища гіпертрофії адипоцитів. В межах жирової тканини навколо підшлункової залози визначалася значна кількість кровоносних судин, місцями з ознаками помірного набряку та запальної інфільтрації [6]. Проведення імуногістохімічного дослідження виявило наявність між адипоцитами і в межах інфільтратів значної кількості прозапальних макрофагів, позитивних на маркер CD68, а також наявності виразної експресії COX-2, NF- κ B і TNF- α [1].

При аналізі екзокринної частини підшлункової залози було зазначено комбінацію протилежних змін: у частині ацинусів визначалися ознаки гіперсекреції, тоді як на периферії залози визначалися дрібні ацинуси з переважанням базофільного забарвлення клітин. Такі ознаки, притаманні репаративним процесам, можуть відбивати новоутворення нових ацинусів в периферичній частині підшлункової залози.

Більш значних змін зазнала ендокринна частина підшлункової залози. В першу чергу, було зазначено зростання кількості та розмірів панкреатичних острівців. Що призвело до збільшення частки ендокринної частини у структурі паренхіми залози більш, ніж в 2,5 рази. Характерно ознакою будови підшлункової залози щурів з глутамат-індукованим ожирінням була наявність у міжчасточкових перегородках лейкоцитарної інфільтрації - переважно в периваскулярних і перидуктальних зонах.

Виразність інфільтрації варіювала від слабкої до помірної. Проведення імуногістохімічного дослідження виявило значне збільшення кількості

макрофагів як в межах міжчасточкових перетинок, так і всередині часточок. Крім того, макрофаги визначалися в межах ендокринних острівців ($2,8 \pm 0,3$ CD68-позитивних клітин в межах одного острівця), хоча у контрольних тварин CD68-позитивні клітини не були виявлені в острівцях.

Наявність CD68+ макрофагів була асоційована з підвищенням експресії COX-2 і NF- κ B. Експресія COX-2 виявлена у вигляді мозаїчної позитивної реакції в клітинах острівців. Крім того, в межах острівців було визначено позитивну реакцію щодо експресії NF- κ B, яка виявлялася переважно в периваскулярній зоні та на периферії острівців. Таким чином, глутамат-індуковане ожиріння супроводжувалося розвитком гіперплазії інсулярного апарату підшлункової залози і запальними змінами в екзокринній частині залози. Останнє було обумовлено збільшенням кількості макрофагів з активацією експресії COX-2 і NF- κ B.

Введення меланіну запобігало патологічним змінам в підшлунковій залозі. Тварини, що отримували меланін, мали меншу питому частку ендокринних острівців у структурі залози ($11 \pm 0,83\%$ проти $21,6 \pm 2,03\%$ відповідно), хоча цей показник був дещо вищим за контроль. Для аналізу гіперплазії острівцевих клітин, було проведено підрахунок кількості інсулоцитів у межах панкреатичних острівців. Як показали результати морфометричного дослідження, даний показник зменшився майже вдвічі ($p < 0,001$).

Це було обмовлене не тільки зменшенням абсолютної кількості острівцевих клітин й зменшенням щільності їх розташування при оцінювання на одиницю площі острівця. По суті, ці дані свідчать про те, що вплив меланіну обмежує гіперплазію інсулоцитів у межах ендокринних острівців та запобігає гіперфункції інсулярного апарату підшлункової залози. Проведення імуногістохімічного дослідження дозволило виявити лише поодинокі макрофаги в межах ендо- та екзокринної частини підшлункової залози, в яких визначалася слабка експресія COX-2 [1].

Таким чином, введення меланіну запобігало порушенню морфологічної картини підшлункової залози у тварин з глутамат-індукованим ожирінням.

Підсумок

В дисертаційній роботі було вивчено структурно-функціональний стан печінки та підшлункової залози за умов неонатального введення глютамаму натрію та проведений пошук засіб корекції. Вперше встановлено, що меланін, продуцентом якого є антарктичні мікроорганізми *Pseudonadsoniella brunea* (раніше *Nadsoniella nigra* X-1), запобігає розвитку вісцерального ожиріння, викликаного неонатальним введенням глютамаму натрію у щурів віком 4 місяці, що підтверджувалося зменшенням індексу маси тіла, індексу Лі та маси вісцеральної жирової тканини. Введення меланіну двох-тижневими курсами призводило до збільшення рівня адипонектину в сироватці крові та зменшення рівня лептину у вісцеральній жировій тканині щурів у порівнянні з групою глютамаму натрію. Введення меланіну призводило до зменшення концентрації в сироватці крові щурів прозапальних цитокінів (інтерлейкіну (ІЛ)-1 β , ІЛ 12В р40) на тлі збільшення концентрації антизапальних цитокінів (ІЛ-10, ФРП- β).

Показано, що експериментальне ожиріння супроводжувалося розвитком неалкогольної жирової хвороби печінки та жирової дистрофії печінки. У печінки спостерігалася активація запальних шляхів як в клітинах перисинусоїдального простору, так і в гепатоцитах, що підтверджувалося активацією сигнального шляху NF- κ B, яке було асоційоване з виразністю лобулярного та перипортального запалення і експресією TNF- α . В підшлунковій залозі спостерігалася гіперплазія інсулярного апарату, асоційованого з макрофагальною інфільтрацією і підвищенням експресії COX-2. Введення меланіну запобігало порушенню морфо-функціонального стану печінки та підшлункової залози у тварин з глютамаму-індукованим ожирінням, нівелюючи активацію прозапальних сигнальних шляхів.

ВИСНОВКИ

Дисертаційна робота була скерована на вивчення структурно-функціонального стану печінки та підшлункової залози за умов експериментального глутамат-індукованого ожиріння та введення меланіну. На основі результатів зроблені наступні висновки:

1. Через 4 місяці після народження у щурів, яким неонатально підшкірно вводили глутамат натрію, спостерігався розвиток вісцерального ожиріння, що підтверджувалося змінами маси вісцерального жиру, індексом маси тіла та індексом Лі. У жировій тканині щурів значно підвищувався рівень лептину на 61,1% ($p < 0,01$), а в сироватці крові щурів знижувався на 59,6% ($p < 0,01$) рівень адипонектину порівняно із щурами, яким не моделювали глутамат-індуковане ожиріння. У сироватці крові щурів з ожирінням виявлено підвищення вмісту прозапальних цитокінів IL-1 на 33,3% ($p < 0,05$), а IL-12B p40 - на 22,1% ($p < 0,05$) та зниження протизапальної системи IL-4 на 22,1% ($p < 0,05$), IL-10 на 31,9% ($p < 0,05$) і TGF- β на 31,4% ($p < 0,05$).
2. Ожиріння, спричинене глутаматом натрію, асоційоване з розвитком неалкогольної жирової хвороби печінки, що супроводжується активацією запальних шляхів як в клітинах перисинусоїдального простору, так і в гепатоцитах. Активація сигнального шляху NF- κ B була асоційована з виразністю лобулярного та перипортального запалення і експресією TNF- α в печінці. Глутамат-індуковане ожиріння супроводжувалося розвитком гіперплазії інсулярного апарату підшлункової залози і запальними змінами в екзокринній частині залози. Спостерігалось збільшення кількості макрофагів з активацією експресії COX-2 і NF- κ B.
3. Глутамат-індуковане ожиріння супроводжувалося розвитком гіперплазії інсулярного апарату підшлункової залози і запальними змінами в

- екзокринній частині залози. Останнє було обумовлено збільшенням кількості макрофагів з активацією експресії COX-2 і NF- κ B.
4. Меланін запобігає розвитку вісцерального ожиріння, викликаного глютаматом натрію, що підтверджується зменшенням індексу маси тіла, індексу Лі та маси вісцеральної жирової тканини у 4-ох місячних щурів. Меланін призводив до збільшення рівня адипонектину в сироватці крові та зменшення рівня лептину у вісцеральній жировій тканині щурів у порівнянні з групою, що отримувала глютамат натрію. Досліджувана сполука зменшувала концентрацію в сироватці крові щурів прозапальних цитокінів (інтерлейкіну (ІЛ)-1 β , ІЛ-12В р40) на тлі збільшення концентрації антизапальних цитокінів (ІЛ-10, ФРП- β).
 5. Введення меланіну тваринам з глютамат-індукованим ожирінням спричиняло гепатопротекторний вплив. Цей ефект обумовлений зменшенням жирової інфільтрації гепатоцитів та виразності стеатозу. Крім того, меланін мав протизапальний ефект, зменшуючи активацію експресії NF- κ B і TNF- α . Це визначило обмеження лімфогістіоцитарної інфільтрації в межах печінкових часточок та перипортальному просторі, результатом чого стало обмеження запальних та фібротичних змін, що пригнічує розвиток статогепатиту.
 6. Введення меланіну запобігало патологічним змінам в підшлунковій залозі. В межах екзокринної частини підшлункової залози виявлялися лише поодинокі макрофаги, ознаки значущою лейкоцитарної інфільтрації були відсутні. Імуногістохімічне дослідження дозволило виявити лише поодинокі макрофаги в межах ендо- та екзокринної частини підшлункової залози, в яких визначалася слабка експресія COX-2.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Belemets N, Falalyeyeva T, Beregova T, Ostapchenko L, Kobyliak N, Kuryk O, Sulaieva O (2018) Morphogenesis of pancreas under the conditions of glutamate-induced obesity: mechanisms of correction effect of melanin. Bull Taras Shevchenko Natl Univ Kyiv Ser Biol 76:56–61
2. Belemets N, Kobyliak N, Tsyryuk O, Kuryk O, Falalyeyeva T (2016) Histopathological analysis of liver tissue in monosodium glutamate-induced obese rats. Res. J. Pharm. Biol. Chem. Sci. 7:
3. Kobyliak N, Abenavoli L, Falalyeyeva T, Virchenko O, Natalia B, Beregova T, Bodnar P, Spivak M (2016) Prevention of nafld development in rats with obesity via the improvement of pro/antioxidant state by cerium dioxide nanoparticles. Clujul Med. <https://doi.org/10.15386/cjmed-632>
4. Belemets N, Kobyliak N, Virchenko O, et al (2017) Effects of polyphenol compounds melanin on NAFLD/NASH prevention. Biomed Pharmacother. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.01.028>
5. Belemets N, Kobyliak N, Falalyeyeva T, Kuryk O, Sulaieva O, Vovk T, Beregova T, Ostapchenko L (2018) Polyphenol compounds melanin prevented hepatic inflammation in rats with experimental obesity. Nat. Prod. Commun. 13:
6. Фалалєєва Т.М., Белемець Н.І., Курик О.Г., Савчук О.М. БТВ (2017) Морфо-функціональний стан підшлункової залози за умов експериментального ожиріння. Тези доповідей VIII Міжнародна наукова конференція «Психофізіологічні та вісцеральні функції в нормі і патології», присвячена 175-річчю кафедри фізіології та анатомії людини та тварин Київського національного університету імені Тараса Шевченка (Київ 17-20 28)

7. Белемець Н.І., Харченко О.І., Костюк О.С., Курик О.Г. ФТМ (2016) Морфологічна характеристика печінки щурів за умов експериментального вісцерального ожиріння. Тези за матеріалами Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю «Креативні напрямки в діагностиці, патогенезі, лікуванні та профілактиці внутрішніх хвороб» (29-30 вересня 2016 р м Запоріжжя) 7
8. Falalyeyeva T., Belemets N., Kobyliak N., Vodnar P., Beregova T. OL (2016) The opportunities of polyphenols: prevention of the development of experimental obesity. Eur J Clin Investig – (50th Annu Sci Meet Eur Soc Clin Investig (27-29 April 2016, Paris) 46:34
9. Belemets N., Falalyeyeva T., Kuryk O., Sulaieva O., L. Abenavoli, Beregova T. OL (2018) Anty-inflammatory mechanism of melanin by the expression of TNF- α , NF-KB in rat liver with NAFLD/NASH. Матеріали Міжнародної науково-практичної конференції “Біологічні, медичні та науково-педагогічні аспекти здоров’я людини» (4-5 жовтня 2018 року, м Полтава) 15
10. Belemets N., Falalyeyeva T., Kuryk O., Sulaieva O., L. Abenavoli, Beregova T. OL (2018) Anty-inflammatory effect of polyphenol compounds melanin in rats with MSG-induced obesity and associated development of NAFLD/NASH. Smart Lion 2018, 2nd Symp Innov Med (11-13 October, Lviv, Ukr 52
11. Woods SC, Ramsay DS (2011) Food intake, metabolism and homeostasis. *Physiol Behav* 104:4–7
12. Flier JS (2004) Obesity Wars: Molecular Progress Confronts an Expanding Epidemic. *Cell* 116:337–350
13. Yusuf S, Hawken S, Ôunpuu S, et al (2005) Obesity and the risk of myocardial infarction in 27 000 participants from 52 countries: A case-control study.

Lancet 366:1640–1649

14. Omran Z (2016) Obesity: Current Treatment and Future Horizons. *Mini-Reviews Med Chem* 17:51–61
15. Seravalle G, Grassi G (2017) Obesity and hypertension. *Pharmacol Res* 122:1–7
16. Hurt RT, Kulisek C, Buchanan LA, McClave SA (2010) The obesity epidemic: Challenges, health initiatives, and implications for gastroenterologists. *Gastroenterol Hepatol* 6:780–792
17. Hruby A, Hu FB (2015) The Epidemiology of Obesity: A Big Picture. *Pharmacoeconomics* 33:673–689
18. Blüher M (2020) Metabolically Healthy Obesity. *Endocr Rev.* <https://doi.org/10.1210/endrev/bnaa004>
19. Obesity and overweight. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>. Accessed 29 Jun 2020
20. Chou L, Brady SRE, Urquhart DM, Teichtahl AJ, Cicuttini FM, Pasco JA, Brennan-Olsen SL, Wluka AE (2016) The Association between Obesity and Low Back Pain and Disability Is Affected by Mood Disorders. *Med (United States)*. <https://doi.org/10.1097/MD.0000000000003367>
21. Pasco JA, Nicholson GC, Brennan SL, Kotowicz MA (2012) Prevalence of obesity and the relationship between the body mass index and body fat: Cross-sectional, population-based data. *PLoS One*. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0029580>
22. Pi-Sunyer X (2009) The medical risks of obesity. *Postgrad Med* 121:21–33
23. Visscher TL, Seidell JC (2001) The Public Health Impact of Obesity. *Annu Rev Public Health* 22:355–375

24. Bácsné Bába É, Ráthonyi G, Müller A, Ráthonyi-Odor K, Balogh P, Ádány R, Bács Z (2020) Physical Activity of the Population of the Most Obese Country in Europe, Hungary. *Front Public Heal.* <https://doi.org/10.3389/fpubh.2020.00203>
25. Chooi YC, Ding C, Magkos F (2019) The epidemiology of obesity. *Metabolism* 92:6–10
26. Sable SP, Yan K, Yapi A, Kpebo DD, Ekou KF, Ake-Tano POS, Tetchi OE, Konan EY, Kouassi D, Wan C (2020) Epidemiologic profile of overweight and obesity in Abidjan, Ivory Coast: A cross-sectional study. *Ann Glob Heal.* <https://doi.org/10.5334/aogh.2755>
27. Peeters A, Barendregt JJ, Willekens F, Mackenbach JP, Al Mamun A, Bonneux L, Janssen F, Kunst A, Nusselder W (2003) Obesity in adulthood and its consequences for life expectancy: A life-table analysis. *Ann Intern Med* 138:24–32
28. Meier T, Gräfe K, Senn F, Sur P, Stangl GI, Dawczynski C, März W, Kleber ME, Lorkowski S (2019) Cardiovascular mortality attributable to dietary risk factors in 51 countries in the WHO European Region from 1990 to 2016: a systematic analysis of the Global Burden of Disease Study. *Eur J Epidemiol* 34:37–55
29. Епідемія ожиріння: чому людство живе з зайвою вагою | Новини України - #Букви. <https://bykvu.com/ua/mysli/jepidemija-ozhirenija-pochemu-chelovechestvo-zhivet-s-lishnim-vesom/>. Accessed 29 Jun 2020
30. Gheblawi M, Wang K, Viveiros A, Nguyen Q, Zhong JC, Turner AJ, Raizada MK, Grant MB, Oudit GY (2020) Angiotensin-Converting Enzyme 2: SARS-CoV-2 Receptor and Regulator of the Renin-Angiotensin System: Celebrating the 20th Anniversary of the Discovery of ACE2. *Circ Res* 1456–1474
31. Al Heialy S, Hachim MY, Senok A, Abou Tayoun A, Hamoudi R, Alsheikh-

- Ali A, Alheialy Q (2020) Regulation of angiotensin converting enzyme 2 (ACE2) in obesity: implications for COVID-19. *bioRxiv* 2020.04.17.046938
32. Touyz RM, Li H, Delles C (2020) ACE2 the Janus-faced protein – from cardiovascular protection to severe acute respiratory syndrome-coronavirus and COVID-19. *Clin Sci* 134:747–750
33. Iacobellis G (2020) COVID-19 and diabetes: Can DPP4 inhibition play a role? *Diabetes Res Clin Pract.* <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2020.108125>
34. П.Х. П (2009) Потенційна небезпечність швидкої їжі. *Вісник Львівської комерційної академії* 10:6–10
35. Flynn MAT, McNeil DA, Maloff B, Mutasingwa D, Wu M, Ford C, Tough SC (2006) Reducing obesity and related chronic disease risk in children and youth: A synthesis of evidence with “best practice” recommendations. *Obes Rev* 7:7–66
36. Swinburn B, Gill T, Kumanyika S (2005) Obesity prevention: A proposed framework for translating evidence into action. *Obes Rev* 6:23–33
37. Khera R, Murad MH, Chandar AK, Dulai PS, Wang Z, Prokop LJ, Loomba R, Camilleri M, Singh S (2016) Association of pharmacological treatments for obesity with weight loss and adverse events a systematic review and meta-analysis. *JAMA - J Am Med Assoc* 315:2424–2434
38. Kang HS, DeAntonio J, Oiticica C, Lanning D, Browne A (2020) Novel and emerging devices and operations in the treatment of obesity in children and adolescents. *Semin Pediatr Surg.* <https://doi.org/10.1016/j.sempedsurg.2020.150881>
39. Schwartz MW, Seeley RJ, Zeltser LM, Drewnowski A, Ravussin E, Redman LM, Leibel RL (2017) Obesity pathogenesis: An endocrine society scientific statement. *Endocr Rev* 38:267–296

40. Kaly P, Orellana S, Torrella T, Takagishi C, Saff-Koche L, Murr MM (2008) Unrealistic weight loss expectations in candidates for bariatric surgery. *Surg Obes Relat Dis* 4:6–10
41. DeJesus RS, Bauer KW, Bradley DP, Haller I, Bradley SM, Schroeder DR, St. Sauver J, Phelan SM, Croghan IT (2019) Experience and expectations of patients on weight loss: The Learning Health System Network Experience. *Obes Sci Pract* 5:479–486
42. Dutton GR, Perri MG, Dancer-Brown M, Goble M, Van Vesseem N (2010) Weight loss goals of patients in a health maintenance organization. *Eat Behav* 11:74–8
43. Dutton GR, Perri MG, Stine CC, Goble M, Van Vesseem N (2010) Comparison of physician weight loss goals for obese male and female patients. *Prev Med (Baltim)* 50:186–188
44. Bray GA, Heisel WE, Afshin A, et al (2018) The Science of Obesity Management: An Endocrine Society Scientific Statement. *Endocr Rev* 39:79–132
45. Hall JE, do Carmo JM, da Silva AA, Wang Z, Hall ME (2019) Obesity, kidney dysfunction and hypertension: mechanistic links. *Nat Rev Nephrol* 15:367–385
46. Valerio G, Maffei C, Saggese G, et al (2018) Diagnosis, treatment and prevention of pediatric obesity: Consensus position statement of the Italian Society for Pediatric Endocrinology and Diabetology and the Italian Society of Pediatrics. *Ital J Pediatr*. <https://doi.org/10.1186/s13052-018-0525-6>
47. Schiavo L, Busetto L, Cesaretti M, Zelber-Sagi S, Deutsch L, Iannelli A (2018) Nutritional issues in patients with obesity and cirrhosis. *World J Gastroenterol* 24:3330–3346

48. Скрипник Н.В., Гриб В.А. БЛЯ (2012) Гепатопротекція — шлях до подолання інсулінорезистентності у хворих на цукровий діабет 2-го типу з метаболічним синдромом (огляд літератури). Ліки України № 10 (166):С. 54-59
49. Page S, Chandhoke V, Baranova A (2011) Melanin and melanogenesis in adipose tissue: Possible mechanisms for abating oxidative stress and inflammation? *Obes Rev.* <https://doi.org/10.1111/j.1467-789X.2010.00773.x>
50. Randhawa M, Huff T, Valencia JC, Younossi Z, Chandhoke V, Hearing VJ, Baranova A (2009) Evidence for the ectopic synthesis of melanin in human adipose tissue. *FASEB J* 23:835–843
51. Bahadoran Z, Mirmiran P, Azizi F (2013) Dietary polyphenols as potential nutraceuticals in management of diabetes: A review. *J Diabetes Metab Disord* 12:1–9
52. Zhang H, Tsao R (2016) Dietary polyphenols, oxidative stress and antioxidant and anti-inflammatory effects. *Curr Opin Food Sci* 8:33–42
53. Virchenko OV, Falalyeyeva TM, Beregova TV, Spivak MY, Lazarenko LM, Demchenko OM (2015) Effects of mono-, poly- and composite probiotics on the ulceration caused by restraint stress. *Fiziol. Zh.* 61:
54. Savytskyy Y, Golyshkin D, Falalyeyeva T (2010) Influence of melanin on the lesion in the gastric mucosa of rats caused by neuromuscular tension according to Selye. *Ann. Univ. Mariae Curie-Sklodowska, Sect. DDD Pharm.* 23:
55. Golyshkin DV, Falalyeyeva TM, Neporada KS, Beregova TV (2015) THE INFLUENCE OF MELANIN ON THE GASTRIC MUCOSA AND HYPOTHALAMIC-PITUITARY-ADRENOCORTICAL AXIS UNDER ACUTE STRESS CONDITIONS. *Fiziol. Zh.* 61:
56. Dranitsina A, Dvorshchenko K, Taburets O, Grebinyk D, Ostapchenko L,

- Beregova T (2017) Tlr2, Tjp1 genes expression during wound healing dynamics – with melanin treatment. *Curr Issues Pharm Med Sci* 30:81–85
57. Kondro M, Kobylak N, Falalyeyeva T, Virchenko O, Konopelyuk V, Halenova T, Savchuk O (2015) Serum serotonin and other biochemical parameters in conditions of high-calorie diet in rats. *Res. J. Pharm. Biol. Chem. Sci.* 6:
58. Body weight gain under long-term progesterone administration. https://www.researchgate.net/publication/311438611_Body_weight_gain_under_long-term_progesterone_administration. Accessed 5 Oct 2020
59. Kobylak N, Falalyeyeva T, Virchenko O, Mykhalchyshyn G, Bodnar P, Spivak M, Yankovsky D, Beregova T, Ostapchenko L (2016) Comparative experimental investigation on the efficacy of mono- and multiprobiotic strains in non-alcoholic fatty liver disease prevention. *BMC Gastroenterol.* <https://doi.org/10.1186/s12876-016-0451-2>
60. Kobylak N, Falalyeyeva T, Beregova T, Spivak M (2017) Probiotics for experimental obesity prevention: Focus on strain dependence and viability of composition. *Endokrynol Pol.* <https://doi.org/10.5603/EP.a2017.0055>
61. Menigoz K, Nathan A, Turrell G (2016) Ethnic differences in overweight and obesity and the influence of acculturation on immigrant bodyweight: Evidence from a national sample of Australian adults. *BMC Public Health.* <https://doi.org/10.1186/s12889-016-3608-6>
62. Frank M, Dragano N, Arendt M, Forstner AJ, Nöthen MM, Moebus S, Erbel R, Jöckel KH, Schmidt B (2019) A genetic sum score of risk alleles associated with body mass index interacts with socioeconomic position in the heinz nixdorf recall study. *PLoS One.* <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0221252>
63. Huang H, Wan Mohamed Radzi CWJ bt, Jenatabadi HS (2017) Family environment and childhood obesity: A new framework with structural equation

- modeling. *Int J Environ Res Public Health*.
<https://doi.org/10.3390/ijerph14020181>
64. Ball K, Mishra G, Crawford D (2002) Which aspects of socioeconomic status are related to obesity among men and women? *Int J Obes* 26:559–565
 65. Golubnitschaja O (2010) Time for new guidelines in advanced diabetes care: Paradigm change from delayed interventional approach to predictive, preventive & personalized medicine. *EPMA J* 1:3–12
 66. Anto EO, Owiredu WKBA, Adua E, et al (2020) Prevalence and lifestyle-related risk factors of obesity and unrecognized hypertension among bus drivers in Ghana. *Heliyon* 6:e03147
 67. Issa YA, Abd ElHafeez SS, Amin NG (2019) The potential role of angiotensin-like protein-8 in type 2 diabetes mellitus: a possibility for predictive diagnosis and targeted preventive measures? *EPMA J* 10:239–248
 68. Stothard KJ, Tennant PWG, Bell R, Rankin J (2009) Maternal overweight and obesity and the risk of congenital anomalies: A systematic review and meta-analysis. *JAMA - J Am Med Assoc* 301:636–650
 69. Okoniewski W, Lu KD, Forno E (2019) Weight loss for children and adults with obesity and asthma a systematic review of randomized controlled trials. *Ann Am Thorac Soc* 16:613–625
 70. Rippin HL, Hutchinson J, Evans CEL, Jewell J, Breda JJ, Cade JE (2018) National nutrition surveys in Europe: A review on the current status in the 53 countries of the WHO european region. *Food Nutr Res*.
<https://doi.org/10.29219/fnr.v62.1362>
 71. (2009) No Title. МОЗ, Центр медичної статистики МОЗ України, Київ 105 с.
 72. Степанов Ю.М. ФОЮ (2016) Вплив маси тіла та супутньої патології

- біліарного тракту на розвиток і прогресування ліпідних порушень у хворих на неалкогольну жирову хворобу печінки у поєднанні з ожирінням. Сучасна гастроентерологія 4:С. 7-15.
73. Bui AL, Horwich TB, Fonarow GC (2011) Epidemiology and risk profile of heart failure. *Nat Rev Cardiol* 8:30–41
 74. Hall JE, Do Carmo JM, Da Silva AA, Wang Z, Hall ME (2015) Obesity-Induced Hypertension: Interaction of Neurohumoral and Renal Mechanisms. *Circ Res* 116:991–1006
 75. Edelman AB, Jensen JT (2012) Obesity and hormonal contraception: Safety and efficacy. *Semin Reprod Med* 30:479–485
 76. Skouby SO (2010) Hormonal contraception in obesity, the metabolic syndrome, and diabetes. In: *Ann. N. Y. Acad. Sci.* Blackwell Publishing Inc., pp 240–244
 77. Ferguson RD, Gallagher EJ, Scheinman EJ, Damouni R, LeRoith D (2013) The epidemiology and molecular mechanisms linking obesity, diabetes, and cancer. In: *Vitam. Horm.* Academic Press Inc., pp 51–98
 78. Kang C, LeRoith D, Gallagher EJ (2018) Diabetes, obesity, and breast cancer. *Endocrinology* 159:3801–3812
 79. Belardi V, Gallagher EJ, Novosyadlyy R, Leroith D (2013) Insulin and IGFs in obesity-related breast cancer. *J Mammary Gland Biol Neoplasia* 18:277–289
 80. Степанов Ю.М., Абатуров О.Є., Завгородня Н.Ю. СІЮ (2015) Неалкогольна жирова хвороба печінки в дітей: сучасний погляд на можливості діагностики та лікування (II частина). *Гастроентерологія* 3:122–131
 81. Hernández Bautista RJ, Mahmoud AM, Königsberg M, López Díaz Guerrero

- NE (2019) Obesity: Pathophysiology, monosodium glutamate-induced model and anti-obesity medicinal plants. *Biomed Pharmacother* 111:503–516
82. Ozawa S, Kamiya H, Tsuzuki K (1998) Glutamate receptors in the mammalian central nervous system. *Prog Neurobiol* 54:581–618
83. Watkins JC, Jane DE (2006) The glutamate story. *Br J Pharmacol*. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0706444>
84. А.С. Б (1996) ПИЩЕВЫЕ ДОБАВКИ: Справочник. СПб ИТ, 240 с.
85. Davies NE (1968) Chinese-restaurant syndrome. *N Engl J Med* 278:1124
86. Gore ME, Salmon PR (1980) CHINESE RESTAURANT SYNDROME: FACT OR FICTION? *Lancet* 315:251–252
87. Zhou Y, Yang M, Dong BR (2012) Monosodium glutamate avoidance for chronic asthma in adults and children. *Cochrane Database Syst Rev*. <https://doi.org/10.1002/14651858.cd004357.pub4>
88. Bazzano G, D’Elia JA, Olson RE (1970) Monosodium glutamate: Feeding of large amounts in man and gerbils. *Science* (80-) 169:1208–1209
89. Freeman M (2006) Reconsidering the effects of monosodium glutamate: A literature review. *J Am Acad Nurse Pract* 18:482–486
90. Morselli PL, Garattini S (1970) Monosodium Glutamate and the Chinese restaurant syndrome. *Nature* 227:611–612
91. Tarasoff L, Kelly MF (1993) Monosodium L-glutamate: A double-blind study and review. *Food Chem Toxicol* 31:1019–1035
92. Rosenblum I, Bradley JD, Coulston F (1971) Single and double blind studies with oral monosodium glutamate in man. *Toxicol Appl Pharmacol* 18:367–373
93. Geha RS, Beiser A, Ren C, et al (2000) Multicenter, double-blind, placebo-

- controlled, multiple-challenge evaluation of reported reactions to monosodium glutamate. *J Allergy Clin Immunol* 106:973–80
94. Yang WH, Drouin MA, Herbert M, Mao Y, Karsh J (1997) The monosodium glutamate symptom complex: Assessment in a double-blind, placebo-controlled, randomized study. *J Allergy Clin Immunol* 99:757–762
95. Falalieieva TM, Kukhars'kyi VM, Berehova TV (2010) [Effect of long-term monosodium glutamate administration on structure and functional state of the stomach and body weight in rats]. *Fiziol. Zh.* 56:
96. He K, Zhao L, Daviglius ML, et al (2008) Association of monosodium glutamate intake with overweight in Chinese adults: The INTERMAP study. *Obesity* 16:1875–1880
97. Hermanussen M, Tresguerres JAF (2003) Does high glutamate intake cause obesity? *J Pediatr Endocrinol Metab* 16:965–968
98. Tordoff MG, Aleman TR, Murphy MC (2012) No effects of monosodium glutamate consumption on the body weight or composition of adult rats and mice. *Physiol Behav* 107:338–345
99. Raliou M, Wiencis A, Pillias AM, Planchais A, Eloit C, Boucher Y, Trotier D, Montmayeur JP, Faurion A (2009) Nonsynonymous single nucleotide polymorphisms in human *tas1r1*, *tas1r3*, and *mGluR1* and individual taste sensitivity to glutamate. *Am J Clin Nutr.* <https://doi.org/10.3945/ajcn.2009.27462P>
100. Lutz TA, Woods SC (2012) Overview of animal models of obesity. *Curr Protoc Pharmacol.* <https://doi.org/10.1002/0471141755.ph0561s58>
101. C S, P S, S C, A B (2014) Non-alcoholic Fatty Liver Disease in Children. *Curr Heal Sci J.* <https://doi.org/10.12865/CHSJ.40.03.03>
102. Mann JP, Valenti L, Scorletti E, Byrne CD, Nobili V (2018) Nonalcoholic

Fatty Liver Disease in Children. *Semin Liver Dis* 38:1–13

103. Alisi A, Feldstein AE, Villani A, Raponi M, Nobili V (2012) Pediatric nonalcoholic fatty liver disease: A multidisciplinary approach. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 9:152–161
104. Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, Diehl AM, Brunt EM, Cusi K, Charlton M, Sanyal AJ (2012) The diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease: Practice Guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases, American College of Gastroenterology, and the American Gastroenterological Association. *Hepatology* 55:2005–2023
105. Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, Charlton M, Cusi K, Rinella M, Harrison SA, Brunt EM, Sanyal AJ (2018) The diagnosis and management of nonalcoholic fatty liver disease: Practice guidance from the American Association for the Study of Liver Diseases. *Hepatology* 67:328–357
106. Ю.М. С (2014) Стеатоз печени и стеатогепатит — неизбежность смешанного генеза. *Гастроентерологія № 4(54):С. 136-142*
107. Степанов Ю.М., Абатуров О.С., Завгородня Н.Ю. СІЮ [та ін. . (2015) Неалкогольна жирова хвороба печінки у дітей (частина I). *Гастроентерологія № 2:С. 99-107.*
108. Tominaga K, Kurata JH, Chen YK, Fujimoto E, Miyagawa S, Abe I, Kusano Y (1995) Prevalence of fatty liver in Japanese children and relationship to obesity - An epidemiological ultrasonographic survey. *Dig Dis Sci* 40:2002–2009
109. Perito ER, Tsai PM, Hawley S, Lustig RH, Feldstein VA (2013) Targeted hepatic sonography during clinic visits for detection of fatty liver in overweight children: A pilot study. *J Ultrasound Med* 32:637–643
110. Pacifico L, Celestre M, Anania C, Paolantonio P, Chiesa C, Laghi A (2007)

- MRI and ultrasound for hepatic fat quantification: Relationships to clinical and metabolic characteristics of pediatric nonalcoholic fatty liver disease. *Acta Paediatr Int J Paediatr* 96:542–547
111. Cho Y, Tokuhara D, Morikawa H, et al (2015) Transient elastography-based liver profiles in a hospital-based pediatric population in Japan. *PLoS One*. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0137239>
 112. Martínez J, Sánchez-Payá J, Palazón JM, Suazo-Barahona J, Robles-Díaz G, Pérez-Mateo M (2004) Is obesity a risk factor in acute pancreatitis? A meta-analysis. *Pancreatology* 4:42–48
 113. Martínez J, Johnson CD, Sánchez-Payá J, De Madaria E, Robles-Díaz G, Pérez-Mateo M (2006) Obesity is a definitive risk factor of severity and mortality in acute pancreatitis: An updated meta-analysis. *Pancreatology* 6:206–209
 114. Segersvärd R, Sylván M, Lempinen M, Larsson J, Permert J (2004) Impact of Chronic and Acute High-Fat Feeding on Acute Experimental Pancreatitis Complicated by Endotoxinaemia. *Scand J Gastroenterol* 39:74–80
 115. Н.Н. Велигоцкий, Б.С. Федак АНВ [и др. . (2010) Некоторые нерешенные вопросы классификации и лечебно-диагностической тактики при остром панкреатите. *Вестник клуба панкреатологов №3:С. 36-38*
 116. Бурневич С.З., Игнатенко Ю.Н. ККВ (2004) Прогноз и исходы хирургического лечения больных панкреонекрозом в свете современных представлений о патогенезе заболевания (сообщение 1). *Анналы хирургии* С.30-32
 117. Banks PA, Freeman ML, Fass R, et al (2006) Practice guidelines in acute pancreatitis. *Am J Gastroenterol* 101:2379–2400
 118. Formela LJ, Galloway SW, Kingsnorth AN (1995) Inflammatory mediators in

- acute pancreatitis. *Br J Surg* 82:6–13
119. Frossard JL, Saluja A, Bhagat L, Hong Sik Lee, Bhatia M, Hofbauer B, Steer ML (1999) The role of intercellular adhesion molecule 1 and neutrophils in acute pancreatitis and pancreatitis-associated lung injury. *Gastroenterology* 116:694–701
 120. Sah RP, Saluja A (2011) Molecular mechanisms of pancreatic injury. *Curr Opin Gastroenterol* 27:444–451
 121. Halonen KI, Leppäniemi AK, Puolakkainen PA, Lundin JE, Kemppainen EA, Hietaranta AJ, Haapiainen RK (2000) Severe acute pancreatitis: Prognostic factors in 270 consecutive patients. *Pancreas* 21:266–271
 122. Abu Omar Y, Attar BM, Agrawal R, Randhawa T, Majeed M, Wang Y, Simons-Linares CR, Wang Y (2019) Revised Marshall Score: A New Approach to Stratifying the Severity of Acute Pancreatitis. *Dig Dis Sci* 64:3610–3615
 123. De Waele B, Vanmierlo B, Van Nieuwenhove Y, Delvaux G (2006) Impact of body overweight and class I, II and III obesity on the outcome of acute biliary pancreatitis. *Pancreas* 32:343–345
 124. Dandona P, Mohanty P, Ghanim H, Aljada A, Browne R, Hamouda W, Prabhala A, Afzal A, Garg R (2001) The Suppressive Effect of Dietary Restriction and Weight Loss in the Obese on the Generation of Reactive Oxygen Species by Leukocytes, Lipid Peroxidation, and Protein Carbonylation 1. *J Clin Endocrinol Metab* 86:355–362
 125. Papachristou GI, Papachristou DJ, Avula H, Slivka A, Whitcomb DC (2006) Obesity increases the severity of acute pancreatitis: Performance of APACHE-O score and correlation with the inflammatory response. *Pancreatology* 6:279–285

126. Visser M, Bouter LM, McQuillan GM, Wener MH, Harris TB (1999) Elevated C-reactive protein levels in overweight and obese adults. *J Am Med Assoc* 282:2131–2135
127. Vázquez LA, Pazos F, Berrazueta JR, Fernández-Escalante C, García-Unzueta MT, Freijanes J, Amado JA (2005) Effects of changes in body weight and insulin resistance on inflammation and endothelial function in morbid obesity after bariatric surgery. *J Clin Endocrinol Metab* 90:316–322
128. Ghanim H, Aljada A, Hofmeyer D, Syed T, Mohanty P, Dandona P (2004) Circulating mononuclear cells in the obese are in a proinflammatory state. *Circulation* 110:1564–1571
129. Mery CM, Rubio V, Duarte-Rojo A, Suazo-Barahona J, Peláez-Luna M, Milke P, Robles-Díaz G (2002) Android fat distribution as predictor of severity in acute pancreatitis. *Pancreatology* 2:543–549
130. Fain JN, Madan AK, Hiler ML, Cheema P, Bahouth SW (2004) Comparison of the release of adipokines by adipose tissue, adipose tissue matrix, and adipocytes from visceral and subcutaneous abdominal adipose tissues of obese humans. *Endocrinology* 145:2273–2282
131. P S, J R (2011) Peroxisome Proliferator-Activated Receptors (PPARs) in Dermatology: Challenge and Promise. *Dermatoendocrinol.* <https://doi.org/10.4161/DERM.3.3.15025>
132. Feige JN, Gelman L, Michalik L, Desvergne B, Wahli W (2006) From molecular action to physiological outputs: Peroxisome proliferator-activated receptors are nuclear receptors at the crossroads of key cellular functions. *Prog Lipid Res* 45:120–159
133. Cabrero À, Cubero M, Llaverías G, Alegret M, Sánchez R, Laguna JC, Vázquez-Carrera M (2005) Leptin down-regulates peroxisome proliferator-activated receptor γ (PPAR γ) mRNA levels in primary human monocyte-

- derived macrophages. *Mol Cell Biochem* 275:173–179
134. Phillips SA, Kung JT (2010) Mechanisms of adiponectin regulation and use as a pharmacological target. *Curr Opin Pharmacol* 10:676–683
 135. Sharma AM, Staels B (2007) Review: Peroxisome proliferator-activated receptor γ and adipose tissue - Understanding obesity-related changes in regulation of lipid and glucose metabolism. *J Clin Endocrinol Metab* 92:386–395
 136. Heikkinen S, Auwerx J, Argmann CA (2007) PPAR γ in human and mouse physiology. *Biochim Biophys Acta - Mol Cell Biol Lipids* 1771:999–1013
 137. Clar C, Royle P, Waugh N (2009) Adding pioglitazone to insulin containing regimens in type 2 diabetes: Systematic review and meta-analysis. *PLoS One*. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0006112>
 138. Guan Y (2004) Peroxisome proliferator-activated receptor family and its relationship to renal complications of the metabolic syndrome. *J Am Soc Nephrol* 15:2801–2815
 139. Nunn AVW, Bell J, Barter P (2007) The integration of lipid-sensing and anti-inflammatory effects: How the PPARs play a role in metabolic balance. *Nucl Recept*. <https://doi.org/10.1186/1478-1336-5-1>
 140. Bell-Parikh LC, Ide T, Lawson JA, McNamara P, Reilly M, FitzGerald GA (2003) Biosynthesis of 15-deoxy- Δ 12,14-PGJ2 and the ligation of PPAR γ . *J Clin Invest* 112:945–955
 141. Wang T, Xu J, Yu X, Yang R, Han ZC (2006) Peroxisome proliferator-activated receptor γ in malignant diseases. *Crit Rev Oncol Hematol* 58:1–14
 142. WD R, CJ M, CA M (2008) The Roles of PPARs in the Fetal Origins of Metabolic Health and Disease. *PPAR Res*. <https://doi.org/10.1155/2008/459030>

143. Semple RK, Chatterjee VKK, O’Rahilly S (2006) PPAR γ and human metabolic disease. *J Clin Invest* 116:581–589
144. Desvergne B, Michalik L, Wahli W (2006) Transcriptional regulation of metabolism. *Physiol Rev* 86:465–514
145. Anghel SI, Bedu E, Vivier CD, Descombes P, Desvergne B, Wahli W (2007) Adipose tissue integrity as a prerequisite for systemic energy balance: A critical role for peroxisome proliferator-activated receptor γ . *J Biol Chem* 282:29946–29957
146. Gastaldelli A, Miyazaki Y, Mahankali A, Berria R, Pettiti M, Buzzigoli E, Ferrannini E, DeFronzo RA (2006) The effect of pioglitazone on the liver: Role of adiponectin. *Diabetes Care* 29:2275–2281
147. S K (2008) Peroxisome Proliferator Activated Receptors and Lipoprotein Metabolism. *PPAR Res.* <https://doi.org/10.1155/2008/132960>
148. Tsai CL, Pan CY, Chen FC, Huang TH, Tsai MC, Chuang CY (2019) Differences in neurocognitive performance and metabolic and inflammatory indices in male adults with obesity as a function of regular exercise. *Exp Physiol* 104:1650–1660
149. L Y, Y L, C D, W Z, H Z, Y Y, A S, X S, Z F (2019) Pattern Recognition Receptor-Mediated Chronic Inflammation in the Development and Progression of Obesity-Related Metabolic Diseases. *Mediators Inflamm.* <https://doi.org/10.1155/2019/5271295>
150. Sánchez-Tapia M, Tovar AR, Torres N (2019) Diet as Regulator of Gut Microbiota and its Role in Health and Disease. *Arch Med Res* 50:259–268
151. Vishvanath L, Gupta RK (2019) Contribution of adipogenesis to healthy adipose tissue expansion in obesity. *J Clin Invest* 129:4022–4031
152. Kostadinova R, Wahli W, Michalik L (2005) PPARs in Diseases: Control

- Mechanisms of Inflammation. *Curr Med Chem* 12:2995–3009
153. Széles L, Töröcsik D, Nagy L (2007) PPAR γ in immunity and inflammation: cell types and diseases. *Biochim Biophys Acta - Mol Cell Biol Lipids* 1771:1014–1030
 154. Szanto A, Roszer T (2008) Nuclear receptors in macrophages: A link between metabolism and inflammation. *FEBS Lett* 582:106–116
 155. SZ D, CY I, MG U, RM M (2008) PPAR-gamma in the Cardiovascular System. *PPAR Res.* <https://doi.org/10.1155/2008/745804>
 156. Dongiovanni P, Lanti C, Riso P, Valenti L (2016) Nutritional therapy for nonalcoholic fatty liver disease. *J Nutr Biochem* 29:1–11
 157. Panickar KS (2013) Effects of dietary polyphenols on neuroregulatory factors and pathways that mediate food intake and energy regulation in obesity. *Mol Nutr Food Res* 57:34–47
 158. Kakkar AK, Dahiya N (2015) Drug treatment of obesity: current status and future prospects. *Eur J Intern Med* 26:89–94
 159. Cao H, Ou J, Chen L, Zhang Y, Szkudelski T, Delmas D, Daglia M, Xiao J (2019) Dietary polyphenols and type 2 diabetes: Human Study and Clinical Trial. *Crit Rev Food Sci Nutr* 59:3371–3379
 160. Kim YA, Keogh JB, Clifton PM (2016) Polyphenols and glycémie control. *Nutrients.* <https://doi.org/10.3390/nu8010017>
 161. Jasmin, Jaitak V (2018) A Review on Molecular Mechanism of Flavonoids as Antidiabetic Agents. *Mini-Reviews Med Chem* 19:762–786
 162. Rasines-Perea Z, Teissedre PL (2017) Grape Polyphenols' effects in human cardiovascular diseases and diabetes. *Molecules.* <https://doi.org/10.3390/molecules22010068>

163. А. Л. Загайко, Л. М. Вороніна КВС (2007) Метаболічний синдром: механізми розвитку та перспективи антиоксидантної терапії: Монографія. Харків Вид-во НфаУ Золоті сторінки 216 с.
164. LJ Y (2014) Pathogenesis of Chronic Hyperglycemia: From Reductive Stress to Oxidative Stress. *J Diabetes Res*. <https://doi.org/10.1155/2014/137919>
165. Matafome P, Rodrigues T, Sena C, Seiça R (2017) Methylglyoxal in Metabolic Disorders: Facts, Myths, and Promises. *Med Res Rev* 37:368–403
166. Ye J (2013) Mechanisms of insulin resistance in obesity. *Front Med China* 7:14–24
167. Филимоненко В.П., Загайко А.Л., Кочубей Ю.І. КОА (2017) Порівняльне дослідження впливу різних поліфенолів на порушення обміну глюкози в умовах інсулінорезистентності. *Україна Здоров'я Нації* С. 107-110
168. Hossain MK, Dayem AA, Han J, Yin Y, Kim K, Saha SK, Yang GM, Choi HY, Cho SG (2016) Molecular mechanisms of the anti-obesity and anti-diabetic properties of flavonoids. *Int J Mol Sci*. <https://doi.org/10.3390/ijms17040569>
169. Vazquez Prieto MA, Bettaieb A, Rodriguez Lanzi C, Soto VC, Perdicaro DJ, Galmarini CR, Haj FG, Miatello RM, Oteiza PI (2015) Catechin and quercetin attenuate adipose inflammation in fructose-fed rats and 3T3-L1 adipocytes. *Mol Nutr Food Res* 59:622–633
170. Legeay S, Rodier M, Fillon L, Faure S, Clere N (2015) Epigallocatechin gallate: A review of its beneficial properties to prevent metabolic syndrome. *Nutrients* 7:5443–5468
171. Doan K V., Ko CM, Kinyua AW, et al (2015) Gallic acid regulates body weight and glucose homeostasis through AMPK activation. *Endocrinology* 156:157–168

172. Slominski A, Tobin DJ, Shibahara S, Wortsman J (2004) Melanin pigmentation in mammalian skin and its hormonal regulation. *Physiol Rev* 84:1155–1228
173. Панасенко Т.О. НКС (2012) Застосування меланіну як стрес протектора півкуль головного мозку щурів в залежності від стресостійкості тварин. *Таврический медико – биологический вестник том 15, №:С. 251 – 253*
174. Meredith P, Sarna T (2006) The physical and chemical properties of eumelanin. *Pigment Cell Res* 19:572–594
175. Mackintosh JA (2001) The antimicrobial properties of melanocytes, melanosomes and melanin and the evolution of black skin. *J Theor Biol* 211:101–113
176. Моссэ И.Б., Жаворонков Л.П., Молофей В.П. ИОС (2005) Разработка на основе меланина средства профилактики генетических и онтогенетических последствий облучения. *Вестник ВОГиС Том 9:С 527 – 532*
177. McDonald SD (2007) Management and prevention of obesity in adults and children. *CMAJ* 176:1109–1110
178. Zaręba M, Bober A, Korytowski W, Zecca L, Sarna T (1995) The effect of a synthetic neuromelanin on yield of free hydroxyl radicals generated in model systems. *BBA - Mol Basis Dis* 1271:343–348
179. Резніков О.Г. Полумбрик О.М. Бальон О.Г. (2014) Про та антиоксидантна система і патологічні процеси в організмі людини. *Вісн НАН України С. 17 – 29*
180. Nosanchuk JD, Casadevall A (2003) The contribution of melanin to microbial pathogenesis. *Cell Microbiol* 5:203–223
181. Savini I, Catani MV, Evangelista D, Gasperi V, Avigliano L (2013) Obesity-

- associated oxidative stress: Strategies finalized to improve redox state. *Int J Mol Sci* 14:10497–10538
182. Farooqi IS (2011) Genetic, molecular and physiological insights into human obesity. *Eur J Clin Invest* 41:451–455
183. Bondia-Pons I, Ryan L, Martinez JA (2012) Oxidative stress and inflammation interactions in human obesity. *J Physiol Biochem* 68:701–711
184. Serra D, Mera P, Malandrino MI, Mir JF, Herrero L (2013) Mitochondrial fatty acid oxidation in obesity. *Antioxidants Redox Signal* 19:269–284
185. Д.Ю МВИБ (2001) Этическая оценка методик проведения исследований. *Еженедельник Аптека* 34:35
186. Crowther JR (2009) *The ELISA Guidebook. Second Edition.* Humana Press, Vienna
187. Г. Г (1999) *Медико-биологическая статистика.* М.: Практика
188. Zielinska-Blizniewska H, Sitarek P, Merecz-Sadowska A, Malinowska K, Zajdel K, Jablonska M, Sliwinski T, Zajdel R (2019) Plant extracts and reactive oxygen species as two counteracting agents with anti- and pro-obesity properties. *Int J Mol Sci.* <https://doi.org/10.3390/ijms20184556>
189. Mao L, Hochstetter D, Yao L, Zhao Y, Zhou J, Wang Y, Xu P (2019) Green tea polyphenol (–)-epigallocatechin gallate (EGCG) attenuates neuroinflammation in palmitic acid-stimulated BV-2 microglia and high-fat diet-induced obese mice. *Int J Mol Sci.* <https://doi.org/10.3390/ijms20205081>
190. Біловол О.М., Ковальова О.М., Попова С.С. *ТОБ (2009) Ожиріння в практиці кардіолога та ендокринолога.* Тернопіль ТДМУ “Укрмедкнига” 620 с.
191. Аметов А.С., Демидова Т.Ю. *ЦАЛ (2001) Ожирение и сердечно-сосудистые заболевания.* *Тер архив* 69–72

192. Finucane FM, Luan J, Wareham NJ, et al (2009) Correlation of the leptin: Adiponectin ratio with measures of insulin resistance in non-diabetic individuals. *Diabetologia* 52:2345–2349
193. Labruna G, Pasanisi F, Nardelli C, Caso R, Vitale DF, Contaldo F, Sacchetti L (2011) High leptin/adiponectin ratio and serum triglycerides are associated with an at-risk phenotype in young severely obese patients. *Obesity* 19:1492–1496
194. Ikejima K, Okumura K, Lang T, Honda H, Abe W, Yamashina S, Enomoto N, Takei Y, Sato N (2005) The role of leptin in progression of non-alcoholic fatty liver disease. *Hepatol Res* 33:151–154
195. Tsoukas MA, Farr OM, Mantzoros CS (2015) Leptin in congenital and HIV-associated lipodystrophy. *Metabolism* 64:47–59
196. Pajvani UB, Du X, Combs TP, Berg AH, Rajala MW, Schulthess T, Engel J, Brownlee M, Scherer PE (2003) Structure-function studies of the adipocyte-secreted hormone Acrp30/adiponectin: Implications for metabolic regulation and bioactivity. *J Biol Chem* 278:9073–9085
197. Bobbert T, Rochlitz H, Wegewitz U, Akpulat S, Mai K, Weickert MO, Möhlig M, Pfeiffer AFH, Spranger J (2005) Changes of adiponectin oligomer composition by moderate weight reduction. *Diabetes* 54:2712–2719
198. Hotta K, Funahashi T, Bodkin NL, Ortmeyer HK, Arita Y, Hansen BC, Matsuzawa Y (2001) Circulating concentrations of the adipocyte protein adiponectin are decreased in parallel with reduced insulin sensitivity during the progression to type 2 diabetes in rhesus monkeys. *Diabetes* 50:1126–1133
199. Berg AH, Combs TP, Scherer PE (2002) ACRP30/adiponectin: An adipokine regulating glucose and lipid metabolism. *Trends Endocrinol Metab* 13:84–89
200. Maeda N, Takahashi M, Funahashi T, et al (2001) PPAR γ Ligands Increase

- Expression and Plasma Concentrations of Adiponectin, an Adipose-Derived Protein. *Diabetes* 50:2094–2099
201. Nawrocki AR, Rajala MW, Tomas E, et al (2006) Mice lacking adiponectin show decreased hepatic insulin sensitivity and reduced responsiveness to peroxisome proliferator-activated receptor γ agonists. *J Biol Chem* 281:2654–2660
 202. Shklyayev S, Aslanidi G, Tennant M, et al (2003) Sustained peripheral expression of transgene adiponectin offsets the development of diet-induced obesity in rats. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100:14217–14222
 203. Ng TWK, Watts GF, Farvid MS, Chan DC, Barrett PHR (2005) Adipocytokines and VLDL metabolism: Independent regulatory effects of adiponectin, insulin resistance, and fat compartments on VLDL apolipoprotein B-100 kinetics? *Diabetes* 54:795–802
 204. Kobayashi H, Ouchi N, Kihara S, Walsh K, Kumada M, Abe Y, Funahashi T, Matsuzawa Y (2004) Selective suppression of endothelial cell apoptosis by the high molecular weight form of adiponectin. *Circ Res.* <https://doi.org/10.1161/01.res.0000119921.86460.37>
 205. Wolf AM, Wolf D, Rumpold H, Enrich B, Tilg H (2004) Adiponectin induces the anti-inflammatory cytokines IL-10 and IL-1RA in human leukocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 323:630–635
 206. Ouchi N, Kihara S, Funahashi T, Matsuzawa Y, Walsh K (2003) Obesity, adiponectin and vascular inflammatory disease. *Curr Opin Lipidol* 14:561–566
 207. Okamoto Y, Kihara S, Ouchi N, et al (2002) Adiponectin reduces atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice. *Circulation* 106:2767–2770
 208. Соодаева С.К. (2013) Свободнорадикальные механизмы повреждения при болезнях органов дыхания. *Пульмонология* 5-10.

209. Pizzi WJ, Barnhart JE, Fanslow DJ (1977) Monosodium glutamate administration to the newborn reduces reproductive ability in female and male mice. *Science* (80-) 4288:452–454
210. Redding TW, Schally A V., Arimura A, Wakabayashi I (1971) Effect of monosodium glutamate on some endocrine functions. *Neuroendocrinology* 8:245–255
211. Kondro M, Kobylak N, Virchenko O, Falalyeyeva T, Beregova T, Bodnar P (2014) Multiprobiotic therapy from childhood prevents the development of nonalcoholic fatty liver disease in adult monosodium glutamate-induced obese rats. *Curr Issues Pharm Med Sci*. <https://doi.org/10.1515/cipms-2015-0025>
212. Konopelniuk V, Falalyeyeva T, Tsyryuk O, et al (2018) The correction of the metabolic parameters of msg-induced obesity in rats by 2-[4-(benzyloxy) phenoxy] acetic acid. *J Nutr Intermed Metab*. <https://doi.org/10.1016/j.jnim.2018.07.002>
213. Konopelniuk V, Falalyeyeva T, Tsyryuk O, et al (2018) The effects of Z56822977 on biosynthesis of serotonin in the brain of rats in the conditions of MSG-induced obesity. *Endokrynol Pol*. <https://doi.org/10.5603/EP.2018.0058>
214. Savchenyuk OA, Virchenko OV, Falalyeyeva TM, Beregova TV, Babenko LP, Lazarenko LM, Spivak MY (2015) Effect of probiotic therapy on the experimental obesity development in rats caused by monosodium glutamate. *Int J Physiol Pathophysiol*. <https://doi.org/10.1615/IntJPhysPathophys.v6.i2.40>
215. Oida K, Nakai T, Hayashi T, Miyabo S TR (1984) Plasma lipoproteins of monosodium glutamate-induced obese rats. *Int J Obes* 8(5):385–391
216. Nakagawa T, Ukai K, Ohyama T, Gomita Y, Okamura H (2000) Effects of Chronic Administration of Sibutramine on Body Weight, Food Intake and

- Motor Activity in Neonatally Monosodium Glutamate-Treated Obese Female Rats: Relationship of Antiobesity Effect with Monoamines. *Exp Anim* 49:239–249
217. Picó C, Serra F, Rodríguez AM, Keijer J, Palou A (2019) Biomarkers of nutrition and health: New tools for new approaches. *Nutrients*. <https://doi.org/10.3390/nu11051092>
218. Lichtenstein AH, Appel LJ, Brands M, et al (2006) Diet and lifestyle recommendations revision 2006: A scientific statement from the American heart association nutrition committee. *Circulation* 114:82–96
219. Eilat-Adar S, Sinai T, Yosefy C, Henkin Y (2013) Nutritional recommendations for cardiovascular disease prevention. *Nutrients* 5:3646–3683
220. Khlamanova LI, Severylova MD, Tkachenko Y V. (2018) An Overview of Structure and Functions of Adipose Tissue in the Normal State and in Pathologies. *Ukraïns'kij žurnal Med biologiï ta Sport* 3:254–260
221. Кобиляк Н.М., Кондро М.М., Вірченко О.В. ФТМ (2013) Патолофізіологічна роль лептину у розвитку ожиріння та супутніх захворювань. *Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія* 55–63

Список публікацій здобувача

1. Белемець Н., Фалалєєва Т., Берегова Т., Остапченко Л., Кобиляк Н., Курик О., Сулаєва О. Морфогенез підшлункової залози за умов глутамат-індукованого ожиріння: механізми корегуючої дії меланіну // Вісник Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Серія: Біологія. – 2018. – 2(76). – С. 62-65 [1].
2. Belemets N. Histopathological analysis of liver tissue in monosodium glutamate-induced obese rats / N. Belemets, N. Kobyliak, O. Tsyryuk, O. Kuryk, T. Falalyeyeva // Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. – 2016.- 7 (6). – P. 1823-1828. (Scopus) [2].
3. Belemets N. Prevention of NAFLD development in rats with obesity via the improvement of pro/antioxidant state by cerium dioxide nanoparticles / N. Kobyliak, L. Abenavoli, T. Falalyeyeva, O. Virchenko, N. Belemets, T. Beregova, P. Bodnar, M. Spivak // Clujul Medical. – 2016. – Vol. 89, №2. – p. 433-439. (Scopus) [3].
4. Belemets N. Effects of polyphenol compounds melanin on NAFLD/NASH prevention / Belemets N., Kobyliak N., Virchenko O., Falalyeyeva T., Tsyryuk O., Bodnar P., Savchuk O., Galenova T., Caprnda M., Rodrigo L., Skladany L., Delev D., Opatrilova R., Kruzliak P., Beregova T., Ostapchenko L. Biomedicine and Pharmacotherapy. - (2017). – V. 88. - P. 267-276. (Scopus) [4].
5. Belemets N. / N. Belemets, N. Kobyliak, T. Falalyeyeva, O. Kuryk, O. Sulaieva, T. Vovk, T. Beregova, L. Ostapchenko // Natural product communications. – 2018. – Vol. 13(11). – P. 1485-1488 (Scopus) [5].
6. Фалалєєва Т.М., Белемець Н.І., Курик О.Г., Савчук О.М., Берегова Т.В. Морфо-функціональний стан підшлункової залози за умов експериментального ожиріння // Тези доповідей VIII Міжнародна наукова конференція «Психофізіологічні та вісцеральні функції в нормі і патології»,

присвячена 175-річчю кафедри фізіології та анатомії людини та тварин Київського національного університету імені Тараса Шевченка (Київ 17-20 жовтня 2017). – 2017. – С. 28 [6].

7. Белемець Н.І., Харченко О.І., Костюк О.С., Курик О.Г., Фалалєєва Т.М. Морфологічна характеристика печінки щурів за умов експериментального вісцерального ожиріння // Тези за матеріалами Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю «Креативні напрямки в діагностиці, патогенезі, лікуванні та профілактиці внутрішніх хвороб» (29-30 вересня 2016 р. м. Запоріжжя), 2016. – С. 7 [7].

8. Falalyeyeva T., Belemets N., Kobyliak N., Vodnar P., Beregova T., Ostapchenko L. The opportunities of polyphenols: prevention of the development of experimental obesity // European Journal of Clinical Investigation. – 2016. – Vol. 46, Suppl. 1. – P. 34. (IF=2,734) – 50th Annual Scientific Meeting of the European Societi for Clinical Investigation (27-29 April 2016, Paris) [8].

9. Belemets N., Falalyeyeva T., Kuryk O., Sulaieva O., L. Abenavoli, Beregova T., Ostapchenko L. Anty-inflammatory mechanism of melanin by the expression of TNF- α , NF-KB in rat liver with NAFLD/NASH // Матеріали Міжнародної науково-практичної конференції “Біологічні, медичні та науково-педагогічні аспекти здоров’я людини» (4-5 жовтня 2018 року, м. Полтава). – С. 15 [9].

10. Belemets N., Falalyeyeva T., Kuryk O., Sulaieva O., Beregova T., Ostapchenko L. Anty-inflammatory effect of polyphenol compounds melanin in rats with MSG-induced obesity and associated development of NAFLD/NASH // Smart Lion 2018, 2nd Symposium Innovation in Medicine (11-13 October 2018, Lviv, Ukraine). – P.52 [10].