



*Київський національний університет  
імені Тараса Шевченка*

*Навчально-науковий центр  
«Інститут біології та медицини»*



# Механізми розвитку патологічних станів, асоційованих з ожирінням, та розробка методів їх корекції

Наукова робота на здобуття Премії Президента України для молодих вчених у 2024 році

**НІКІТІНА Наталія Сергіївна** - доктор філософії, асистент кафедри біохімії

ННЦ «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка

**КАЛМИКОВА Олеся Олександрівна** – доктор філософії, асистент кафедри цитології, гістології та репродуктивної медицини

ННЦ «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка



Робота присвячена дослідженню механізмів розвитку, профілактиці та лікуванню ускладнень цукрового діабету та метаболічного синдрому, які провоковані ожирінням. Гіперглікемія і порушення толерантності до глюкози розвиваються практично у всіх критичних станах, є частими проявами дії стресу будь якого генезу. Так як сьогодні наша країна живе в умовах постійного стресу, викликаного війною росії проти України, зростатимуть як захворюваність на цукровий діабет і метаболічний синдром, а також зростатимуть частота їх ускладнень та важкість перебігу. Однією із переваг даної роботи є запропоновані і досліджені в якості засобів профілактики і лікування ускладнень гіперглікемічних станів препарати, які застосовують при інших патологічних станах.

ЦД є однією із найважливіших медико-соціальних проблем практично у всіх країнах світу. Поширення ЦД в розвинутих країнах складає 6-7% і зростає. ЦД належить велика медична і соціальна значимість, оскільки він є причиною ранньої інвалідизації і летальності. Щороку в світі вмирає близько 4 млн людей унаслідок ЦД. За результатами багатьох епідеміологічних досліджень встановлено, що частота діабетичної полінейропатії (ДП) при всіх типах ЦД наближується до 100 %. Незважаючи на те що більшість механізмів розвитку ДП вивчено, біомеханічні параметри скорочення скелетних м'язів за даної патології є не дослідженими. Висока поширеність цього ускладнення ЦД та проблема його лікування свідчить про актуальність першої частини дослідження.

Найпоширенішою причиною виникнення ЦД та метаболічного синдрому є ожиріння, викликане споживанням висококалорійної дієти. Тому, друга частина присвячена дослідженню механізмів виникнення та можливих шляхів терапії ожиріння. Оскільки ожиріння є складним багатофакторним захворюванням, наразі в світі багато зусиль вкладають в пошук терапії цього захворювання з низьким рівнем побічної дії. Одним із перспективних напрямків у лікуванні метаболічного синдрому, у тому числі й ожиріння, є біоактивні пептиди. Біоактивні пептиди - це прості, природні, недорогі молекули, отримані з рослин і тварин, з багатьма доведеними корисними ефектами. Біоактивні пептиди були протестовані на різних дослідженнях як *in vitro*, так і *in vivo*, демонструючи регуляцію запалення, зниження окислювального стресу.



# Мета та Завдання

**Метою роботи** було дослідити механізми розвитку патологічних станів асоційованих з ожирінням, які ускладнюються проявами діабетичної полінейропатії, метаболічного синдрому, а також нові засоби лікування даних патологій.

**Відповідно до поставленої мети, сформульовано наступні завдання:**

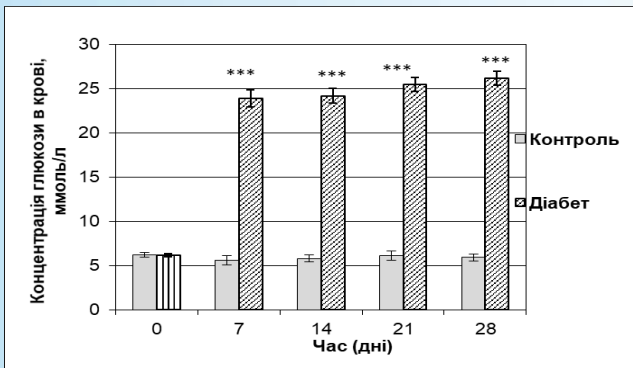
1. Визначити больову (тактильну та температурну) чутливість у щурів в динаміці розвитку діабетичної полінейропатії.
2. Дослідити проведення нервового імпульсу по нервовому волокні та механокінетичні параметри скорочення м'язу *m. gastrocnemius* у щурів з діабетичною полінейропатією.
3. Визначити механізми змін у нервовій провідності та скороченні м'язу *m. gastrocnemius* у щурів з діабетичною полінейропатією.
4. Оцінити вплив метаболічного препарату «Кокарніт» на нервову провідність та механокінетичні параметри скорочення м'язу *m. gastrocnemius* у щурів з діабетичною полінейропатією.
5. Оцінити морфо-функціональний стан нейроімуноендокринної системи в умовах розвитку ожиріння, індукованого висококалорійною дієтою, при різних (ранковий, вечірній та безперервний) режимах введення мелатоніну.
6. Проаналізувати морфо-функціональний стан білої жирової тканини щурів в умовах розвитку ожиріння, індукованого висококалорійною дієтою при застосуванні різних інноваційних біотехнологічних продуктів природнього походження (екстракту квасолі звичайної (*Phaseolus vulgaris*), фрагментів колагену низької молекулярної маси з шкіри риб антарктичних широт та пептидів з морських гідробіонтів (*Adamussium Colbecki*).
7. Охарактеризувати можливі механізми дії активаторів та інгібіторів рецепторів з ферментативною активністю на вуглеводний обмін клітин *in vitro*.



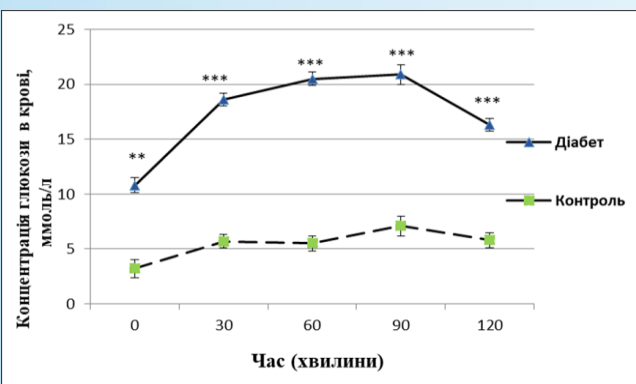
## Методи дослідження:

- Фізіологічні: моделювання стрептозотоцинового цукрового діабету (СЦД); ожиріння, індукованого споживанням висококалорійної дієти; глутамат-індукованого метаболічного синдрому та постпрандіальної гіперглікемії на тлі виснаження захисних ресурсів шляхом модифікування вмісту NO, ейкозаноїдів, H<sub>2</sub>S; водно-іммобілізаційного стресу (VIC), застосування L-Try і Mel, тензоалгометричний метод та тест «Tail-flick» для визначення порогу больової чутливості, дослідження динамічних параметрів скорочення задніх кінцівок у щурів.
- Морфологічні (макроскопічний огляд, лектиногістохімія з манозо- (Man) та фукозо (Fuc)-специфічним маркуванням) відповідно до рекомендацій EsoHisto, 2011.
- Гістологічні (оглядове забарвлення), гістохімічні (виявлення гранул тучних клітин, серотонінергічних нейронів гіпоталамуса, ентерохромафінних клітин тонкого кишечника), біохімічні, спектрофотометричні, морфометричні (аналітична цитологія), методи культури клітин.
- Біохімічні та імуноферментні методи досліджень, метод одновимірної тонкошарової хроматографії та інші.
- Статистичні методи.

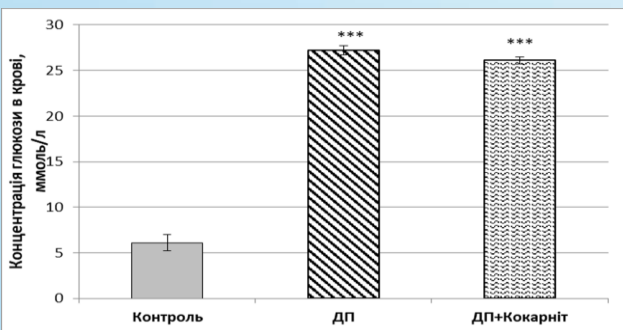
Кокарніт не впливає на гіперглікемічний рівень глюкози в крові щурів. Це свідчить, що окрім наслідків гіперглікемії, є ще інші фактори, які призводять до розвитку діабетичної полінейропатії.



**Рис.1** Концентрація глюкози в крові щурів перед моделюванням патології (0 день), на 7, 14, 21 та 28 день експерименту (M±SD)

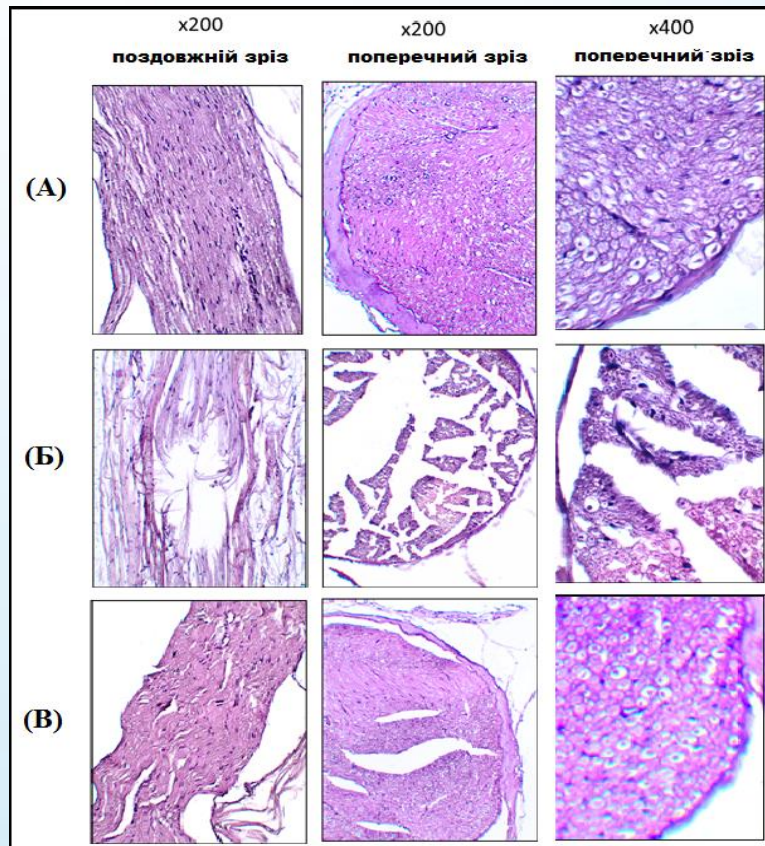


**Рис.2** Концентрація глюкози в крові щурів за результатами глюкозотолерантного тесту (M±SD).



**Рис.3** Концентрація глюкози в крові щурів на 40 день експерименту (M±SD)

\*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$  – у порівнянні з групою контрольних щурів

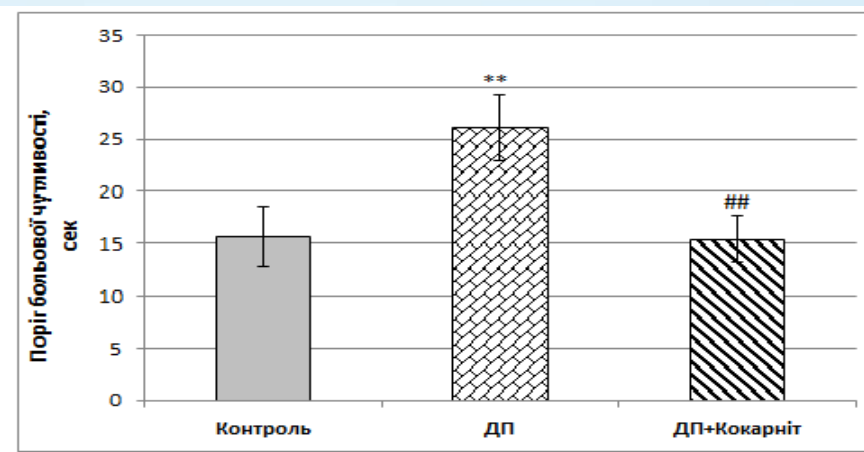
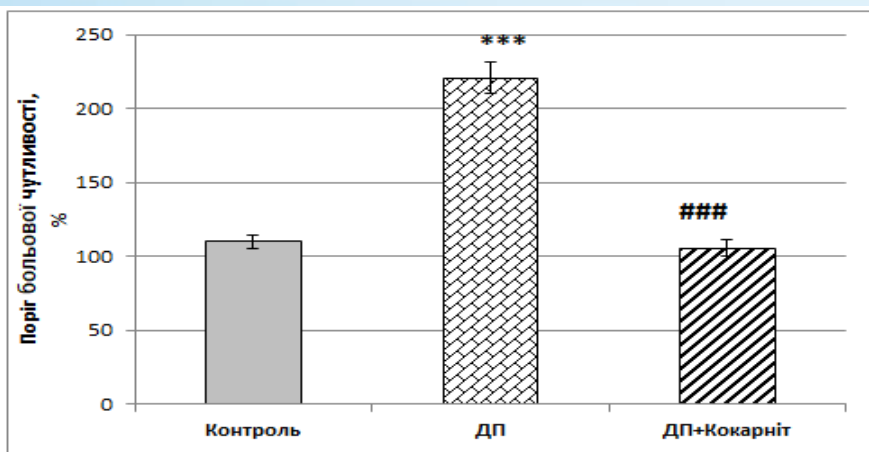
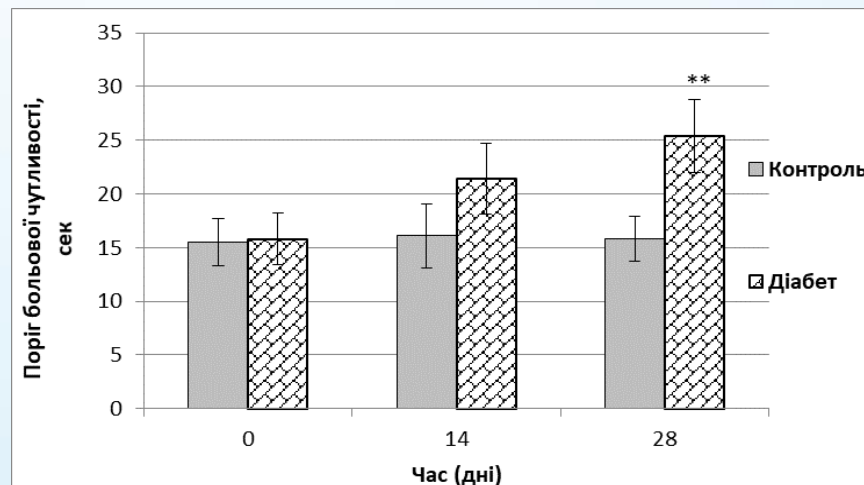
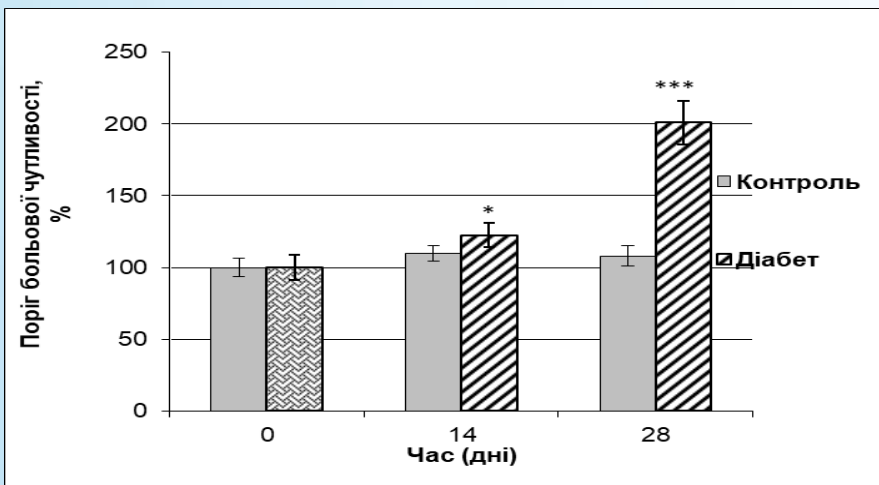


**Рис.4** Гістологічні зрізи сідничного нерва контрольних щурів (А), щурів з діабетичною полінейропатією (Б) та після введення Кокарніту (В). Забарвлення гематоксиліном і еозином.

Гістологічні дослідження сідничного нерва щурів з ДП показали виражені дистрофічно-дегенеративні зміни - фрагментація нервових волокон, їх некроз з утворенням порожнин. Після введення Кокарніту показано невеликі ділянки дистрофічно-дегенеративних змін у вигляді невеликих щілиновидних порожнин в тканині сідничного нерва, але в цілому структура нерва збережена.



На тлі розвитку діабету у щурів розвивається полінейропатія, що проявляється в зростанні порогу больової чутливості на 14-й і 28-й дні після моделювання цукрового діабету. Кокарніт відновлював поріг больової чутливості до рівня контролю.



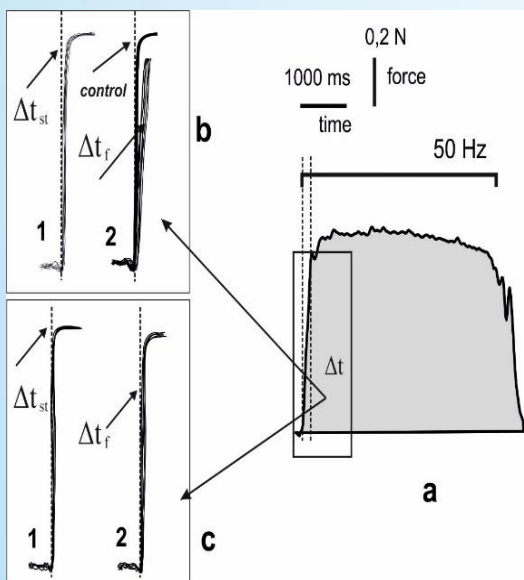
(А)

(Б)

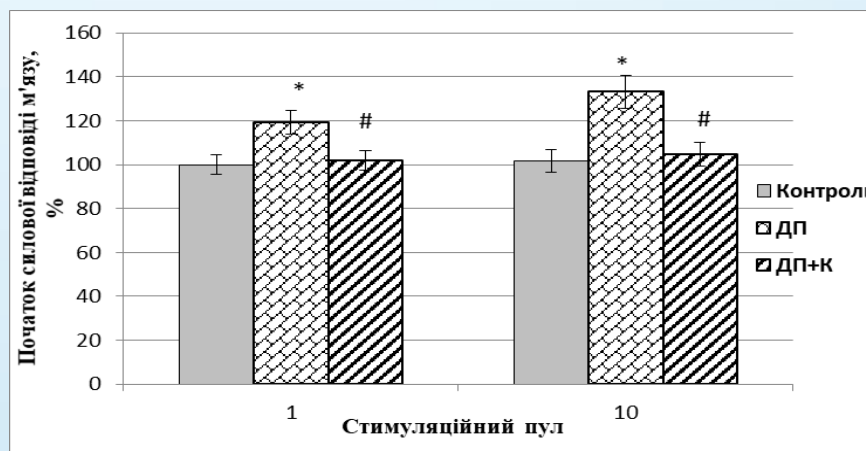
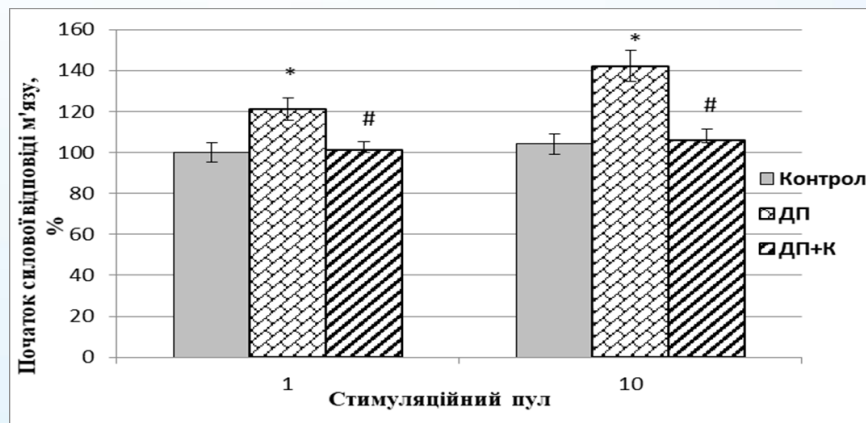
**Рис.5** Поріг больової чутливості у щурів (M±SD) при дослідженні тактильної (А) та температурної (Б) чутливості

\*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$  - у порівнянні з контрольною групою щурів,  
## -  $p < 0,01$  – у порівнянні з групою щурів з ДП

*Вперше досліджено біомеханічні параметри скорочення м'язу *m. gastrocnemius* у щурів із діабетичною полінейропатією методами, наближеними до фізіологічних умов.*



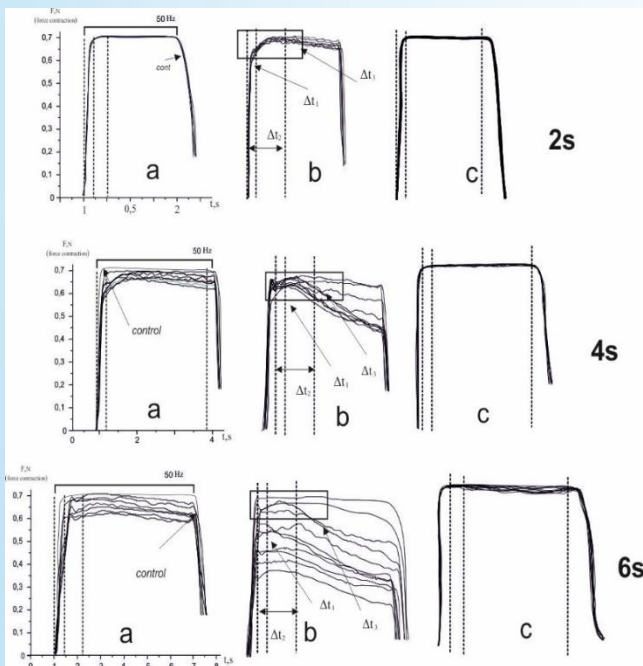
**Рис.6** Приклад розрахунку затримки початку силової відповіді *m. gastrocnemius* викликаний 10 послідовними стимуляційними пулами частотою 50 Гц (а) у щурів з ДП (b) та після введення Кокарніту впродовж 9 днів (c).  
1 - безпосередня стимуляція м'язу;  
2 - стимуляція через нерв;  
 $\Delta t_{st}$  - час початку стимуляції м'язу;  
 $\Delta t_f$  - час початку силової відповіді м'язу.



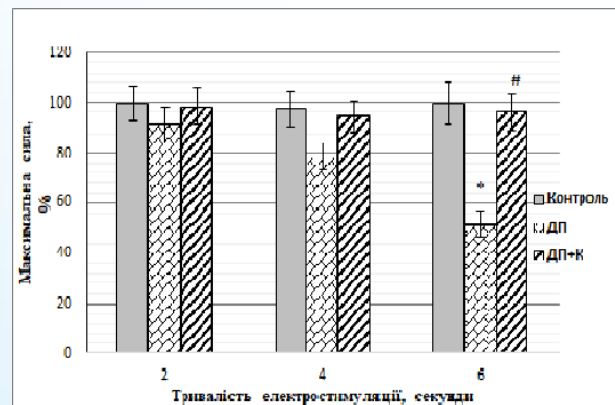
**Рис.7** Час початку силової відповіді *m. gastrocnemius* викликаний 10 послідовними стимуляційними пулами частотою 50 Гц у щурів контрольної групи, щурів з діабетичною полінейропатією (ДП) та після введення Кокарніту впродовж 9 днів (ДП+К). Час релаксації – 10 секунд (А) та 3 хвилини (Б). (M±SD).

\*-  $p < 0,05$  - у порівнянні з контрольною групою щурів,  
# -  $p < 0,05$  - у порівнянні з групою щурів з ДП

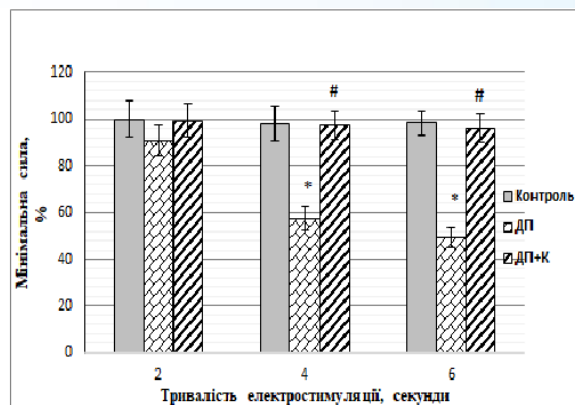
*Швидкість проведення стимуляційного сигналу по сідничному нерву щурів з діабетичною полінейропатією як після одиночного пулу подразнення, так і після 10 послідовних пулів з часом релаксації 3 хв та 10 с знижується, що проявляється у збільшенні часу необхідного для відповіді м'язу.*



**Рис.8** Оригінальний запис сили скорочень м. gastrocnemius щура викликаних 10-ма послідовними пулами стимуляції частотою 50 Гц і тривалістю 2, 4 та 6 секунд, у щурів з діабетичною полінейропатією (а, б) та після введення Кокарніту впродовж 9 днів (с). Час релаксації – 10 секунд.  
а - безпосередня стимуляція м'язу;  
б, с – стимуляція через нерв.

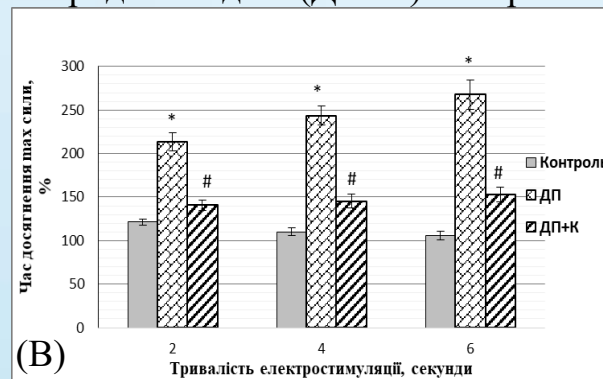


(А)

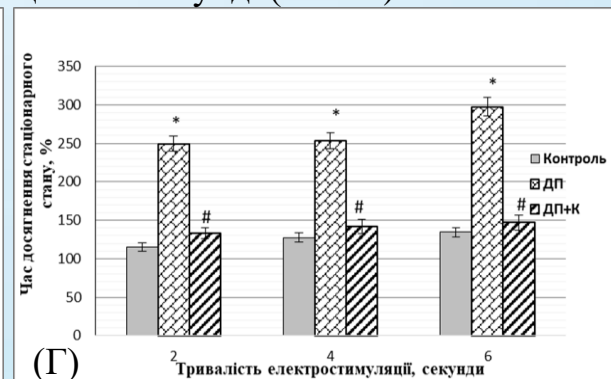


(Б)

**Рис. 9** Максимальна (А), мінімальна силова відповідь (Б), час досягнення максимальної сили (В), час досягнення стаціонарного стану (Г) м. gastrocnemius викликаний 10 послідовними стимуляційними пулами частотою 50 Гц і тривалістю 2, 4 та 6 секунд, у щурів контрольної групи, щурів з діабетичною полінейропатією (ДП) та після введення Кокарніту впродовж 9 днів (ДП+К). Час релаксації – 10 секунд. (M±SD).



(В)



(Г)

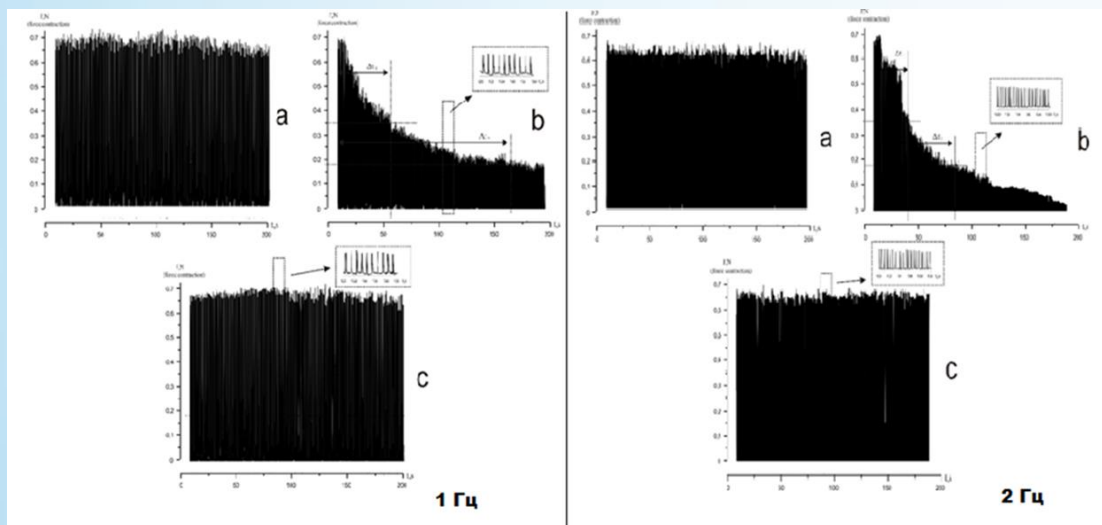
\*-  $p < 0,05$  - у порівнянні з контрольною групою щурів,

# -  $p < 0,05$  - у порівнянні з групою щурів з ДП

*Амплітудно-силові параметри м'язової реакції щурів із діабетичною полінейропатією при 10 послідовних подразненнях тривалістю 2, 4 та 6 с були значно знижені як при подразненні через нерв, так і при прямій стимуляції м'язу. Це може бути пов'язано з аксональною дегенерацією і атрофією м'язового волокна.*

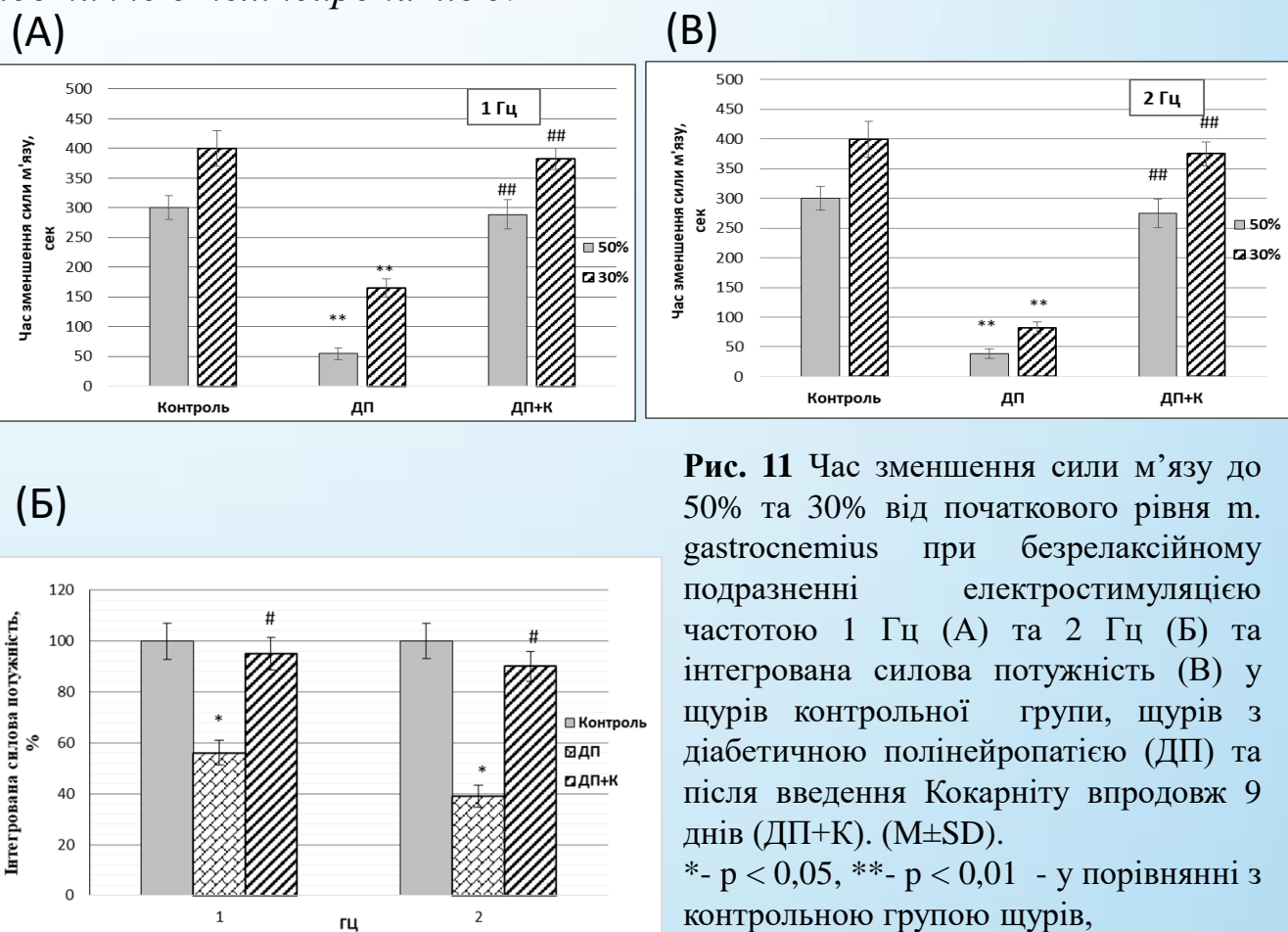


Безрелаксійне подразнення нерва частотою 1 Гц та 2 Гц впродовж 200 с показало значний розвиток втомі, що проявляється в зменшенні сили скорочення м'язу у щурів із діабетичною полінейропатією.



**Рис. 10** Оригінальний запис кривої генерації сили *m. gastrocnemius* викликана безрелаксійним подразненням електростимуляцією 1 Гц та 2 Гц у щурів контрольної групи (а), щурів з діабетичною полінейропатією (б) та після введення Кокарніту впродовж 9 днів (с).

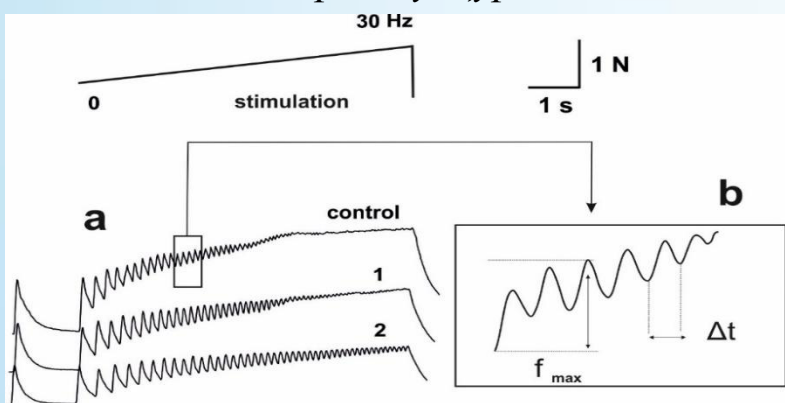
$\Delta t_1$  – зменшення сили скорочення до 50% від початкового рівня;  
 $\Delta t_2$  - зменшення сили скорочення до 30% від початкового рівня.



**Рис. 11** Час зменшення сили м'язу до 50% та 30% від початкового рівня *m. gastrocnemius* при безрелаксійному подразненні електростимуляцією частотою 1 Гц (А) та 2 Гц (Б) та інтегрована силова потужність (В) у щурів контрольної групи, щурів з діабетичною полінейропатією (ДП) та після введення Кокарніту впродовж 9 днів (ДП+К). (M±SD).

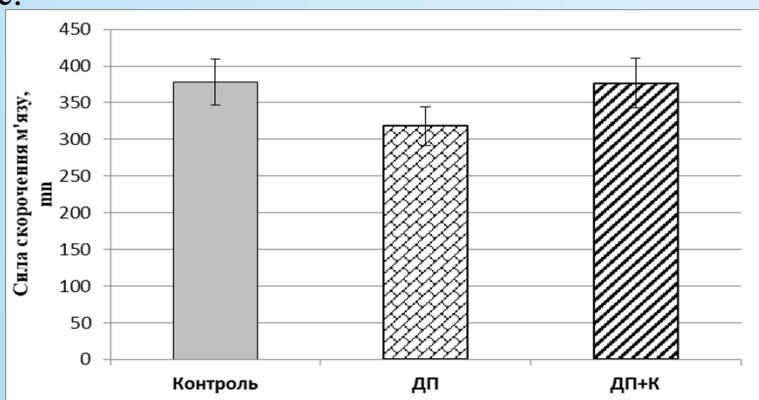
\*-  $p < 0,05$ , \*\*-  $p < 0,01$  - у порівнянні з контрольною групою щурів,  
# -  $p < 0,05$ , ## -  $p < 0,01$  - у порівнянні з групою щурів з ДП

Показано зниження швидкості досягнення силою свого стаціонарного рівня методом застосування стимуляційного сигналу з подовженою швидкістю досягнення максимальної сили, що ускладнює можливість точного позиціонування суглоба з пошкодженням нервом у щурів із діабетичною полінейропатією.

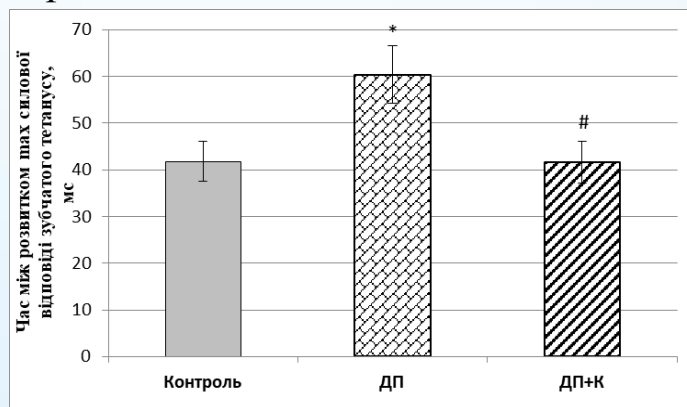


**Рис. 12** Перехід *m. gastrocnemius* з зубчастого в гладкий тетанус, при застосуванні наростаючою стимуляційного сигналу максимальної частоти 30 Гц та тривалістю б с.

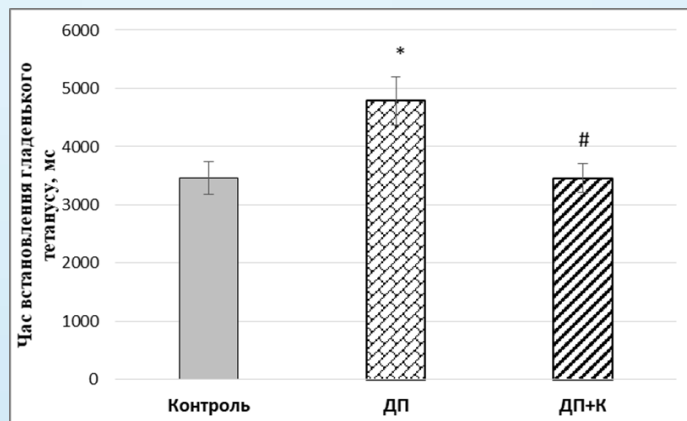
(Б)



(А)



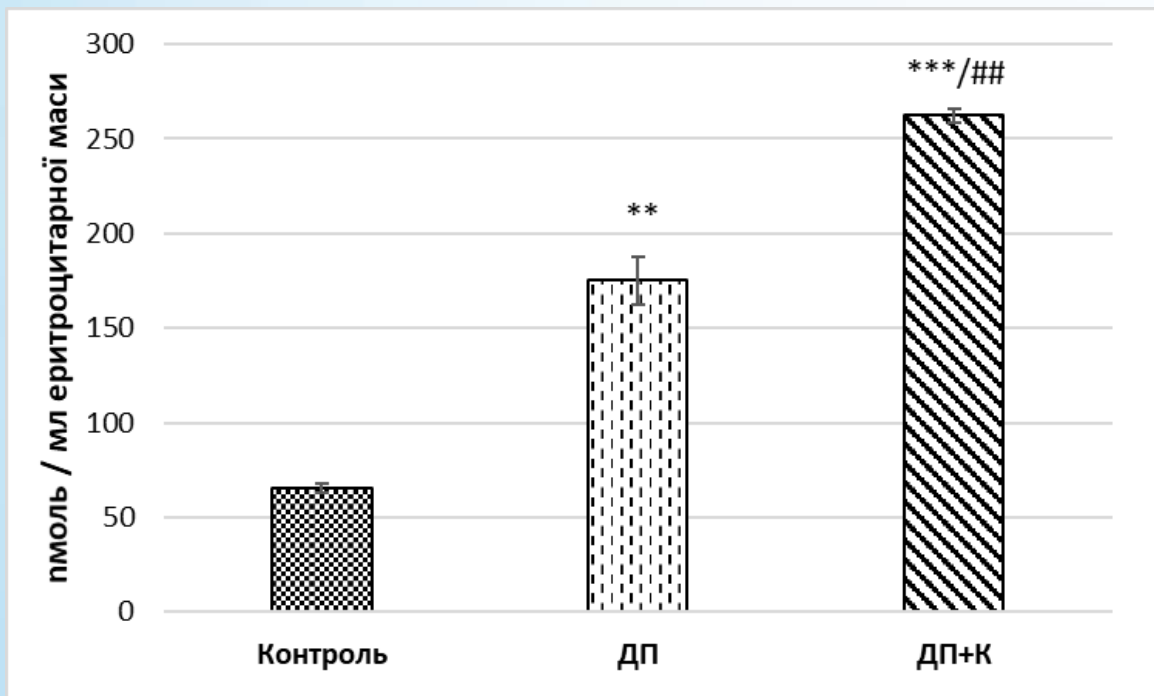
(В)



**Рис. 13** Час між розвитком максимальної силової відповіді (А) та сила скорочення (Б) *m. gastrocnemius* 5 перших скорочень зубчастого тетанусу та час встановлення гладенького тетанусу (В) при стимуляційному подразненні 20 Гц у щурів контрольної групи, щурів з діабетичною полінейропатією (ДП) та після введення Кокарніту впродовж 9 днів (ДП+К). (M±SD).

\*-  $p < 0,05$  - у порівнянні з контрольною групою щурів, # -  $p < 0,05$  - у порівнянні з групою щурів з ДП.

Введення Кокарніту впродовж 9 днів значно покращувало описані біомеханічні дисфункції і наблизило описані параметри скорочення до рівня фізіологічної норми.



**Рис. 14** Концентрація сорбітолу в еритроцитарній масі крові контрольної групи, щурів з діабетичною полінейропатією (ДП) та після введення Кокарніту (ДП+К). ( $M \pm SD$ ).

\*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$  – у порівнянні з групою контрольних щурів  
##  $p < 0,01$  – у порівнянні з групою щурів з діабетичною полінейропатією

*Концентрація сорбітолу в еритроцитарній масі крові збільшувалась як у щурів із діабетичною полінейропатією, так і після лікування Кокарнітом. У відповідь на гіперглікемію активність альдозоредуктази підвищується, як результат - підвищений перетворення глюкози в сорбіт, один із алкогольних цукрів. Кокарніт не впливає на вуглеводний обмін в клітинах.*

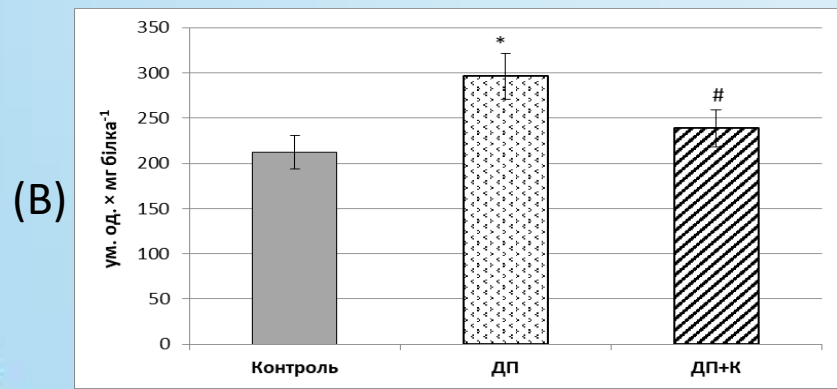
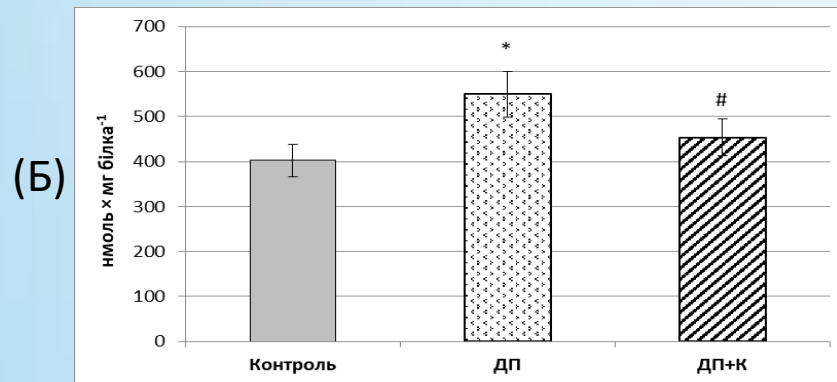
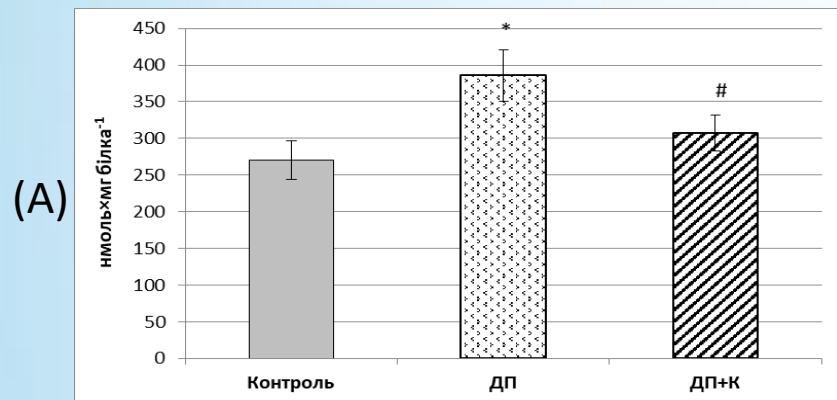
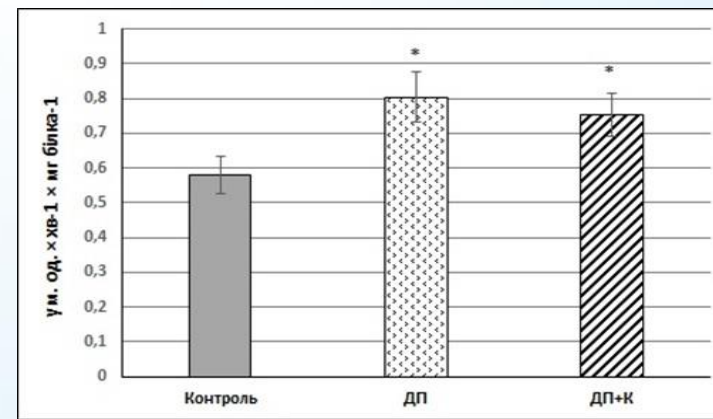
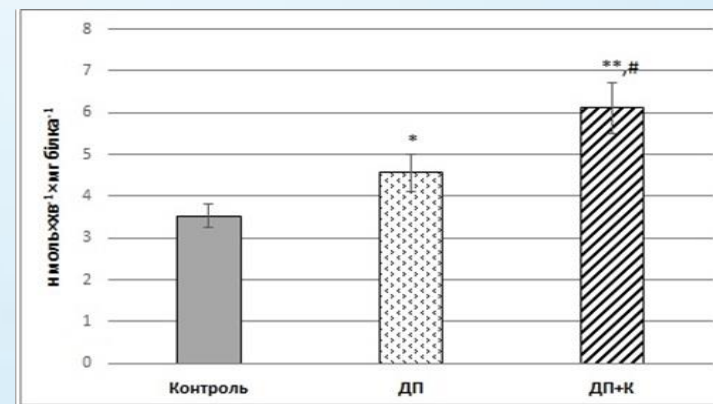


Рис. 15 Вміст дієнових кон'югатів (А), ТБК-активних продуктів (Б) та шифових основ (В) в гомогенаті нерва щурів контрольної групи, щурів з діабетичною полінейропатією (ДП) та після введення Кокарніту впродовж 9 днів (ДП+К). (M±SD).

\*-  $p < 0,05$  - у порівнянні з контрольною групою щурів,  
# -  $p < 0,05$  - у порівнянні з групою щурів з ДП



(A)



(Б)

Рис. 16 Активність супероксиддисмутази (А) та каталази (Б) в гомогенаті нерва щурів контрольної групи, щурів з діабетичною полінейропатією (ДП) та після введення Кокарніту впродовж 9 днів (ДП+К). (M±SD).

Порушення про-/антиоксидантної рівноваги в гомогенаті нерва щурів із діабетичною полінейропатією та її нормалізація на тлі введення Кокарніту.



| Показник                                   | Продукти<br>нейтрального характеру |                             | Продукти<br>лужного характеру |                             |
|--------------------------------------------|------------------------------------|-----------------------------|-------------------------------|-----------------------------|
|                                            | 356 нм,<br>альдо-<br>похідні       | 370 нм,<br>кето-<br>похідні | 430 нм,<br>альдо-<br>похідні  | 530 нм,<br>кето-<br>похідні |
| Контроль                                   | 0,037 ± 0,004                      | 0,063 ± 0,006               | 0,069 ± 0,005                 | 0,032 ± 0,003               |
| Діабетична<br>полінейропатія               | 0,074 ± 0,007*                     | 0,119 ± 0,011*              | 0,101 ± 0,011*                | 0,055 ± 0,005*              |
| Діабетична<br>полінейропатія +<br>Кокарніт | 0,054 ± 0,005*/#                   | 0,081 ± 0,007#              | 0,079 ± 0,007#                | 0,037 ± 0,005#              |

*Зростання вмісту продуктів окисної модифікації білків також свідчить про розвиток оксидативного стресу у щурів із діабетичною полінейропатією. Після введення Кокарніту ці показники відновлювались до контрольних значень.*

**Рис. 17** Вміст продуктів окисної модифікації білків в гомогенаті нервів щурів з діабетичною полінейропатією, ум. од. × мг білка<sup>-1</sup>, (M ± SD)

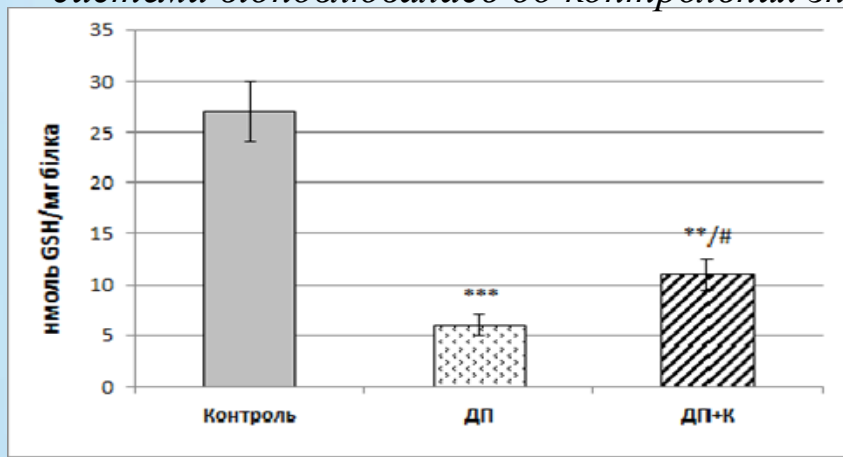
\*- p < 0,05 - у порівнянні з контрольною групою щурів,

# - p < 0,05 - у порівнянні з групою щурів з ДП.

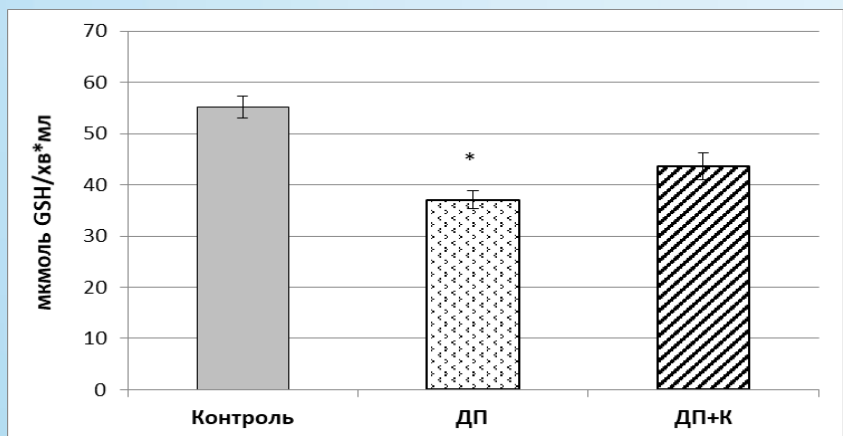
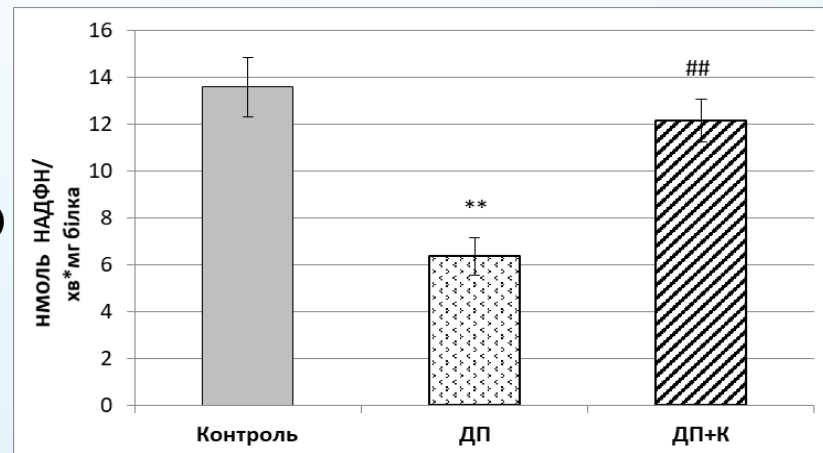


## Біохімічні параметри в тканині сідничного нерва у щурів із діабетичною полінейропатією та за умов їх корекції Кокарнітом

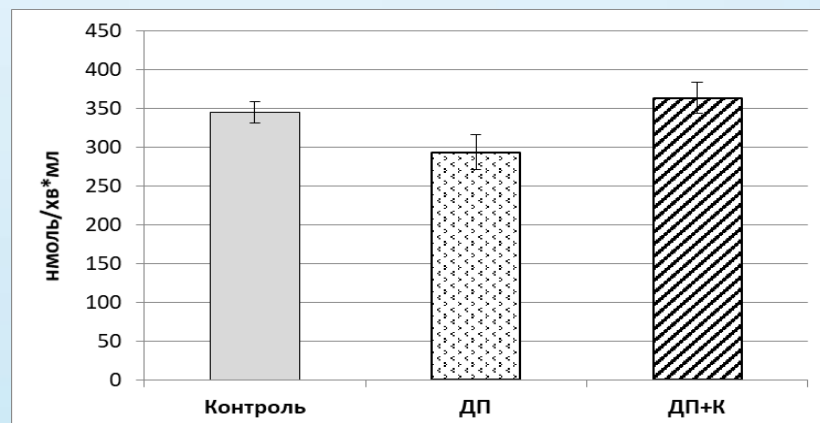
Вміст відновленого і окисненого глутатіону знижувався, як і активність глутатіонпероксидази та глутатіонредуктази у щурів із діабетичною полінейропатією. Після Кокарніту активність ферментів глутатіонової системи відновлювалась до контрольних значень.



(GSH)



(GP)



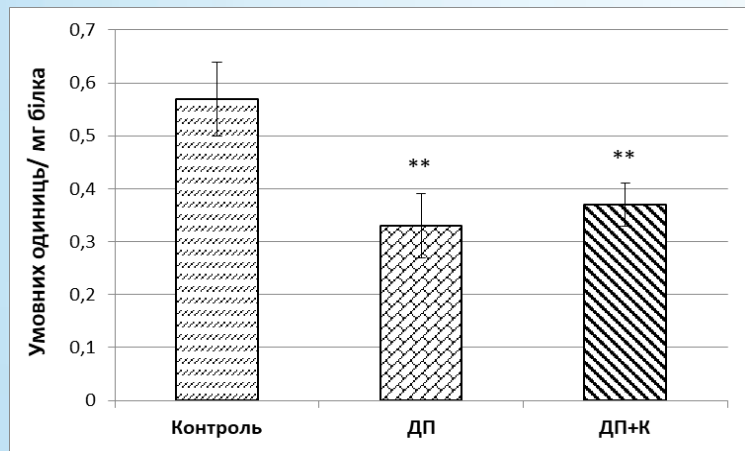
**Рис. 18** Вміст відновленого глутатіону та активність глутатіонпероксидази (ГП), глутатіонтрансферази (ГТ) та глутатіонредуктази (ГР) в гомогенаті нерва щурів контрольної групи, щурів з діабетичною полінейропатією (ДП) та після введення Кокарніту впродовж 9 днів (ДП+К). (M±SD).

\*-  $p < 0,05$  \*\*-  $p < 0,01$  - у порівнянні з контрольною групою щурів;  
##-  $p < 0,01$  - у порівнянні з групою щурів з ДП

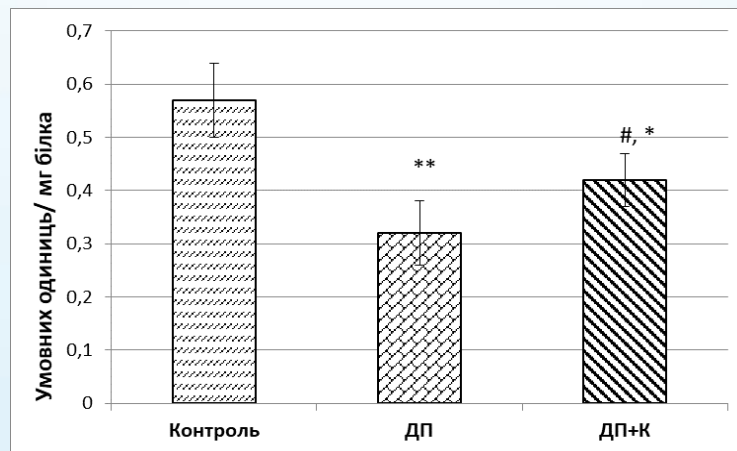


## Біохімічні параметри в тканині сідничного нерва у щурів із діабетичною полінейропатією та за умов їх корекції Кокарнітом

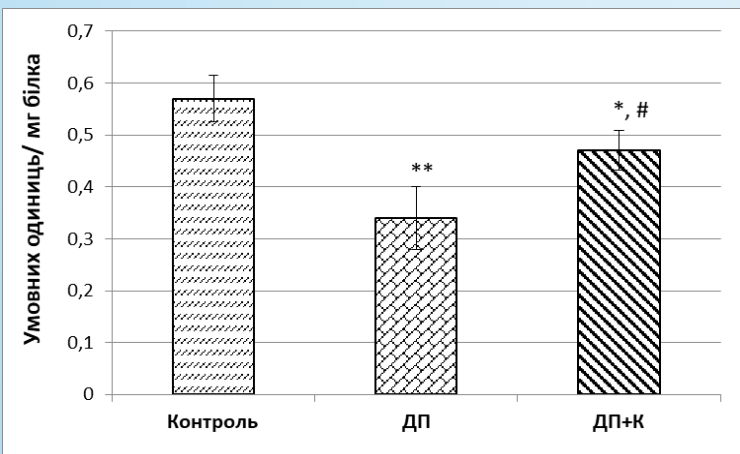
*Вміст факторів росту VEGF, NGF, bFGF знижувався в гомогенаті нерва щурів із діабетичною полінейропатією. При цьому вміст транскрипційного фактора NF-kB зростає. Це є свідченням перебігу патологічних процесів в тканині нерва.*



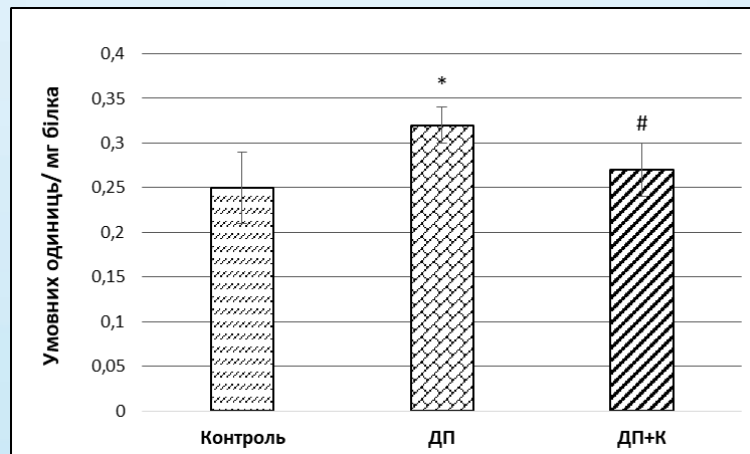
**VEGF**



**bFGF**



**NGF**



**NF-kB**

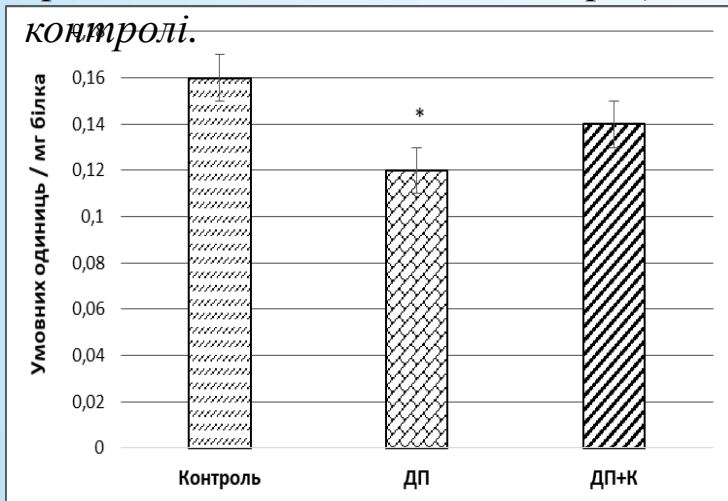
**Рис. 19** Вміст фактору росту ендотелію судин (VEGF) та фактору росту нервів (NGF), фактору росту фібробластів (bFGF) та транскрипційного фактора (NF-kB) в гомогенаті нерва щурів контрольної групи, щурів з діабетичною полінейропатією (ДП) та після введення Кокарніту впродовж 9 днів (ДП+К). (M±SD).

\*-  $p < 0,05$ , \*\*-  $p < 0,01$  - у порівнянні з контрольною групою щурів;  
#-  $p < 0,05$  - у порівнянні з групою щурів з ДП

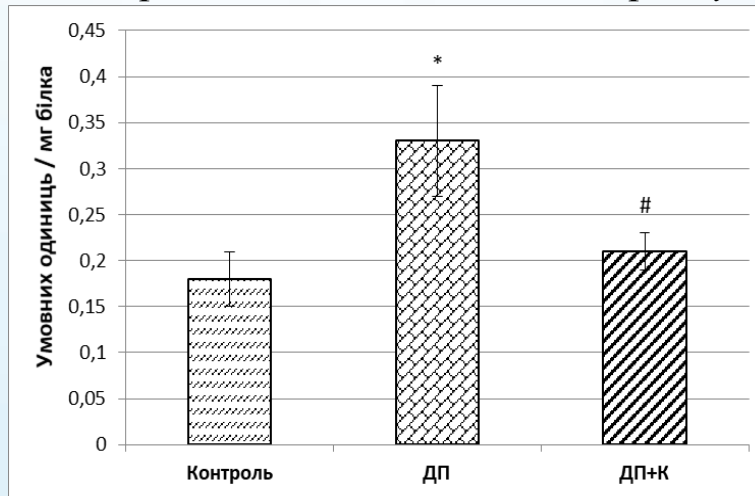


## Біохімічні параметри в тканині сідничного нерва у щурів із діабетичною полінейропатією та за умов їх корекції Кокарнітом

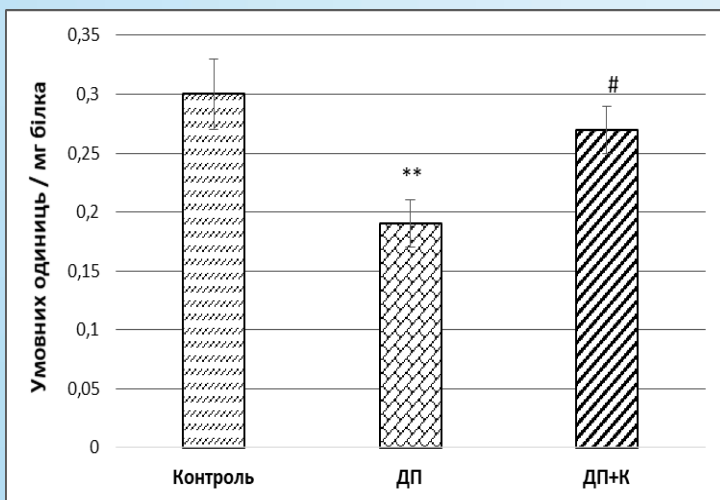
Вміст тканинного активатора плазміногену tPA та його інгібітора PAI-1 знижувався в гомогенаті нерва щурів із діабетичною полінейропатією. При цьому вміст матриксних металопротеїназ MMP 2 та MMP 9 зростає. Це також свідчить про наявність патологічних процесів в тканині нерва. Після введення Кокарніту вміст tPA та PAI-1, MMP 2 був таким як в контролі.



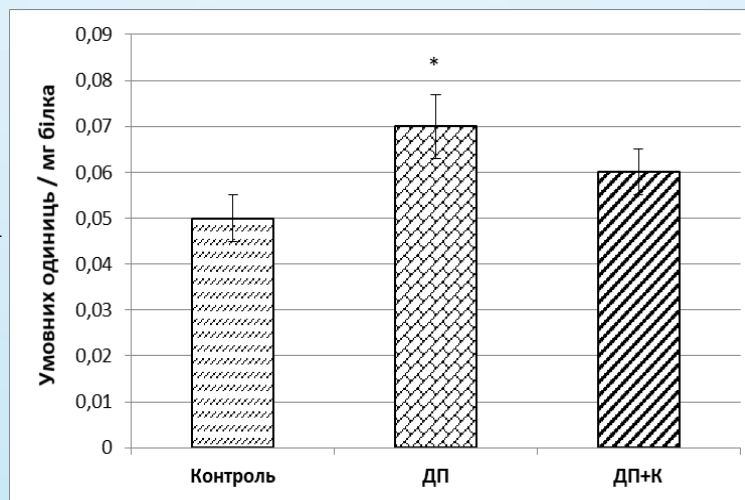
tPA



MMP-2



PAI-1



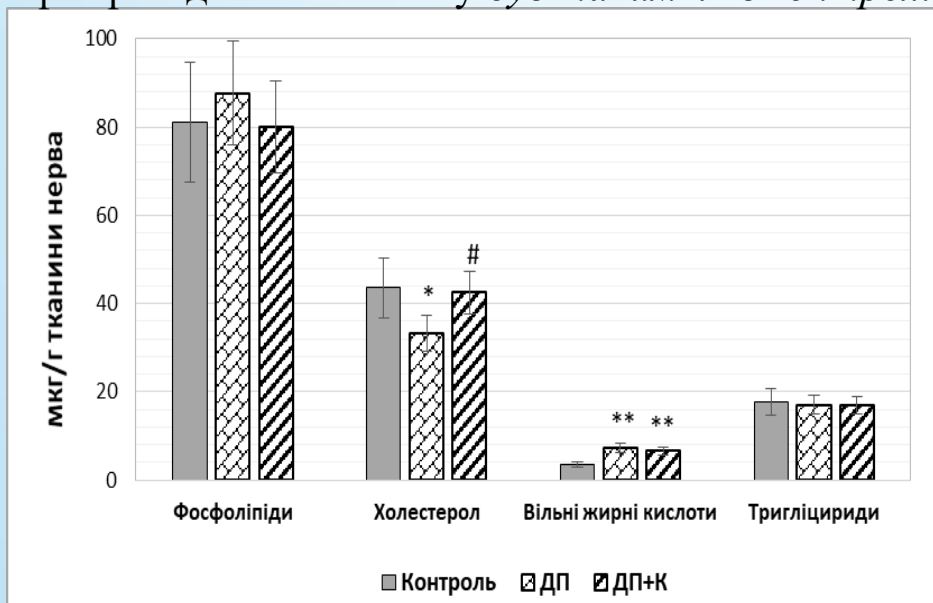
MMP-9

**Рис. 20** Вміст тканинного активатора плазміногену (tPA) та інгібітора плазміногенного активатора (PAI-1), матриксної металопротеїнази 2 (MMP-2) та матриксної металопротеїнази 9 (MMP-9) в гомогенаті нерва щурів контрольної групи, щурів з діабетичною полінейропатією (ДП) та після введення Кокарніту впродовж 9 днів (ДП+К). (M±SD).

\*-  $p < 0,05$ , \*\*-  $p < 0,01$  - у порівнянні з контрольною групою щурів;  
#-  $p < 0,05$  - у порівнянні з групою щурів з ДП



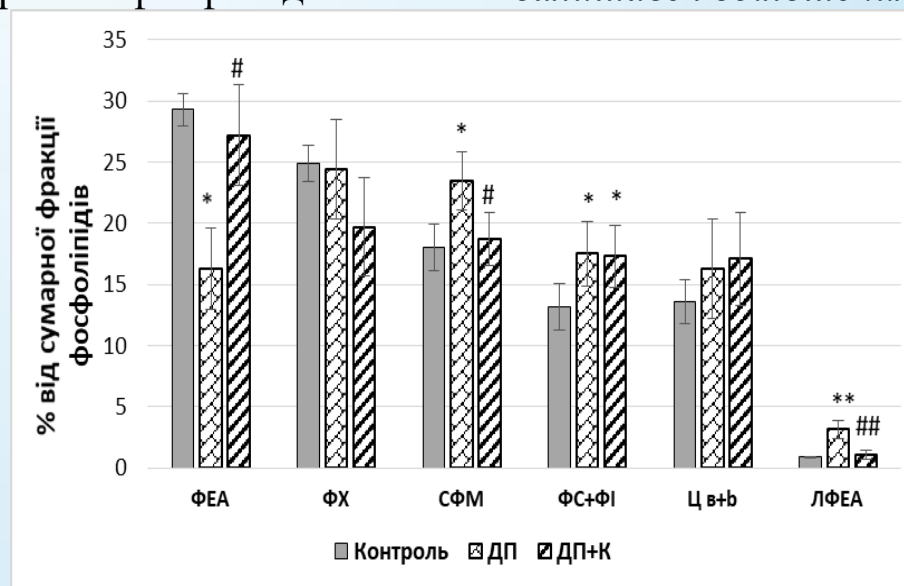
При дослідженні ліпідного складу в сідничних нервах щурів виявлено зниження вмісту холестеролу та збільшення вільних жирних кислот, що свідчить про пошкодження мембрани нерва. Після введення Кокарніту вміст холестеролу відновлюється, а вільних жирних кислот залишається збільшеним. Дослідження окремих фосфоліпідів показало зниження вмісту фосфатидилетаноламіну, та збільшення сфінгомієліну, фосфатидилсерину та фосфатидилінозиту та лізофосфатидилетаноламіну. Після введення Кокарніту вміст фосфатидилетаноламіну, сфінгомієліну, лізофосфатидилетаноламіну був таким як в контролі, а фосфатидилсерин та фосфатидилінозитол залишався збільшеним.



**Рис. 21** Ліпідний склад мембрани нерва щурів контрольної групи, щурів з діабетичною полінейропатією (ДП) та після введення Кокарніту впродовж 9 днів (ДП+К). (M±SD).

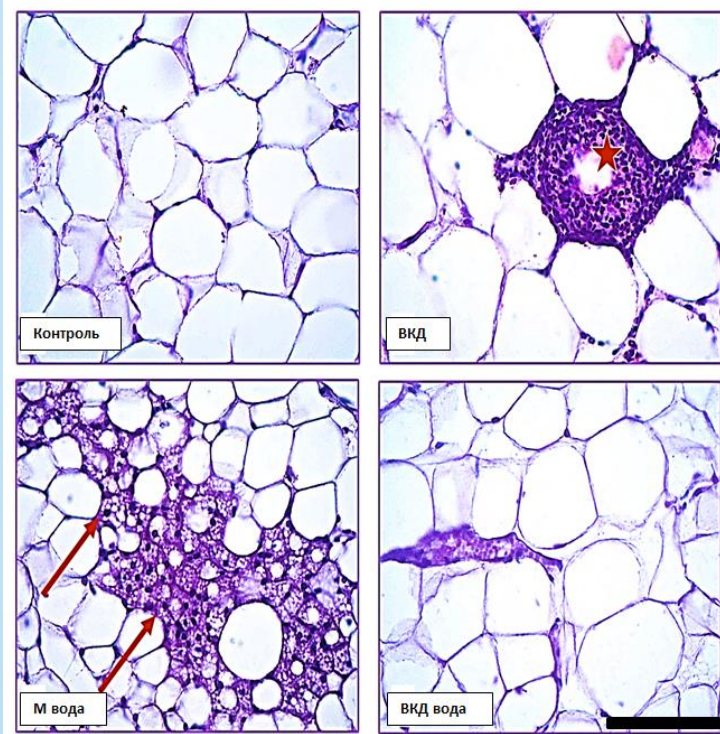
\*-  $p < 0,05$  - у порівнянні з контрольною групою щурів;

#-  $p < 0,05$  - у порівнянні з групою щурів з ДП

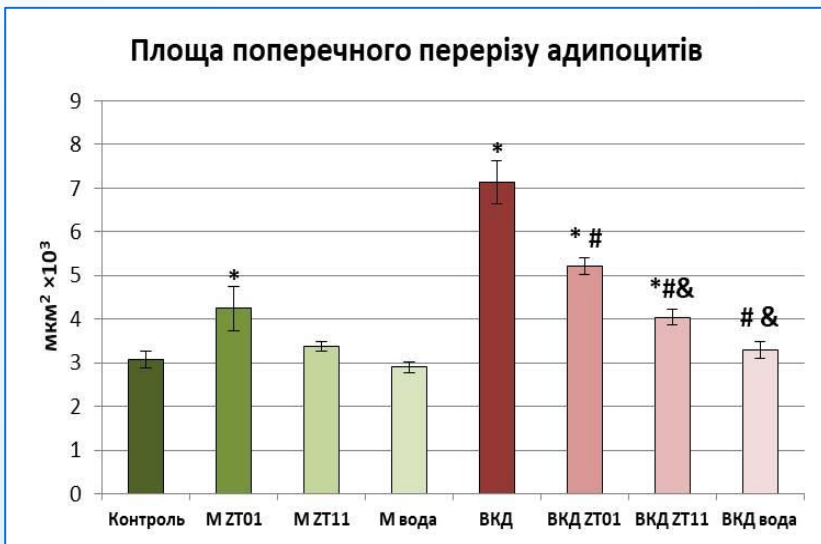


**Рис. 22** Вміст різних фосфоліпідів в гомогенаті нерва щурів контрольної групи, щурів з діабетичною полінейропатією (ДП) та після введення Кокарніту впродовж 9 днів (ДП+К). (M±SD).

ФЕА – фосфатидилетаноламін, ФХ – фосфатидилхолін, СФМ – сфінгомієлін, ФС+ФІ – фосфатидилсерин+фосфатидилінозитол, Ц а+в – цереброзиди, ЛФЕА – лізофосфатидилетаноламін.

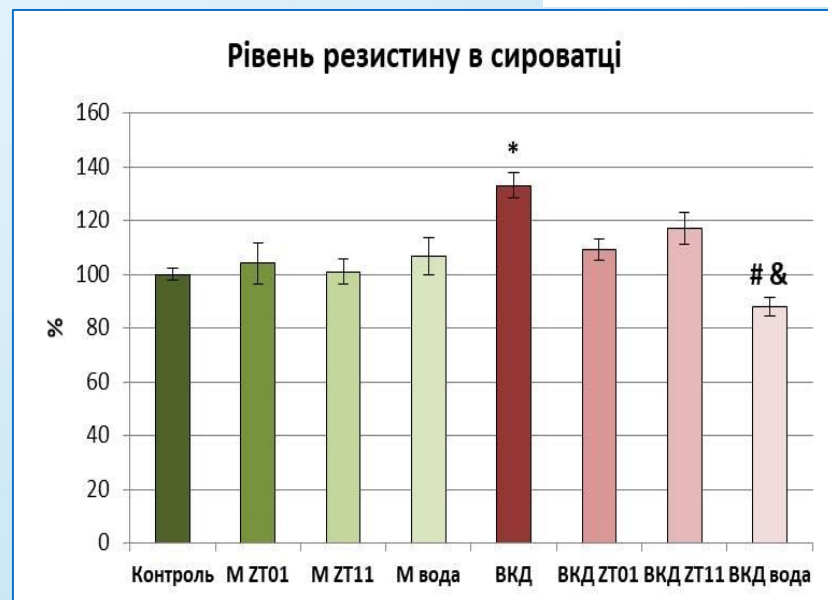
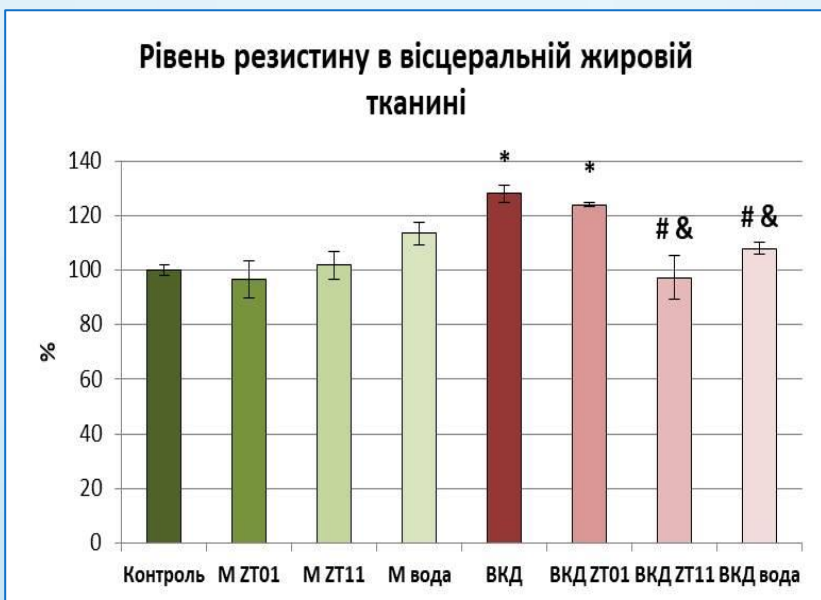


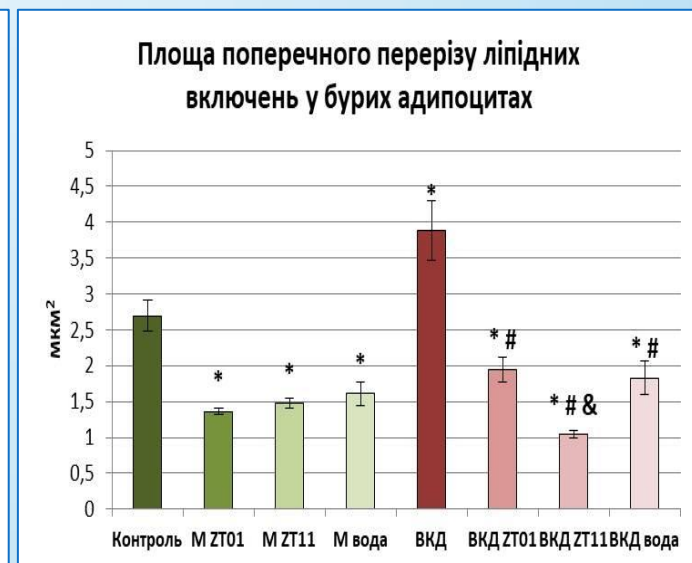
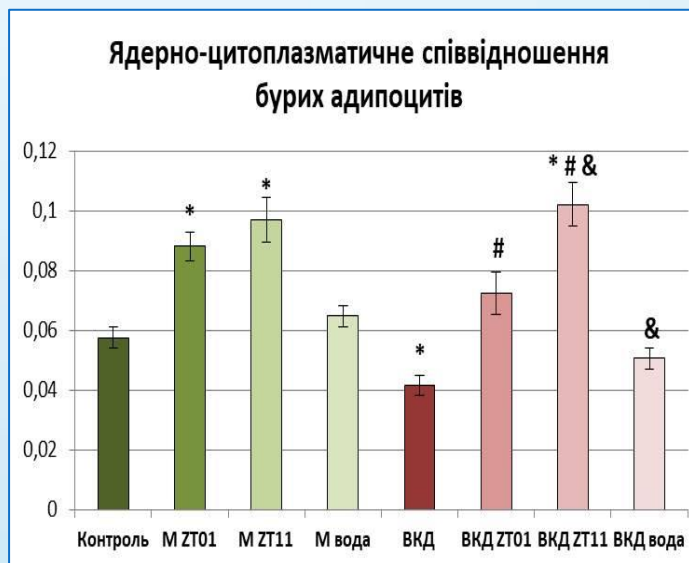
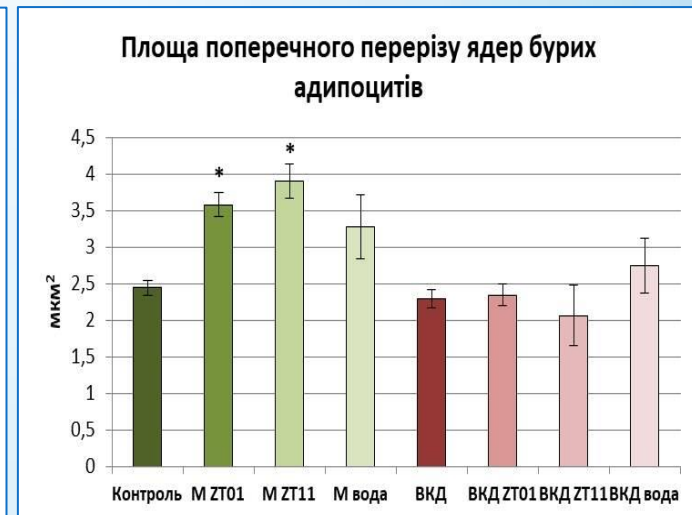
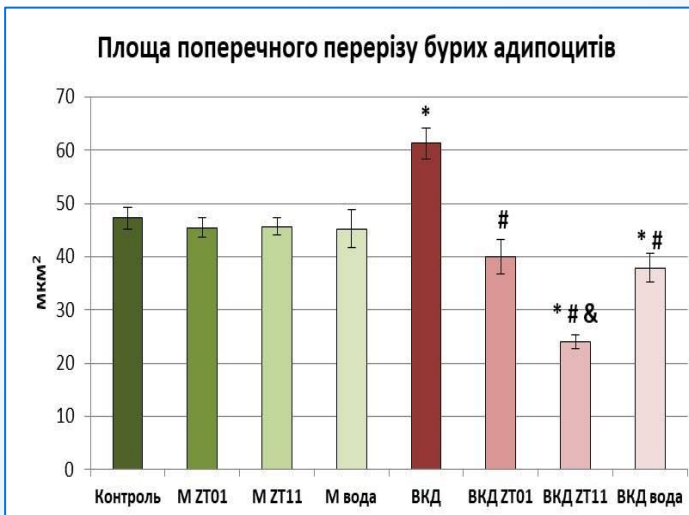
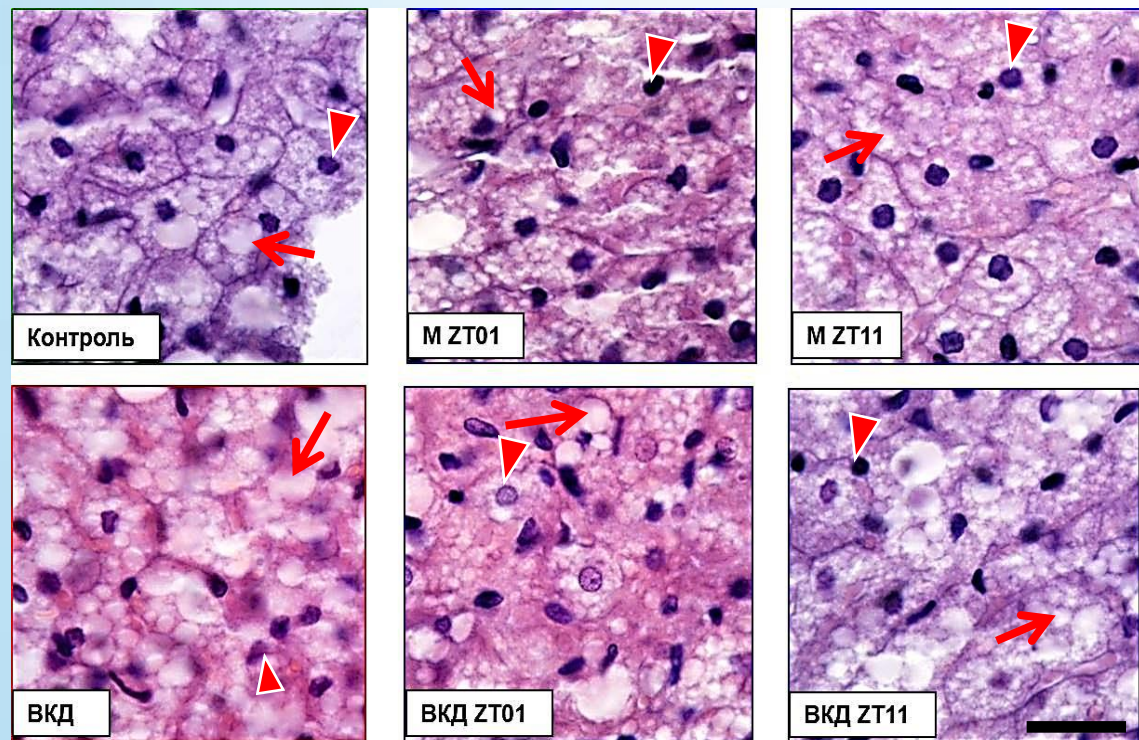
**Рис. 23.** Мікрофотографії зрізів білої жирової тканини щурів: **зірочкою** позначена структура подібна до «корони» - мертві адипоцити, оточені макрофагами; **стрілкою** позначені бежеві адипоцити; забарвлення гематоксилін-еозин; ок.  $\times 10$ , об.  $\times 40$ ; (шкала 50  $\mu\text{m}$ ).



\* – достовірна різниця між контрольною групою та дослідними групами,  $p \leq 0,05$   
 # – достовірна різниця між групою ВКД та ВКД ZT01, ВКД ZT11 і ВКД вода,  $p \leq 0,05$   
 & – достовірна різниця між ВКД ZT01 та ВКД ZT11, ВКД вода,  $p \leq 0,05$ .

- Контроль
- M ZT01 (Ранкове)
- M ZT11 (Вечірнє)
- M вода (Постійний)
- ВКД
- ВКД ZT01 (Ранкове)
- ВКД ZT11 (Вечірнє)
- ВКД вода (Постійний)





**Рис. 24.** Мікрофотографії оглядового забарвлення (гематоксилін-еозин) зрізів бурої жирової тканини шурів, ок. 10 х об. 100 (шкала 20 μm). Стрілками позначені ліпідні включення, трикутником – ядра адипоцитів.

\* – достовірна різниця між контрольною групою та дослідними групами,  $p \leq 0,05$   
 # – достовірна різниця між групою ВКД та ВКД ZT01, ВКД ZT11 і ВКД вода,  $p \leq 0,05$   
 & – достовірна різниця між ВКД ZT01 та ВКД ZT11, ВКД вода,  $p \leq 0,05$ .

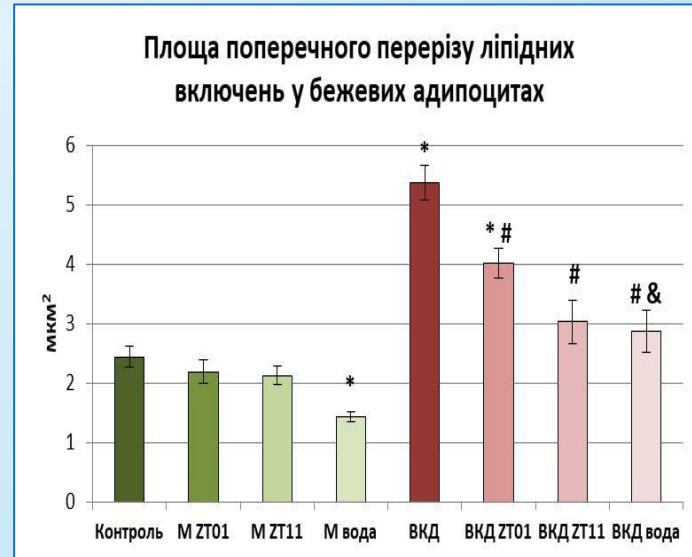
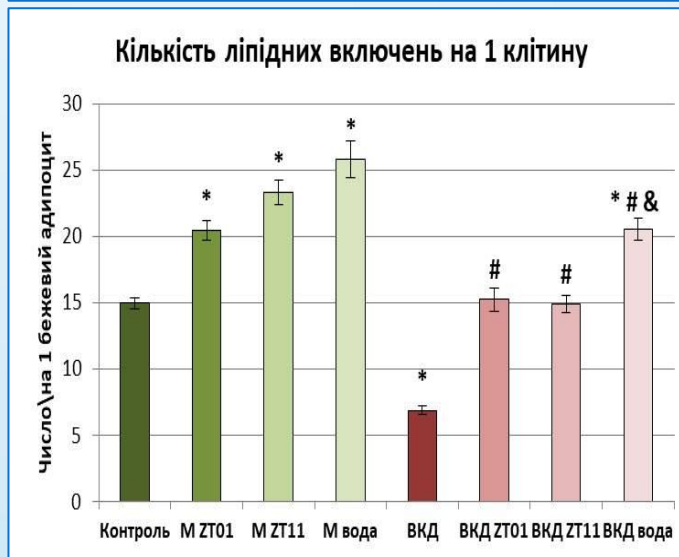
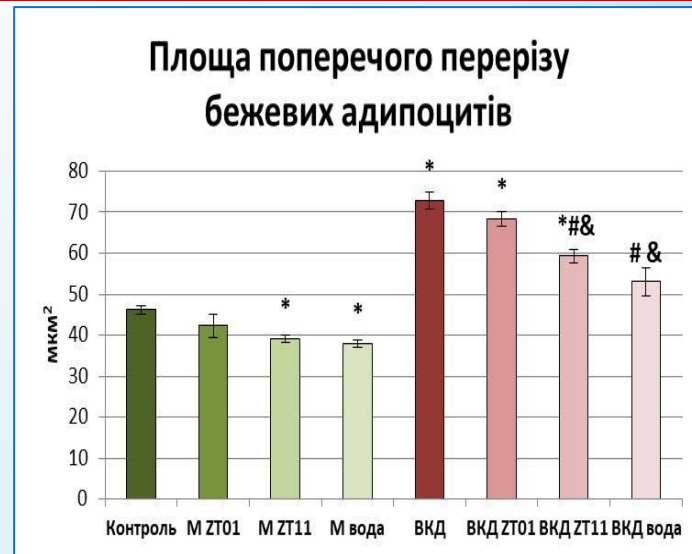
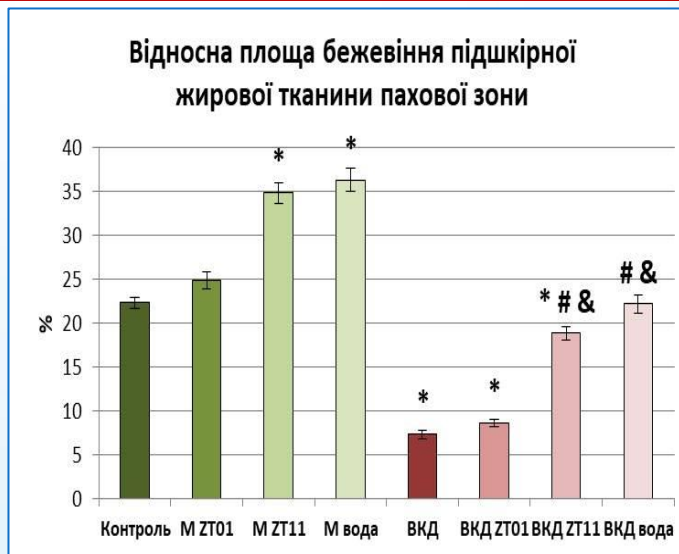
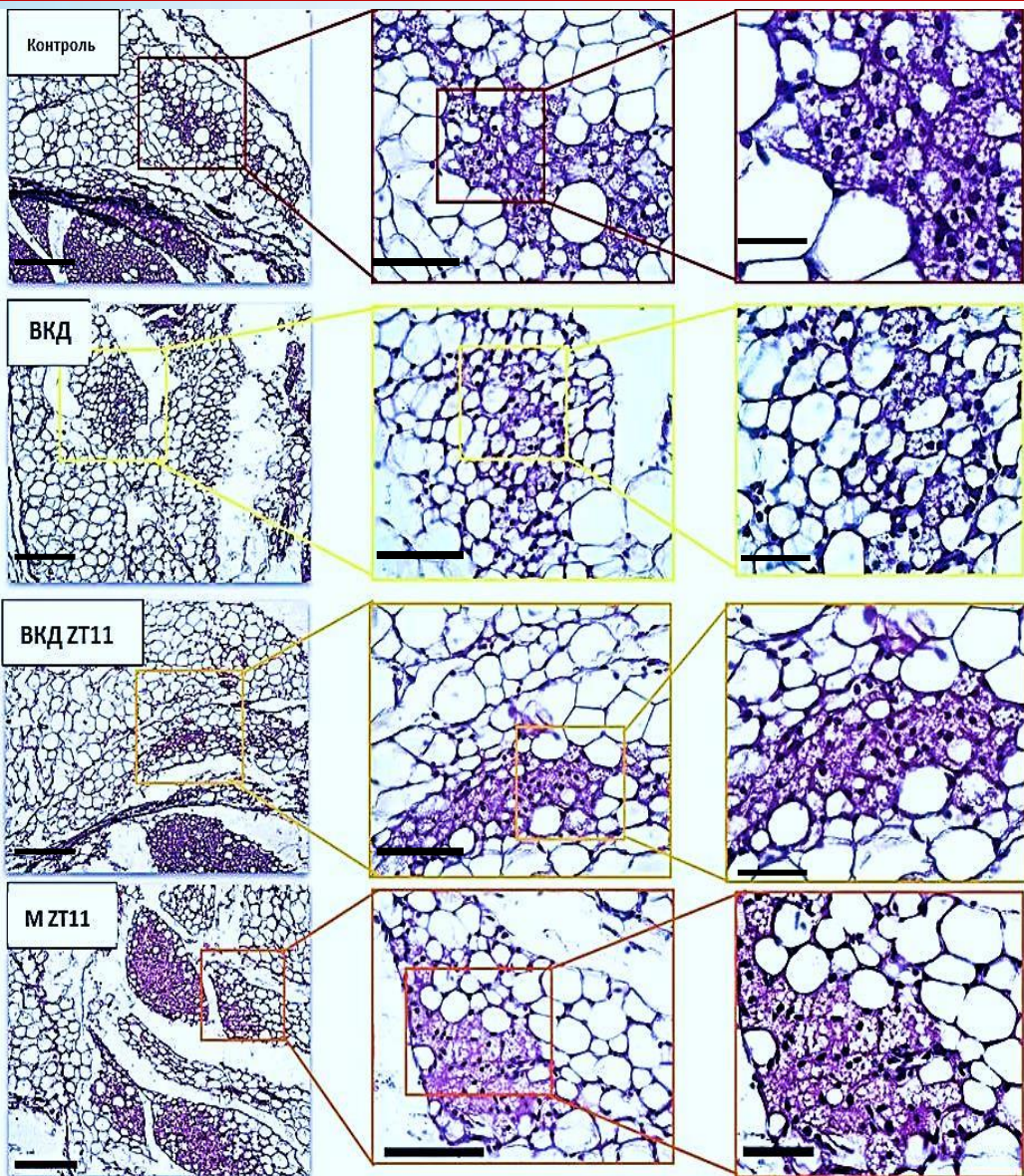
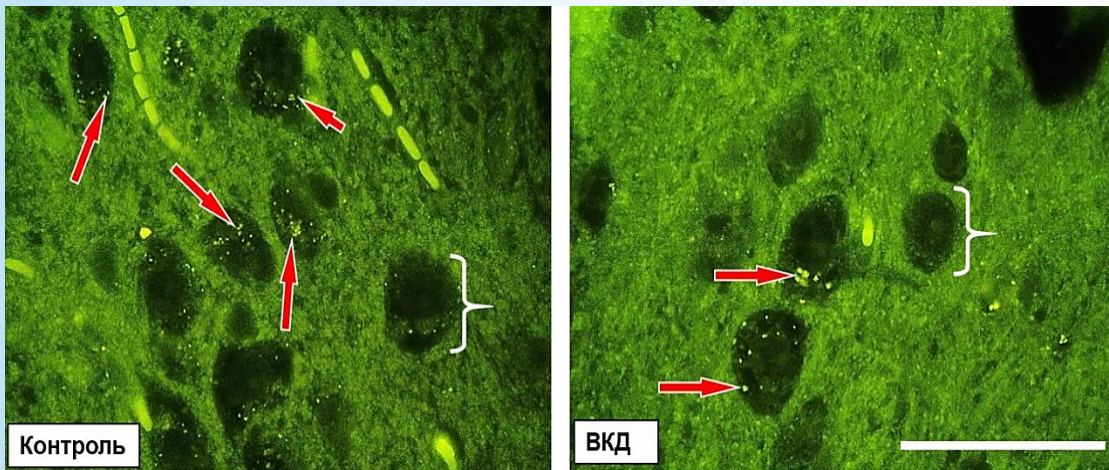
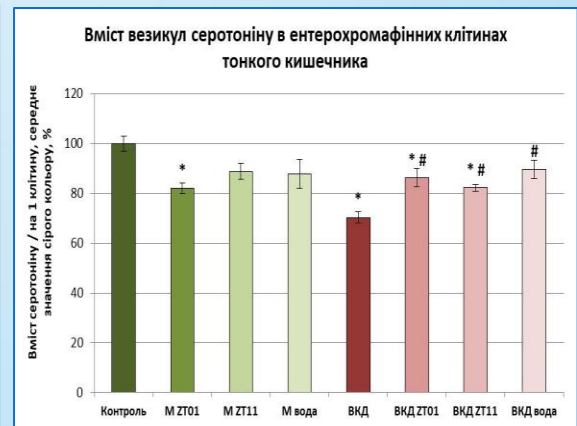
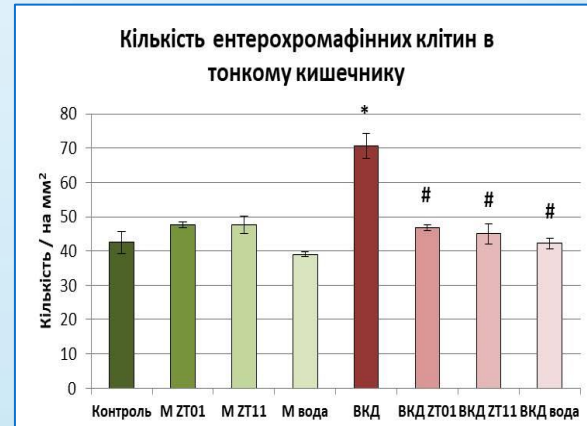
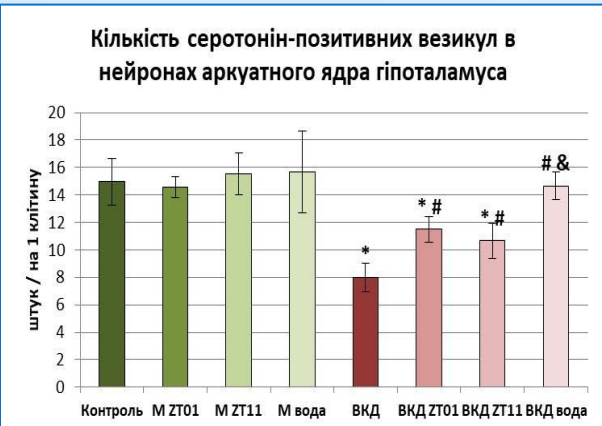
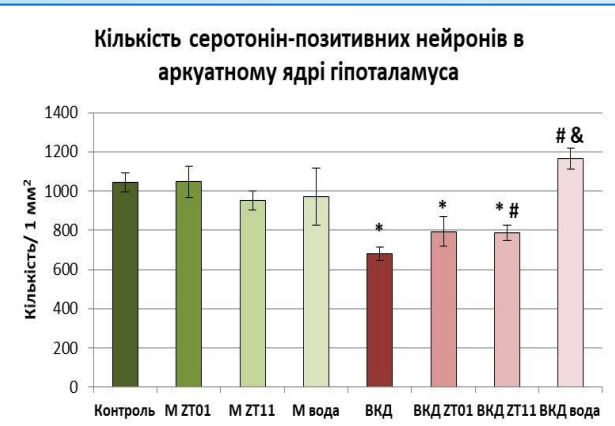


Рис. 25. Мікрофотографії підшкірної білої жирової тканини щура (пахова зона), забарвлення гематоксилін-еозином; шкала 100 μm, 50 μm, 20 μm; зб. 100, 400, 1000.

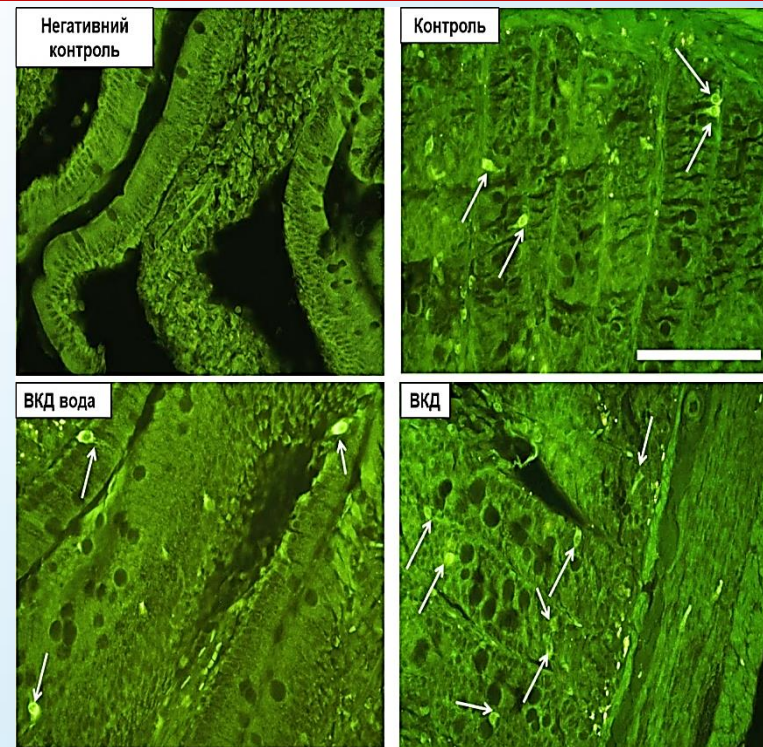


**Рис. 26.** Мікрофотографії зрізів аркуатного ядра гіпоталамуса, гістохімічна реакція на виявлення серотоніну за допомогою формальдегід-індукованої флуоресценції за методом Фалька-Хілларпа з модифікаціями. **Стрілками** позначені везикули з серотоніном, **фігурна дужка** – перикаріони нейронів. Флуоресцентна мікроскопія, довжина хвилі 410/525 нм. Шкала 50  $\mu\text{m}$  (зб. 1000)



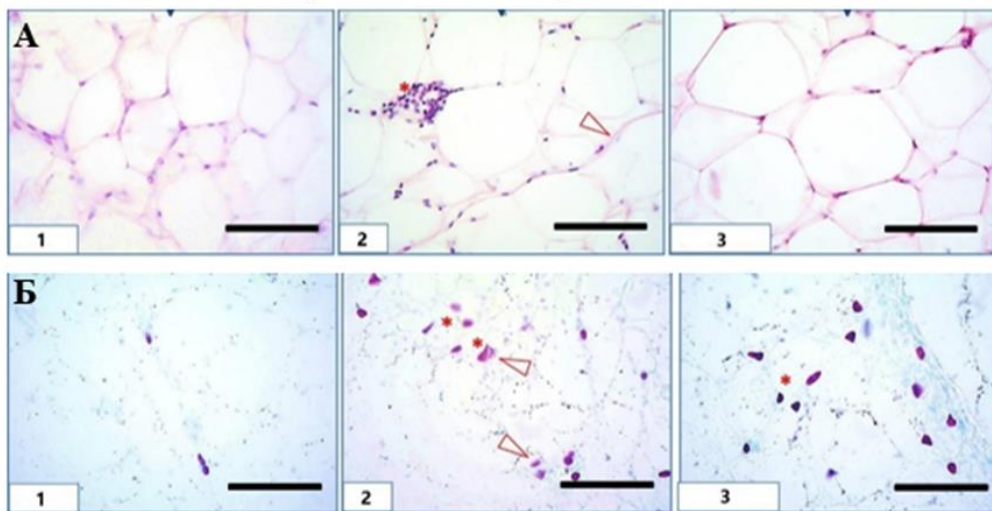
**Рис. 27.** Мікрофотографії зрізів тонкого кишечника, гістохімічна реакція на виявлення серотоніну за допомогою формальдегід-індукованої флуоресценції за методом Фалька-Хілларпа з модифікаціями, крім негативного контролю (фіксація у етанолі). **Стрілками** позначені ентерохромафінні клітини. Флуоресцентна мікроскопія, довжина хвилі 410/525 нм. Шкала 100  $\mu\text{m}$  (зб. 400).

\* – достовірна різниця між контрольною групою та дослідними групами,  $p \leq 0,05$   
 # – достовірна різниця між групою ВКД та ВКД ZT01, ВКД ZT11 і ВКД вода,  $p \leq 0,05$   
 & – достовірна різниця між ВКД ZT01 та ВКД ZT11, ВКД вода,  $p \leq 0,05$ .

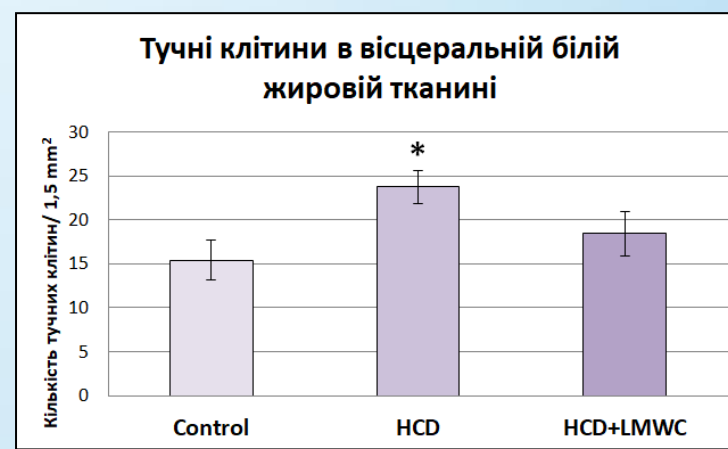
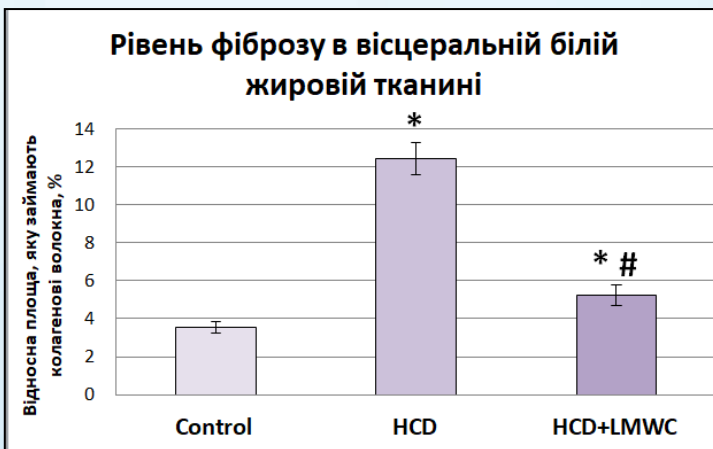
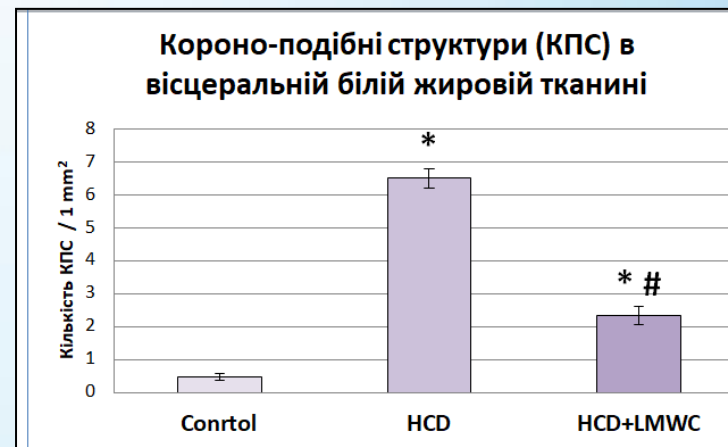
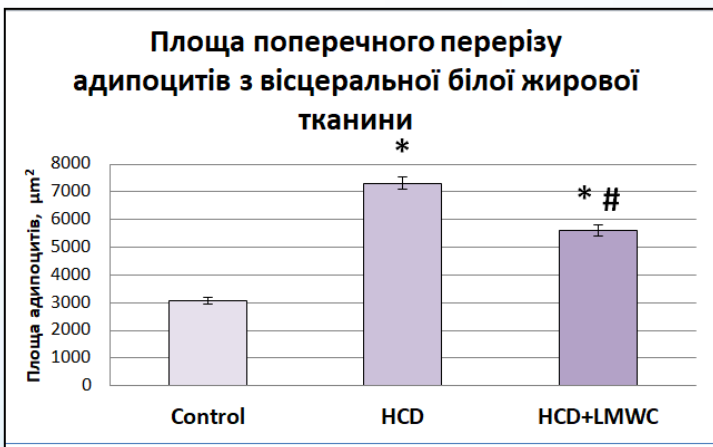
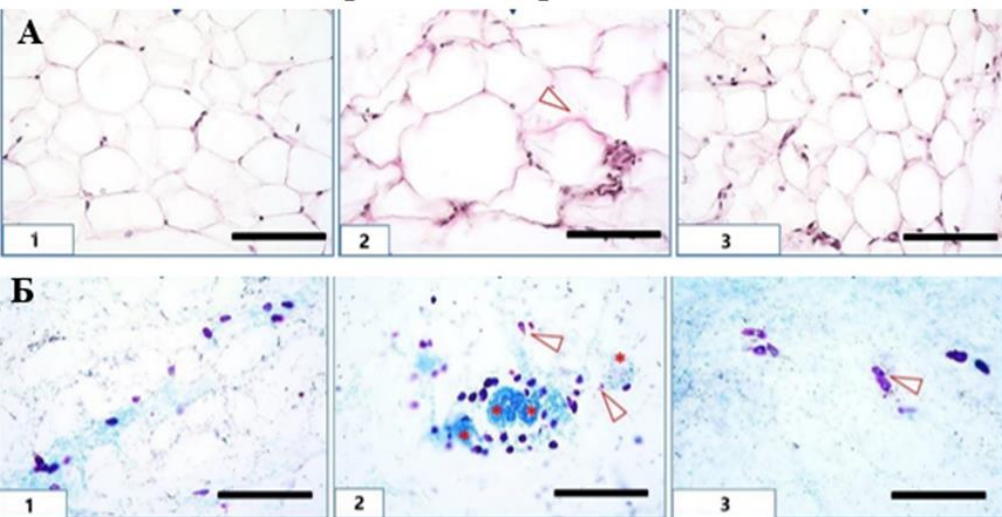


# Морфо-функціональний стан білої жирової тканини за умов ожиріння та споживання пептидів колагену з морських риб

## Вісцеральна біла жирова тканина



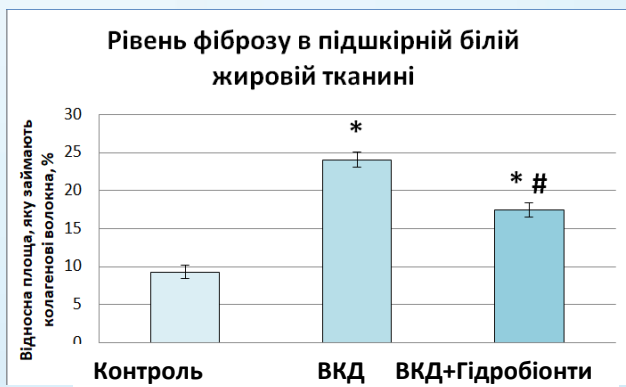
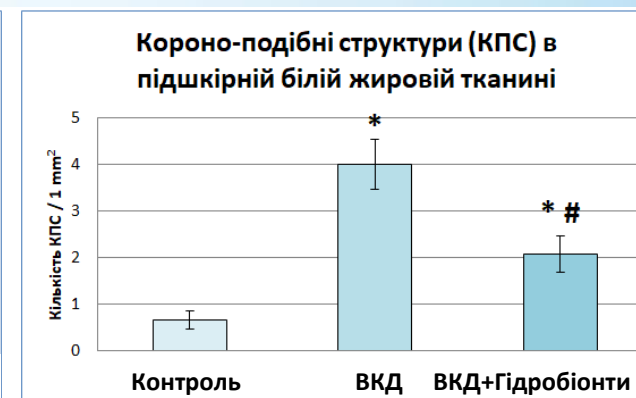
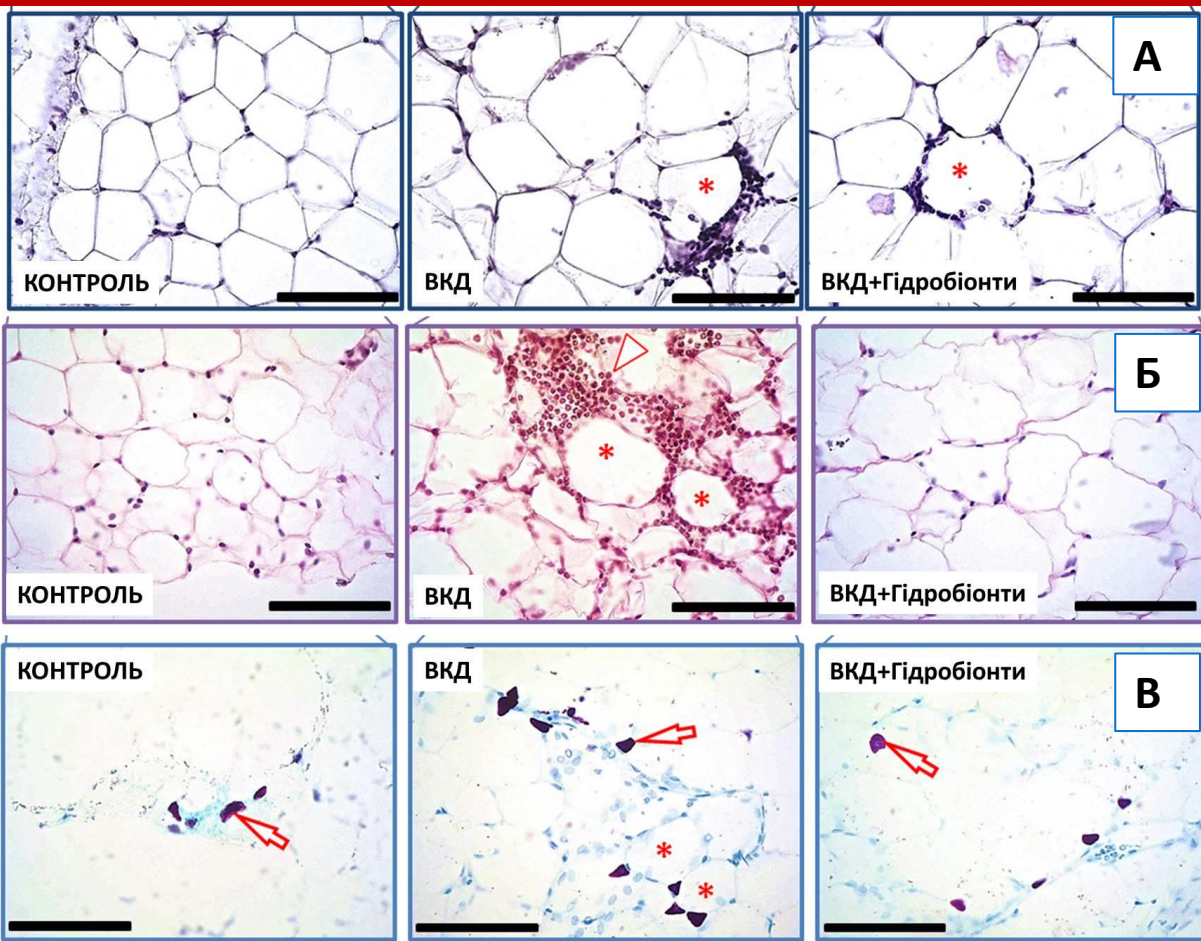
## Підшкірна біла жирова тканина



**Рис. 28.** Мікрофотографії гістохімічного виявлення колагенових волокон (А) (зірочки - корона-подібні структури; стрілки - колагенові волокна. Забарвлення за Ван Гізоном; колагенові волокна забарвлені в червоний колір; шкала 100 мкм) та тучних клітин (Б) (зірочки - корона-подібні структури; стрілки - дегранульовані тучні клітини. Забарвлення толудіновим синім; гранули тучних клітин мають рожевий колір; шкала 100 мкм) у білій жировій тканині:

1 – контроль; 2 – ожиріння; 3 – ожиріння + фракція пептидів колагену

# Морфо-функціональний стан білої жирової тканини за умов ожиріння та споживання пептидів з гідробіонтів



**Рис. 29.** Мікрофотографії білої жирової тканини груп: контроль; ожиріння (ВКД); 3 – ожиріння + Гідробіонти.

Забарвлення гематоксилін-еозином (А), виявлення колагенових волокон за Ван Гізоном (Б) та тучних клітин толуїдиновим синім (В). Зірочки - корона-подібні структури; стрілки – дегранульовані тучні клітини. Шкала 100 мкм



## Висновки:

1. Після введення стрептозоцину у щурів зростає поріг больової чутливості, що є свідченням розвитку ДП. Гістологічні дослідження сідничного нерва щурів з ДП показали виражені дистрофічно-дегенеративні зміни в нервових волокнах. Після 9-денного введення Кокарніту больова чутливість та структура нерва відновлювались.
2. В сідничних нервах щурів з ДП виявлено: зміни вмісту холестеролу та вільних жирних кислот, зниження вмісту фосфатидилетаноламіну та збільшення сфінгомієліну, фосфатидилсерину, фосфатидилінозитулу і лізофосфатидилетаноламіну, зниження швидкості проведення нервового імпульсу по сідничному нерву та амплітудно-силових параметрів м'язової реакції, розвиток втомлювальних процесів та порушення точнісних рухів. Кокарніт значно покращував біомеханічні параметри скорочення м'язу *m. gastrocnemius*, вміст певних ліпідів та окремих фосfolіпідів повертався до контрольних значень.
3. У щурів із ДП збільшувалось утворення продуктів перекисного окиснення ліпідів та активність ферментів антиоксидантної системи. Вміст факторів росту VEGF, NGF, bFGF, протеази Caspase-3 та вміст тканинного активатора плазміногену tPA та його інгібітора PAI-1 знижувався в гомогенаті нерва щурів з ДП. При цьому вміст транскрипційного фактора NF-κB та матриксних металопротеїназ MMP 2 та MMP 9 зростає. Після введення Кокарніту більшість досліджуваних показників відновлювались до контрольних значень.
4. Мелатонін покращує стан нейроімуноендокринної системи щурів за умов розвитку ожиріння, індукованого споживанням ВКД, що в сумі призводило до зменшення відносної маси вісцерального жиру, швидкості приросту маси та індексу маси тіла. За умов вечірнього та безперервного режимів уведення мелатонін повертає більшість досліджених показників до рівня контрольних значень, натомість при ранковому режимі – більшість із них мають проміжні значення: відрізняються від контрольної групи та групи з ожирінням.
5. Показано, що інноваційні біотехнологічні продукти природнього походження (екстракт квасолі звичайної (*Phaseolus vulgaris*), фрагменти колагену низької молекулярної маси з шкіри риб антарктичних широт та пептиди з морських гідробіонтів (*Adamussium Colbecki*) демонструють чіткий ефект проти ожиріння. Вони не тільки зменшують масу тіла, але й покращують морфологічні та показники запалення в організмі: зменшується гіпертрофія адипоцитів, кількість короноподібних структур – маркерів хронічного запалення, а також інфільтрація імунних клітин і кількість тучних клітин зменшуються як у вісцеральній та підшкірній білій жировій тканині щурів із ожирінням.
6. Інтенсифікація вуглеводного обміну викликається активацією рецепторів епідермального фактора росту та Toll-подібних рецепторів, що виявляється в підвищенні синтезу с-Мус, глікозаміногліканів і нейтральних вуглеводів в цитоплазмі мезенхімальних стромальних клітин *in vitro*, демонструючи непрямі метаболічні ознаки підвищення регенеративного потенціалу клітин.





## Публікації та практична цінність:

**За матеріалами роботи опубліковано:**

**58 наукові праць:** 1 колективна монографія у зарубіжному виданні, 34 статті: 16 статей в журналах, включених до категорії "А" (у т.ч. 11 у зарубіжних виданнях), та 18 статей у журналах, включених до категорії "Б", 21 тез доповідей. Отримано 1 патент на винахід України, 1 патент на корисну модель.

**Загальна кількість посилань** на публікації авторів/h-індекс за роботою згідно з базами даних складає відповідно: Web of Science 18 / 3, Scopus 34/4, Google Scholar 64/8 .

**Практичне значення отриманих результатів.** Одержані результати доповнюють уявлення про патогенез діабетичної полінейропатії та механізми дії Кокарніту. Відновлюючий вплив Кокарніту на нервовову провідність та механокінетичні параметри скорочення *m. gastrocnemius* у щурів з ДП показують ефективність досліджуваного препарату на лікування захворювання. Проведені дослідження розширили реєстраційне досвід на препарат Кокарніт, що відображено в інструкції. Його з успіхом застосовують в усіх клініках ендокринологічного та неврологічного профілю. Нами встановлений оптимальний термін застосування Кокарніту при полінейропатіях різного генезу, в тому числі і при компресійній нейропатії, яка часто є результатом поранень та контузій наших солдатів. Покази, що наведені в інструкції: неврити, нейропатії; невралгії різного генезу; міалгія, ішіалгія; люмбаго, радикуліт; бурсити, тендиніти; ІХС; міокардити; міокардіопатії. Наші військові часто стикаються з більшістю наведених хвороб, а також з ураженнями нервів різного генезу. Доведено, що Кокарніт – ефективний препарат для їх лікування.

Доведена дія мелатоніну на покращення морфо-функціонального стану нейроімуноендокринної системи за умов розвитку висококалорійного ожиріння без спричинення побічного впливу у контрольних тварин, що є теоретичною передумовою для подальшого розгляду на можливість його використання в терапії ожиріння саме з застосуванням хронотерапевтичного підходу у галузі персоналізованої медицини. Отримані результати впроваджуються в навчальній процес при підготовці курсів «Загальна цитологія» та «Гістологія» (мікрофотографії різних типів жирової тканини), «Біологія індивідуального розвитку» (практичне використання даних маси тіла для ознайомлення з рівняннями для опису росту). Показана подальша перспективність для поглибленого вивчення інноваційних біотехнологічних продуктів природнього походження (екстракту квасолі звичайної (*Phaseolus vulgaris*), фрагментів колагену низької молекулярної маси з шкіри риб антарктичних широт та пептидів з морських гідробіонтів (*Adamussium Colbecki*) як потенційних речовин для зменшення ускладнень ожиріння.