Міністерство освіти і науки України
Київський національний університет імені Тараса Шевченка

БЕЛЕМЕЦЬ НАТАЛІЯ ІВАНІВНА

УДК 616. 34-008.87.613.25

МОРФО-ФУНКЦІОНАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ОРГАНІВ ТРАВЛЕННЯ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ГЛУТАМАТ-ІНДУКОВАНОГО ОЖИРІННЯ

03.00.11 – цитологія, клітинна біологія, гістологія

Автореферат дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата біологічних наук

Київ – 2020

Дисертацією є рукопис
Робота виконана в НДЛ «Фармакології і експериментальної патології» ННЦ «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка МОН України

Науковий керівник: доктор медичних наук, професор
Курик Олена Георгіївна ,
Національний медичний університет
імені О.О. Богомольця,
професор кафедри патологічної анатомії № 1.

Офіційні опоненти: доктор біологічних наук, професор
Квітницька-Рижова Тетяна Юріївна,
ДУ «Інститут геронтології ім. Д.Ф. Чеботарьова» НАМН України, завідувач лабораторії морфології і цитології;

доктор медичних наук, професор
Пастухова Вікторія Анатоліївна,
Національний університет фізичного виховання і спорту України, завідувач кафедри медико-біологічних дисциплін.

Захист відбудеться “2” грудня 2020 року о 14^{00} годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26.001.38 Київського національного університету імені Тараса Шевченка за адресою: м. Київ, проспект Академіка Глушкова, 2, ННЦ «Інститут біології та медицини», ауд. 434.

Поштова адреса: 01601, м. Київ, вул. Володимирська, 64/13, Київський національний університет імені Тараса Шевченка, ННЦ «Інститут біології та медицини», спеціалізована вчена рада Д 26.001.38.

З дисертацією можна ознайомитись у Науковій бібліотеці ім. М. Максимовича Київського національного університету імені Тараса Шевченка за адресою: 01601, м.Київ, вул. Володимирська, 58, зала 12.

Автореферат розісланий «2» листопада 2020 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради Д 26.001.38,

доктор біологічних наук К.О. Дворщенко

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Обмін речовин є одним з найважливіших процесів підтримання життєдіяльності організму. Захворювання, пов’язані з порушеннями обміну речовин, такі як діабет та ожиріння стали надзвичайно поширеними (Flier J.S., 2004; Yusuf S et al., 2005; Вейн А.М., Вознесенська Т.Г., 2000). У 21 сторіччі ВООЗ визнала ожиріння глобальною епідемією і взяла його під свій контроль (Pasco J. A. et al., 2012; Visscher T.L. et al., 2001; World Health Organization, 2000, 2011, 2019; Peeters A et al., 2003). Ожиріння називають неінфекційною епідемією сьогодення: захворювання, що асоційовані з ожирінням щорічно забирають до трьох мільйонів життів жителів планети. Вперше в історії людства від хвороб, пов'язаних із зайвою вагою, вмирає більше людей, ніж від голоду. У 2019 році наша планета отримала новий виклик, а саме пандемію вірусного характеру COVID-19. Виявилося, 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 (Gheblawi M. et al., 2020; Al Heialy S. et al., 2020; Touyz R.M. et al., 2020; Iacobellis G. et al., 2020).

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 (Пономарьов П.Х., 2009; Swinburn B et al., 2005). Насамперед ожиріння призводить до патологічних змін в органах травної системи, а саме до виникнення неалкогольної жирової хвороби печінки (НАЖХП) та жирової інфільтрації підшлункової залози (Скрипник Н.В. та ін., 2012), 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 (Page S., 2011). Цей пігмент, як відомо, має антиоксидантні та протизапальні властивості.

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* Х-1) володіє наступними властивостями: стреспротекторною, антиоксидантною, протизапальною, гіпосекреторною, антивиразковою, антибактеріальною, дерматотропною та антиканцерогенною дією (Вірченко О.В. та ін., 2013; Чижанська Н.В. та ін., 2008;

Голишкін Д.В. та ін., 2018; Табурець та ін., 2017; Яковлев П.Г., 2019; Вороніна О.К., 2010, 2011). Також останніми дослідженнями було показано, що меланін запобігає експериментальному ожирінню на моделі з висококалорійною дієтою (Кондро М.М., 2019) та моделі прогестерон-індукованого ожиріння (Александров А.В., 2019). Проте, на сьогодні не було проведено досліджень на моделі вісцерального ожиріння, викликаного неонатальним введенням глутамату натрію, хоча ця модель відтворює клінічну картину вісцерального ожиріння при цукровому діабеті 2-типу (Kobyliak N. et al., 2016, 2017).

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 глутамат-індукованого ожиріння та введення меланіну у щурів.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконана в рамках наукових тем Відділення біологічних та біомедичних технологій НДЛ «Фармакології і експериментальної патології» ННЦ «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка на замовлення Держінформнауки ДУ «Національний антарктичний науковий центр» Міністерства освіти і науки України №Н/6-2012 (12ДФ036-08) від 01 серпня 2012 р. «Визначення механізму профілактично-лікувальної дії біологічно активних речовин, виділених з антарктичних організмів» (державний реєстраційний номер 0112U004870).

Мета і завдання дослідження. Метою роботи було вивчення морфо-функціонального стану печінки та підшлункової залози за умов експериментального глутамат-індукованого ожиріння та введення меланіну.

Для виконання даної мети були поставлені наступні завдання:

1) Змоделювати експериментальне вісцеральне ожиріння гіпоталамічного ґенезу на щурах, шляхом неонатального введення глутамату натрію.

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

3) Дослідження параметрів тіла, рівня адипоцитокинів 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)-1β, ІЛ 12В р40) на тлі збільшення концентрації антизапальних цитокінів (ІЛ-10, ФРП-β).

Показано, що ожиріння, спричинене введенням глутамату 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 NF-κB, яке було асоційоване з виразністю лобулярного та перипортального запалення і експресією TNFalpha. В підшлунковій залозі спостерігалася гіперплазія інсулярного апарату, асоційована з макрофагальною інфільтрацією і підвищенням експресії COX-2. Введення меланіну запобігало порушенню морфогенезу печінки та підшлункової залози у тварин з глутамат-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 глутамат 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 Societi 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 та списку використаних літературних джерел. Робота викладена на 169 сторінках друкованого тексту, ілюстрована 73 рисунками та 3 таблицями. Перелік використаних літературних джерел складається з 226 найменувань.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріали та методи досліджень

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". Прилади, що використовувалися для наукових досліджень, підлягали метрологічному контролю.

Дослідження були проведені за такою схемою: I група ─ контрольні щури (n=30); II група ─ щури, яким вводили глутамат натрію (n=30); III група - щури, яким вводили глутамат натрію та меланін (n=30).

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 глутамат 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 в якості корекції 1 мг/кг водного розчину меланіну (внутрішньошлунково, в/ш). Введення починали через 4 тижні після народження та продовжували двотижневими курсами з перервами у 2 тижні. Група №2 відповідно отримувала 2,5 мл/кг води (в/ш). За добу до проведення експерименту тварини підлягали харчовій депривації з вільним доступом до води. Прилади, які були використані для наукових досліджень, підлягали метрологічному контролю.

В роботі було використано природній 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, забирали 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 ($см^2$)) та індекс Лі (відношення кубічного корення маси тіла (г) щурів до довжини тіла у сантиметрах).

Методи гістологічного дослідження. Кров відстоювали не менше 30 хв при температурі 38°С і центрифугували 10 хв при 1000g, після чого здійснювали відбір сироватки крові. Визначали в сироватці крові щурів вміст прозапальних цитокінів (IL-1β (А), IL-12B p40 (Б), INF- γ (В)) та антизапальних цитокінів (IL-4 (А), IL-10 (Б), TGF-β (В)) методом імуноферментного аналізу (ІФА).

Імуноферментний аналіз проводили у мікропланшетах із сорбційною здатністю за стандартною методикою для розчинних білків (Crowther J.R., 2009). ІФА метод також використовували для визначення рівня адипонектину в сироватці крові та лептину в вісцеральному жирі за допомогою комерційних наборів «BioVendor» (Чехія).

Методи гістологічного дослідження. Після вилучення печінки та підшлункової залози, вирізали шматочки розміром до 1 см, зрізи тканин фіксували у 10 % розчині нейтрального формаліну. Для проводки після фіксації матеріалу використовували гістопроцесор 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 ШИК реакцію та забарвлення на ретикулінові волокна, а також забарвлення суданом III для виявлення жиру. Гістологічні препарати аналізували при збільшенні мікроскопа у 100, 200, 400 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- kβ ,TNF – alpha, 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 неалкогольної жирової хвороби печінки (НАЖХП) за загальновизнаними гістопатологічними критеріями: стеатоз, лобулярне запалення та балонна дегенерація гепатоцитів. Гістологічні зміни оцінювали за 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 вважалося 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 ступеню 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-kB (провідний майстер-регулятор прозапальної активації клітин) та TNF-alpha (прозапальний цитокін). Імуногістохімічне забарвлення проводили відповідно до стандратного протоколу.

Просторове розповсюдження експресії NF-kB 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 TNFalpha оцінювали як слабку (1+), помірну (2+) та сильну (3+). Загальну виразність експресії NF-κB та TNFalpha 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 гематоксиліном та еозином. При загально морфологічному дослідженні оцінювали паренхіму (екзокринну частину, представлену ацинусами, та ендокринні острівці) 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 строми та судин мікроциркуляторного русла навколо. В перегородках сполучної тканини між часточками визначали міжчасточкові протоки. Оцінювали епітелій, що їх вистиляє, стан перидуктальної строми.

Для оцінки наявності та вираженості запальних змін на тлі експериментального ожиріння враховували виразність лейкоцитарної інфільтрації строми у внутрішньочасточковому та міжчасточковому компартменті. З метою візуалізації макрофагів, проводили імуногістохімічне дослідження з використанням моноклональних антитіл до CD68 (клон оцінкою кількості і розподілу CD68 позитивних клітин. Крім того, оцінювали експресію таких відомих маркерів запалення як NF-kB і циклооксигеназа 2 (COX2), а також експресію TNF-alpha імуногістохімічно за стандартним протоколом. Підрахували відсоток імунопозитивних клітин в різних компартментах ПЗ. Інтенсивність імунопозитивних клітин оцінювали напівкількисним методом як слабку (1+), помірну (2+) або виражену (3+).

Статистична обробка результатів. Статистична обробка даних здійснювалася у пакеті програм “Statistica 8.0”. Для аналізу виду розподілу даних був використаний W критерій Шапіро-Уілка. Для статистичної обробки параметричних даних був використаний критерій Левана, для оцінки рівності дисперсій, і t-критерій Стьюдента для незалежних вибірок. Розраховували середнє значення (M) і стандартну похибку середнього (m). Значущими вважали відмінності при $p \leq 0,05$ (Гланц С., 1999).

Результати досліджень та їх обговорення

Моделювання експериментального вісцерального ожиріння гіпоталамічного ґенезу на щурах, шляхом неонатального введення глутамату натрію та введення меланіну. Встановлено, що у 4-х місячних щурів-самців середня маса тіла становила 284,2±8,65 г, маса вісцерального жиру

– 2,42±0,22 г. Введення глутамату натрію в неонатальному періоді (на 2,4,5,6,8,10 день життя підшкірно в об'ємі 8 мкл/г вводили розчин глутамату натрію (3М, 4 мг/г)) призводило до розвитку вісцерального ожиріння у 4-х місячних щурів. Так, спостерігалося незначне збільшення маси тіла щурів до 316,1±9,7 г або на 11,2% ($p<0,05$). Проте, не дивлячись на не значні зміни в показниках маси тіла щурів, маса вісцеральної жирової тканини у щурів з глутамат-індукованим ожирінням була збільшена в 7,3 рази ($p<0,001$) у порівнянні з інтактним щурам та становила 17,8±1,7 г. Вказані зміни параметрів тіла пов'язані зі зменшенням довжини тіла щурів з 24,2±0,3 до 21,6±0,3 см, або 16,0 % ($p<0,01$) (рис.1). Індекс маси тіла та індекс Лі були збільшені відповідно на 39,0% ($p<0.001$) та на 16,0% ($p<0,001$).

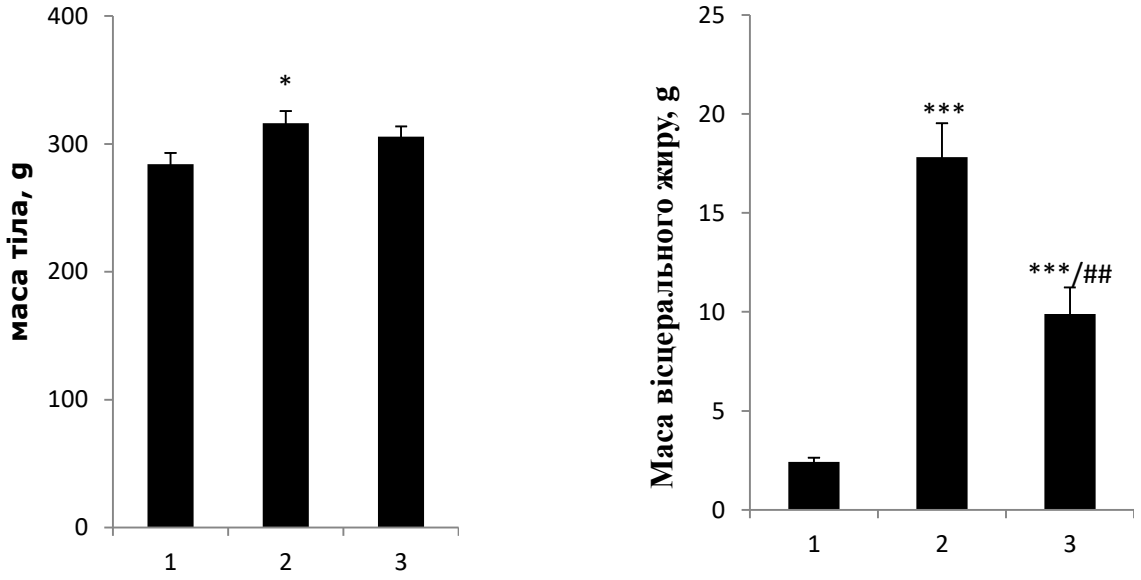

Рис. 1. Маса тіла та вісцерального жиру за умов експериментального вісцерального ожиріння та корекції меланіном (1 мг/кг, внутрішньоочеревинно): 1 - контроль (4-х місячні щурі); 2 – глутамат натрію; 3 - глутамат натрію + меланін.

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

При дослідженні вісцерального жиру встановлено, що клітини мають у своєму складі гігантські вакуолі з жиром, на відміну від підшкірного жиру, де при дії глутамату натрію збільшується саме кількісний склад адипоцитів, а не якісний. Встановлено, що за умов глутамат-індукованого ожиріння у жировій тканині щурів вірогідно підвищився рівень лептину на 61,1% ($p<0,01$) порівняно з контролем. За цих умов у сироватці крові щурів вірогідно знижується на 59,6% ($p<0,01$) рівень адипонектину порівняно із щурами, яким не моделювали глутамат-індуковане ожиріння.

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 (Bondia-Pons I. et al., 2012). Виявлено підвищення вмісту прозапальних цитокінів IL-1 та IL-12B p40 у сироватці крові 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. Навпаки, ми не виявили різниці в рівні INF-ɣ між ожирінням та контрольними щурами.

За умов вісцерального ожиріння показники 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. Таким чином, імуноферментний аналіз показав інтенсифікацію запальних процесів в умовах ожиріння, викликаного глутаматом натрію.

Разом вказані зміни свідчать про розвиток вісцерального ожиріння в цій групі тварин.

Введення меланіну не викликало значимих змін у показнику маси тіла щурів (305,6±8,11 г, $p>0,05$), проте маса вісцеральної жирової тканини у щурів була зменшена на 55% ($p<0,01$) у порівнянні з щурами з глутамат-індукованим ожирінням (рис.1). Також, за умов введення меланіну спостерігали зменшення індексу маси тіла на 10% ($p<0,05$) та індексу Лі на 6,5% ($p<0,05$).

Меланін призводив 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 IL-10 на 26,7% ($p<0,05$) та TGF- β на 29,5% ($p<0,05$) порівняно з щурами з експериментальним ожирінням. Рівень IL-4 статистично значуще не змінювався. У щурів, яким вводили меланін, рівень прозапального IL-12B p40 був нижчим на 22,1% ($p<0,05$) порівняно з групою глутаматом натрію, а рівень IL-1 був відновлений до контрольних значень. Таким чином, отримані дані дозволяють заключити, що періодичне введення 2-х тижневими курсами меланіну щурам, яким в неонатальному періоді вводили глутамат натрію, попереджало розвиток вісцерального ожиріння у щурів.

Морфогенез печінки за умов глутамат-індукованого ожиріння: механізми коригуючої дії меланіну. 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 –визначалися ознаки запальної інфільтрації у сполучній тканині навколо тріад. Окрім запалення, було виявлено легкий перивенулярний та перисинусоїдальний фіброз, пов’язаний із портальним 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±0,17. Виразність стеатозу варіювала у різних тварин експериментальної групи, дорівнюючи в середньому 1,8±0,17. Окрім дрібнокраплинної жирової інфільтрації у ряді клітин виявлялися глибокі дистрофічні зміни у вигляді балонної дегенерації. Оцінюючи запальні та дистрофічні зміни в печінці експериментальних тварин, загальний показник НАСГ досяг 3,33±0,36 бали. 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 напряму була пов'язана з виразністю запальної інфільтрації строми навколо тріад. Схожим до просторової візуалізації CD68 позитивних клітин був розподіл клітин з ознаками експресії NF-kB і TNF-alpha. Оскільки макрофаги і клітини Купфера вважаються основним джерелом продукції TNF-alpha, отримані результати можуть продемонструвати роль прозапальної активації і продукції TNF-alpha у розвитку НАСГ. Крім того, помірна імунопозитивна реакція на TNF-alpha була виявлена в гепатоцитах у щурів з НАСГ. 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. Виразний стеатоз та пошкодження клітин супроводжувались ядерною експресією NF-kB в гепатоцитах.

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-κB можливо було асоційоване з виразністю лобулярного та перипортального запалення і експресією TNF-alpha.

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 (рис.2). Менш виразною була інфільтрація гепатоцитів ліпідами – лише незначна частка клітин печінки мала вакуолізацію, що протидіє ектопічному відкладенню 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.

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).

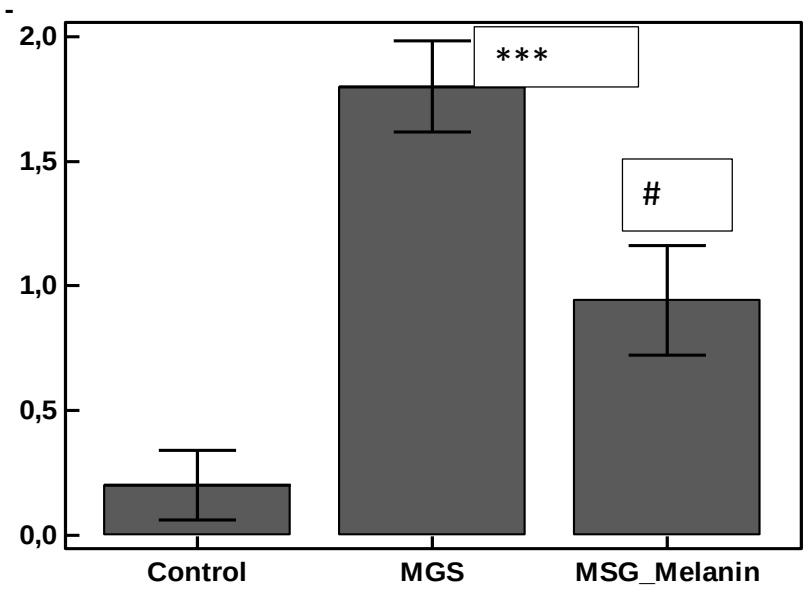

Рис.2. Ефект меланіну на показник стеатозу в печінці щурів з глутамат-індукованим ожирінням.
Примітка: По осі абсцис – групи тварин: MSG – тварини з глутамат-індукованим ожирінням. MSG+Melanin – тварини з глутамат-індукованим ожирінням які отримували корекцію меланіном. По осі ординат – виразність стеатозу, що оцінювалася за шкалою у балах. *** - p<0,001 щодо контролю, # - p<0,05 у порівнянні з групою глутамат натрію.

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-kB і TNF-alpha (Табл.1).

Таблиця 1

Вплив меланіну на експресію NF-kB та TNFalpha в печінці

Параметри	Контроль	Глутамат-індуковане ожиріння (MSG)	MSG + Меланін	p
Експресія TNF-alpha	0,19±0,09	3,49 ± 0,26	1,2 ± 0,13	p<0,001
Експресія NF-kB	0,810±0,12	7,19 ± 0,36	1,61 ± 0,1	p<0,001

Це визначило обмеження лімфогістіоцитарної інфільтрації в межах печінкових часточок та перипортальному просторі, результатом чого стало обмеження запальних та фібротичних змін, що сприяє пригніченню розвитку статогепатиту.

Морфогенез підшлункової залози за умов глутамат-індукованого ожиріння: механізми коригуючої дії меланіну. 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. Проведення імуногістохімічного дослідження виявило наявність між адипоцитами та в межах інфільтратів значної кількості прозапальних макрофагів, позитивних на маркер CD68, а також наявності виразної експресії COX-2, NF-kB і TNF-alpha.

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 сприяти новоутворенню 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 (Табл.2). Характерною 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 в середені часточок. Крім того, макрофаги визначалися в межах ендокринних острівців (2,8±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-kB. Експресія COX-2 виявлена у вигляді мозаїчної позитивної реакції в клітинах острівців. Крім того, в межах острівців було визначено позитивну реакцію щодо експресії NF-kB, яка виявлялася переважно в периваскулярній зоні та на периферії острівців. Таким чином, глутамат-індуковане ожиріння супроводжувалося розвитком гіперплазії інсулярного апарату ПШЗ і запальними змінами в екзокринній частині залози. Останнє було обумовлено збільшенням кількості макрофагів з активацією експресії COX-2 і NF-kB.

Введення меланіну запобігало патологічним змінам в підшлунковій залозі. Тварини, що отримували меланін, мали меншу питому частку ендокринних острівців у структурі залози (11±0,83% проти 21,6±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 морфо-метричного дослідження, даний показник зменшився майже вдвічі ($p<0,001$) (Табл.2). Це було обмовлене не тільки зменшенням абсолютної кількості острівцевих клітин й зменшенням щільності їх розташування при оцінюванні на одиницю площі острівця. По суті, ці дані свідчать про те, що призначення 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.

Таблиця 2

Характеристики ендокринних острівців у тварин різних груп

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

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

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

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-κB була асоційована з виразністю лобулярного та перипортального запалення і експресією TNF-alpha в печінці. Глутамат-індуковане ожиріння супроводжувалося розвитком гіперплазії інсулярного апарату підшлункової залози і запальними змінами в екзокринній частині залози. Спостерігалося збільшення кількості макрофагів з активацією експресії COX-2 і NF-kB.
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-kB.
4. Меланін запобігає розвитку вісцерального ожиріння, викликаного глутаматом 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 глутамат натрію. Досліджувана сполука зменшувала концентрацію в сироватці крові щурів прозапальних цитокінів (інтерлейкіну (ІЛ)-1β, ІЛ 12B p40) на тлі збільшення концентрації антизапальних цитокінів (ІЛ-10, ФРП-β).
5. Введення меланіну тваринам з глутамат-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-kB і TNF-alpha. 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 ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

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. (*Здобувачкою особисто виконано весь обсяг експериментальних досліджень, статистичну обробку результатів*).

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). (*Здобувачкою особисто виконано весь обсяг експериментальних досліджень, статистичну обробку результатів, аналіз і узагальнення отриманих даних, підготовлено матеріали до друку*).
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). (*Здобувачкою проведено аналіз літератури, брала участь у розробці схеми експерименту, гістологічні дослідження печінки за умов експериментального ожиріння).*
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). (*Здобувачкою особисто виконано весь обсяг експериментальних досліджень).*
5. Belemets N. Polyphenol compounds melanin prevented hepatic inflammation in rats with MSG-induced obesity and associated development of NAFLD/NASH / 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). (*Здобувачкою особисто виконано весь обсяг експериментальних досліджень).*

Тези наукових доповідей:

6. Falalyeyeva T., Belemets N., Kobyliak N., Bodnar 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).

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.

8. Фалалєєва Т.М., Белемець Н.І., Курик О.Г., Савчук О.М., Т.В.Берегова 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.

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.

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.

АНОТАЦІЯ

Белемець Н.І. Морфо-функціональна характеристика органів травлення за умов експериментального глутамат-індукованого ожиріння. – Рукопис.

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

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-κB, яке було асоційоване з виразністю лобулярного та перипортального запалення і експресією TNF-alpha. 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)-1β, ІЛ 12В p40) 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.

АННОТАЦИЯ

Белемец Н.И. Морфо-функциональная характеристика органов пищеварения в условиях экспериментального глутамат-индуцированного ожирения. - Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.11 - цитология, клеточная биология, гистология. - Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко МОН Украины, Киев, 2019.

Целью работы было изучение морфо-функционального состояния печени и поджелудочной железы в условиях неонатального глутамат-индуцированного ожирения и введения меланина. Была воспроизведена модель висцерального ожирения, вызванного неонатальным введением глутамата натрия. Доказано, что ожирение, вызванное введением глутамата натрия новорожденным крысам, ассоциированное с развитием неалкогольной жировой болезни печени, сопровождается активацией воспалительных путей как в клетках перисинусоидального пространства, так и в гепатоцитах, что подтверждалось активацией сигнального пути NF-κB, которое было ассоциировано с

выраженностью лобулярного и перипортального воспаления и экспрессией TNF-alpha. В поджелудочной железе наблюдалась гиперплазия инсулярного аппарата, ассоциированная с макрофагальной инфильтрацией и повышением экспрессии COX-2.

Меланин, продуцентом которого являются антарктические микроорганизмы *Pseudonadsoniella brunea* (ранее *Nadsoniella nigra* X-1), предотвращает развитие висцерального ожирения, вызванного глутаматом натрия у крыс в возрасте 4 месяцев, что подтверждалось уменьшением индекса массы тела, индекса Ли и массы висцеральной жировой ткани. Показано, что введение меланина тремя двухнедельными курсами приводило к увеличению уровня адипонектина в сыворотке крови и снижению уровня лептина в висцеральной жировой ткани крыс по сравнению с группой глутамат натрия. Введение меланина приводило к снижению концентрации в сыворотке крови крыс провоспалительных цитокинов (интерлейкина (ИЛ) -1β, ИЛ 12B p40) на фоне увеличения концентрации антивоспалительных цитокинов (ИЛ-10, ФНО-β). Введение меланина предотвращало нарушение морфогенеза печени и поджелудочной железы у животных с глутамат-индуцированным ожирением, нивелируя активацию провоспалительных сигнальных путей.

Ключевые слова: ожирение, печень, поджелудочная железа, воспаление, меланин.

ABSTRACT

Belemets N.I. Morpho-functional analysis 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 an 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 the 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 morpho-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-alpha 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) -1β, 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.