

ДЕРЖАВНИЙ ВИЩИЙ НАВЧАЛЬНИЙ ЗАКЛАД
“ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ імені І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО
МІНІСТЕРСТВА ОХОРОНИ ЗДОРОВ’Я УКРАЇНИ”

МЯЛЮК ОКСАНА ПЕТРІВНА

УДК 616-056.52-06:61.015.11

**ОСОБЛИВОСТІ ПЕРЕБІГУ ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНОГО Й
ЕНЕРГОЗАБЕЗПЕЧУВАЛЬНОГО ОКИСНЕННЯ ПРИ
ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ АЛІМЕНТАРНОМУ ОЖИРІННІ**

03.00.04 – біохімія

АВТОРЕФЕРАТ

дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата біологічних наук

Тернопіль – 2016

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана у Державному вищому навчальному закладі «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України».

Науковий керівник:

доктор біологічних наук, професор **Кліщ Іван Миколайович**, Державний вищий навчальний заклад «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України», проректор з наукової роботи, професор кафедри клініко-лабораторної діагностики.

Офіційні опоненти:

доктор біологічних наук, професор **Грубінко Василь Васильович**, Тернопільський національний педагогічний університет імені Володимира Гнатюка МОН України, завідувач кафедри біології та методики викладання природничих дисциплін;

доктор біологічних наук, професор **Ерстенюк Ганна Михайлівна**, Державний вищий навчальний заклад «Івано-Франківський національний медичний університет» МОЗ України, перший проректор, завідувач кафедри біологічної та медичної хімії імені академіка Г.О. Бабенка.

Захист відбудеться «30» червня 2016 р. об 11⁰⁰ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради К 58.601.04 у Державному вищому навчальному закладі «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України» за адресою: 46001, м. Тернопіль, Майдан Волі, 1.

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Державного вищого навчального закладу «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України» за адресою: 46001, м. Тернопіль, вул. Січових Стрільців, 8.

Автореферат розісланий «28» травня 2016 року.

Вчений секретар спеціалізованої вченої ради,
кандидат біологічних наук, доцент

Т.Я. Ярошенко

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. З кожним роком зростає інтерес науковців та лікарів-практиків до аліментарного ожиріння як серйозної загрози здоров'ю населення (Nguyen D.M. et al., 2010). Сьогодні надмірна маса тіла зустрічається у понад 30 % населення економічно розвинених країн і ця тенденція швидко поширюється в країнах, що розвиваються (Ogden C.L. et al., 2006). Тому ожиріння розглядається як глобальна епідемія, що охопила різні верстви населення (Crowley V.E., 2008), широко варіює у представників різних рас і етнічних груп (Wang Y., Beydoun M.A., 2007) і залежить від соціально-економічного розвитку та рівня освіти (Ogden C.L. et al., 2010). Наявність аліментарного ожиріння підвищує ризик розвитку цукрового діабету 2 типу, гіпертонії, ішемічної хвороби серця, деяких видів раку, остеоартриту, захворювань дихальних шляхів, а також порушень репродуктивної функції і є причиною значного зростання захворюваності та смертності (German A.J. et al., 2010). Тому фахівці зацікавлені у глибшому вивченні різних аспектів ожиріння з метою кращого розуміння факторів і процесів, що спричиняють його розвиток і прогресування, а також розроблення шляхів вирішення цієї важливої медико-соціальної проблеми.

Жирова тканина є найбільшим ендокринним органом в організмі людини, і коли відбувається її надмірне розростання, поступово розвиваються метаболічні зміни (Pastucha D. et al., 2013). Епідеміологічні, клінічні та експериментальні дослідження ожиріння свідчать про те, що за цієї патології змінюються окиснювально-відновні процеси (Krzystek–Korpacka M. et al., 2008; Karaouzene N. et al., 2011; Tran B. et al., 2012; Hermsdorff H.H. et al., 2012; Warolin J. et al., 2013). Порушення жирового і вуглеводного обміну при ожирінні тісно пов'язані з активацією вільнорадикального окиснення та зміщенням балансу між про- та антиоксидантами. Оксидативний стрес, що при цьому розвивається, зумовлює глибоку перебудову обміну речовин і механізмів його регуляції у тканинах внутрішніх органів (Кулешова Д.К. и соавт., 2012). З іншого боку, аліментарне ожиріння пов'язується з хронічним в'ялопротікаючим запаленням.

Загалом, зважаючи на багатоконпонентність механізмів виникнення і прогресування аліментарного ожиріння, складно вибудувати їх у певну послідовність, що вимагає пошуку певних факторів, які б встановили закономірності розвитку цієї патології. Результати досліджень макро- та мікроелементного складу тканин організму при ожирінні є неоднозначними (Taneja S.K., Mandal R., 2008). Доведено, що ожиріння пов'язане з високою частотою дефіциту мікронутрієнтів, найчастіше вітаміну D, феруму, вітаміну B₁₂ і тіаміну. В основі дефіциту мікронутрієнтів можуть лежати порушення експресії транспортних білків через хронічне запалення, малий синдром кишкового розростання, а також неправильна харчова поведінка унаслідок вживання продуктів з високою енергетичною цінністю, але низьким вмістом

поживних мікроелементів (Stein J. et al., 2014). Окремі літературні дані вказують на суттєвий дисбаланс біоелементного складу крові і тканин організму при аліментарному ожирінні (Yerlikaya F.H. et al., 2013), що потребує глибшого вивчення.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота є фрагментом комплексної науково-дослідної роботи ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України» на тему «Біохімічні механізми токсичності наночастинок різної природи та інших антропогенних і біогенних токсикантів в біологічних системах» (№ держреєстрації 0112U000542), в якій здобувач є співвиконавцем.

Мета дослідження. З'ясувати особливості процесів біологічного окиснення та роль макро- і мікроелементного складу біологічних субстратів у їх регуляції за умов експериментального аліментарного ожиріння.

Завдання дослідження:

1. Дослідити особливості вуглеводного, ліпідного й білкового обмінів у крові лабораторних тварин (білі щури) з експериментальним аліментарним ожирінням.

2. З'ясувати динаміку показників ліпідної пероксидації та антиоксидантної системи, інтенсивності ендогенної інтоксикації за умови досліджуваної патології.

3. Дослідити показники системи мітохондріального окиснення та стану мембранних структур у тварин з експериментальним ожирінням.

4. Встановити біохімічні маркери пошкодження печінки на тлі експериментального аліментарного ожиріння.

5. Визначити вміст макро- і мікроелементів крові і тканини печінки на тлі експериментального аліментарного ожиріння та з'ясувати їх роль у регуляції процесів біологічного окиснення.

Об'єкт дослідження – аліментарне ожиріння у щурів.

Предмет дослідження – показники вуглеводного, ліпідного і білкового обміну, жовчоутворювальна, жовчовидільна, детоксикаційна функції печінки, активність вільнорадикальних процесів і стан антиоксидантного захисту, інтенсивність мітохондріального окиснення, макро- та мікроелементний склад тканин при аліментарному ожирінні.

Методи дослідження: біометричні (визначення маси, вимірювання довжини, окружності грудей і живота щурів, індекс маси тіла); масометричний (визначення маси органів тварини); біохімічні (визначення вмісту глюкози, холестеролу, триацилгліцеролів, ТБК-активних продуктів, дієнових кон'югатів, загального, відновленого і окисненого глутатіону, показників окиснювальної модифікація білків, сумарних метаболітів оксиду азоту, активностей супероксиддисмутази, каталази, глутатіонредуктази, глутатіонпероксидази, церулоплазміну, сукцинатдегідрогензи, цитохромоксидази, H^+ -АТФ-ази, вмісту сироваткового феруму, магнію, речовин низької і середньої молекулярної маси; атомно-абсорбційне дослідження мікроелементного складу

крові і тканин печінки: цинку, купруму, магнію; імуноферментні (адипонектин, лептин); цитофлюориметричні (рівень активних метаболітів оксигену клітин лейкоцитарної суспензії, частка клітин зі зниженим трансмембранним потенціалом, частка лейкоцитів з ознаками апоптозу і некрозу; тривалість тіопенталового сну); статистичні (аналіз отриманих цифрових даних).

Наукова новизна одержаних результатів. Уперше на підставі визначення метаболічних факторів, рівня розвитку оксидативного стресу та встановлення ролі макро- і мікроелементів у регуляції процесів біологічного окиснення з'ясовано окремі аспекти розвитку експериментального аліментарного ожиріння, які свідчать про порушення біохімічних процесів у печінці при досліджуваній патології.

Встановлено у тварин з аліментарним ожирінням порушення жовчоутворювальної функції, які характеризуються підвищенням вмісту холестеролу, зниженням суми жовчних кислот поряд зі збільшенням показників холато-холестеринового коефіцієнта у жовчі; детоксикуючої функції печінки, що проявляється кількісним наростанням та якісним перерозподілом речовин низької і середньої молекулярної маси між плазмою крові й еритроцитами, переважно катаболічного походження, що негативно впливає на їх елімінацію нирками. Доведено активацію процесів ліпідної і білкової пероксидації на фоні гіперпродукції кисневих радикалів.

Уперше встановлено мітохондріальний шлях ініціації апоптозу через зниження трансмембранного потенціалу, дезорганізацію енергозабезпечувального окиснення у гепатоцитах, що веде до розвитку цитолітичного синдрому, який проявляється підвищенням активності амінотрансфераз у крові та печінці та загибеллю лейкоцитів у тканині печінки по типу апоптозу. З'ясовано порушення макро- і мікроелементного обмінів у щурів з аліментарним ожирінням, зокрема підвищення вмісту купруму, зниження вмісту цинку і магнію в тканині печінки, та встановлено їх роль у процесах біологічного окиснення. Доведено, що активація супероксиддисмутази і каталази через 14 діб досліду прямо пов'язана з рівнем цинку та купруму, що забезпечує регуляцію рівня пероксидації на стадії ініціювання ланцюгів окиснення. При цьому виявлено, що вміст ТБК-реактивних позитивно корелює з вмістом купруму, рівень окисно модифікованих білків прямо корелює з рівнем сироваткового феруму і негативно – з вмістом цинку у крові.

Практичне значення одержаних результатів. Експериментально підтверджені зміни макро- та мікроелементного складу крові та тканин печінки при аліментарному ожирінні та їх взаємозв'язок з процесами вільнорадикального окиснення, що науково обґрунтовує доцільність та перспективність поглибленого дослідження ролі мікро- і макроелементного складу при аліментарному ожирінні та відкриває нові можливості для комплексного вивчення цієї патології на рівні організму.

На основі отриманих результатів запропоновано схему розвитку порушень у печінці за умови аліментарного ожиріння.

Результати роботи впроваджено в практику наукових досліджень та навчальний процес на кафедрах медичної біохімії Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова, Державного вищого навчального закладу «Івано-Франківський національний медичний університет» МОЗ України, медичної біохімії, клініко-лабораторної діагностики Державного вищого навчального закладу «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України», клінічної лабораторної діагностики Національної медичної академії післядипломної освіти імені П.Л. Шупика.

Особистий внесок здобувача. Автором самостійно проведено патентно-інформаційний пошук, аналіз літератури з досліджуваної проблеми. Разом з науковим керівником поставлено мету, сформульовано завдання дослідження, розроблено програму наукових досліджень, сформульовано висновки. Здобувачем самостійно проведено статистичну обробку, аналіз та узагальнення результатів дослідження, написано й оформлено дисертаційну роботу. Експериментальну частину роботи виконано на базі Центральної науково-дослідної лабораторії (свідоцтво про атестацію № 052/13 від 04.03.2013 р.) та міжкафедральної науково-клінічної лабораторії (свідоцтво про атестацію № 053/13 від 04.03.2013 р.) ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України», науково-дослідної лабораторії атомно-абсорбційного аналізу Центру колективного користування обладнанням для морфологічних досліджень Сумського державного університету (свідоцтво про атестацію № 0978/11 від 18.04.2011 р.).

У наукових працях, опублікованих у співавторстві, здобувачу належать виконання експериментальних досліджень, статистична обробка та узагальнення отриманих даних, підготовка матеріалів до друку.

Апробація результатів дисертації. Результати дисертаційної роботи оприлюднено на XIX та XX Міжнародних медичних конгресах студентів і молодих вчених (Тернопіль, 2014, 2015), VII Міжнародній науковій конференції «Психофізіологічні та вісцеральні функції в нормі і патології» (Київ, 2014), VII та VIII науково-практичних конференціях «Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм» (Тернопіль, 2014, 2015), IX науково-практичній конференції молодих вчених і студентів ім. Абуалі ібні Сіно з міжнародною участю «Впровадження досягнень медичної науки в клінічну практику» (Душанбе, 2014; 2015), науково-практичній конференції з міжнародною участю «Актуальні питання клініко-лабораторної і функціональної діагностики з клінічною патофізіологією» (Самарканд, 2015).

Публікації. Основні положення роботи висвітлені у 15 публікаціях, із яких: 4 – у фахових наукових виданнях України, 2 – у періодичних іноземних виданнях, 8 – у матеріалах наукових конгресів і конференцій та 1 патент України на корисну модель.

Структура та обсяг дисертації. Дисертація складається з вступу, 4 розділів, висновків, списку використаних джерел, 5 додатків. Роботу викладено на 142 сторінках комп'ютерного тексту, проілюстровано 19 таблицями, 13

рисунками. Список використаних джерел налічує 281 найменування. Бібліографічний опис літературних джерел та додатки викладені на 36 сторінках.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріали і методи дослідження. Дослідження проведені на 96 білих нелінійних щурах-самцях віком 3–4 місяці масою 170–180 г, яких утримували у віварії ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я.Горбачевського МОЗ України» на стандартному раціоні у відповідності до санітарно-гігієнічних норм та вимог GLP. Всі експерименти виконано з дотриманням норм Конвенції Ради Європи про захист хребетних тварин, що використовуються для досліджень та інших наукових цілей (Страсбург, 1986 р.), ухвали Першого національного конгресу з біоетики (Київ, 2001) і наказу МОЗ України № 690 від 23.09.2009 р. Комісією з питань біоетики ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я.Горбачевського МОЗ України» (протокол № 31 від 19.10.2015 р.), порушень морально-етичних норм при проведенні науково-дослідної роботи не виявлено.

Для відтворення аліментарного ожиріння використано модель проф. Герасимюка І.Є. в нашій модифікації (патент України № 87711): введення глютамату натрію до кормової суміші у співвідношенні 0,6:100,0 і зміни харчового раціону – додавання висококалорійної дієти, яка складається із стандартної їжі (47 %), солодкого концентрованого молока (44 %), кукурудзяної олії (8 %) і рослинного крохмалю (1 %) (дієта С 11024, Research Diets, New Brunswick, NJ). Для підтвердження аліментарного ожиріння визначали масу вісцерального жиру (білатерально виділяли ретроперитонеальну жирову тканину), яка через 28 діб експерименту становила 4,6 % від маси тіла тварини (у тварин контрольної групи – 3,2 %).

Усіх тварин поділили на експериментальні групи: контрольна – інтактні тварини (6 щурів); перша дослідна – термін спостереження через 14 діб після початку експерименту (12 щурів); друга дослідна – через 28 днів після початку експерименту (12 щурів). Тварин виводили з експерименту шляхом введення тіопенталу натрію в дозі 90 мг/кг маси тварини.

Для дослідження брали цільну кров, сироватку і плазму крові, жирову тканину і тканини печінки.

З метою оцінки окремих біохімічних процесів експериментального ожиріння у тварин визначали показники вуглеводного, білкового і ліпідного обмінів, пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ), окиснювальної модифікації білків (ОМБ), системи антиоксидантного захисту, показники енергозабезпечення клітин, синдром ендогенної інтоксикації, макро- і мікроелементний склад крові і тканини печінки, шляхи ініціації клітинної загибелі в динаміці розвитку процесу.

За допомогою біохімічних методів дослідження у сироватці крові визначали вміст загального білка, альбумінів, концентрацію глюкози, триацилгліцеролів, загального холестеролу, активність ензимів: аланінамінотрансферази (АлАТ; КФ 2.6.1.2), аспартатамінотрансферази (АсАТ;

КФ 2.6.1.1), рівень сироваткового феруму, магнію. Комплекс біохімічних досліджень проводили на біохімічному напівавтоматичному аналізаторі «Humalyzer» (Human, Німеччина). Підготовку проб і визначення біохімічних показників проводили відповідно до інструкцій приладів з використанням реактивів «Human» (Німеччина) за загальними методиками. Методом атомно-абсорбційної спектрометрії визначали вміст купруму, цинку, магнію у цільній крові та тканині печінки (М.В. Погорелов, 2010).

Інтенсивність вільнорадикального окиснення та стану антиоксидантної системи оцінювали за вмістом ТБК-активних продуктів (Коробейникова Э.Н., 1989), дієнових кон'югатів (ДК) (Гріднев О.Є., 2005) у супернатанті гемолізатів еритроцитів, плазмі крові, гомогенаті жирової тканини і тканині печінки, продуктів окиснювальної модифікації білків (Арчаков А.И., 1998), супероксидного аніон-радикала (Цебржинский О.И., 2002), активність супероксиддисмутази (СОД; КФ 1.15.1.11) (Чевари С., 1985) і каталази (КТ; КФ 1.11.1.6) (Королюк М.А., 1988), концентрацію відновленого і окисненого глутатіону (Moffat J.A., 1982), глутатіонпероксидазної (Gordon C. Mills., 1959) та глутатіонредуктазної активностей (Ramos–Martinez J. I., 1985). Синдром ендогенної інтоксикації оцінювали за вмістом речовин низької і середньої молекулярної маси (Urakova T.YU., 2009). Показники вуглеводного обміну визначали за концентрацією лептину й адипонектину методом ІФА з використанням наборів фірми DRG (Німеччина). Показники енергозабезпечення клітин включали визначення активності сукцинатдегідрогенази (СДГ; КФ 1.3.99.1) (Орехович В.Н., 1977), цитохромоксидази (ЦХО; КФ 1.9.3.1) (Straus W., 1954) і протонної АТФ-ази (H⁺-АТФ-ази; КФ 3.6.1.3.) (Губский Ю.И., 1982). Для дослідження шляхів ініціації апоптозу визначали рівень активних метаболітів оксигену (АМО) в лейкоцитах за допомогою дихлорфлюоресцеїну діацетату («Sigma Aldrich», США), кількість клітин зі зниженим трансмембранним потенціалом за допомогою JC-1, («Sigma Aldrich», США). Для оцінки індукованої загибелі клітин лейкоцитарної суспензії використовували FITC-мічений анексин V та пропідію йодид (PI) з набору реагентів «ANNEXIN V FITC» виробництва «Beckman Coulter» (США).

Статистичну обробку цифрових даних здійснювали за допомогою програмного забезпечення «Excel» («Microsoft», США) та «STATISTICA» 6.0 («Statsoft», США) з використанням параметричних і непараметричних методів оцінки одержаних даних. Для всіх показників розраховували значення середньої арифметичної вибірки (M), її дисперсії і помилки середньої (m). Достовірність різниці значень між незалежними кількісними величинами визначали при нормальному розподілі за критерієм Стьюдента, в інших випадках – за допомогою U-критерію Мана–Уїтні. Аналіз кореляційних зв'язків отриманих результатів проводили з використанням статистики Спірмена.

Результати досліджень та їх обговорення. Дослідження ліпідного й вуглеводного обміну через 28 діб експерименту свідчить про зростання у щурів з ожирінням показників вмісту глюкози на 7,2 %, індексу

інсулінорезистентності на 18,4 %, загального холестеролу на 54,7 % та триацилгліцеролів на 53,6 % щодо контролю ($p < 0,01$). Враховуючи, що жирова тканина забезпечує продукцію адипонектину і лептину, нами встановлено зростання концентрації лептину у 2 дослідній групі в 2,5 раза проти контрольних значень при тенденції до зниження рівня адипонектину, що супроводжувалося зниженням у 2,7 раза індексу адипонектин/лептин щодо групи контролю ($p < 0,01$). Порушення обміну білків за умови експериментального аліментарного ожиріння супроводжується тенденцією до зниження вмісту загального білка з вірогідним зниженням альбуміну (на 23,7 %) та зростанням глобулінів (на 43,1 %) у плазмі крові щодо даних у тварин контрольної групи ($p < 0,05$). Зниження вмісту альбумінів поруч з підвищенням окремих фракцій глобулінів свідчить про формування печінкової недостатності з порушенням білково-синтетичної функції.

За умови дієт-індукованого ожиріння (28 діб спостереження) відмічалось статистично достовірне зниження вмісту в жовчі загальних жовчних кислот (на 20,72 %, $p < 0,05$) і підвищення рівня холестеролу (на 155,26 %, $p < 0,05$). Відхилення вмісту в жовчі загальних жовчних кислот і холестеролу призвели до статистично значимого зменшення холато-холестеролового співвідношення через 28 діб після початку експерименту (на 68,42 %, $p < 0,05$). У другій дослідній групі відмічалось підвищення вмісту прямого білірубіну в жовчі на 28,79 %, що виявилось статистично достовірним ($p < 0,05$) і зумовило зростання ступеня кон'югації білірубіну (на 14,55%, $p < 0,10$). Отримані дані дозволяють припустити, що в механізмі порушення жовчоутворення за умови дієт-індукованого ожиріння лежить пошкодження мембран ендоплазматичного ретикулуму.

Відомо, що універсальні механізми реалізації дії токсичних ендо- та екзогенних чинників характеризуються активацією вільнорадикального окиснення (Дворщенко К. і співавт., 2010).

Дослідження рівня АМО лейкоцитарної фракції крові свідчило про зростання вмісту пероксиду водню через 14 діб експерименту в 1,3 раза, через 28 діб – у 2,6 раза проти даних у тварин контрольної групи ($p < 0,05$). Аналіз рівня АМО лейкоцитарної фракції тканин печінки показав зростання вмісту пероксиду водню через 14 діб експерименту в 1,5 раза, через 28 діб – у 3,4 раза щодо контролю ($p < 0,05$) (рис. 1).

Отримані дані свідчать про те, що за умови аліментарного ожиріння активується вільнорадикальне окиснення, яке переважає у печінці. Порівнюючи отримані дані, можна стверджувати, що печінка за умови аліментарного ожиріння є джерелом вільних радикалів, оскільки рівень АМО у лейкоцитарній фракції тканини печінки в 1,3 раза перевищував даний показник у крові.

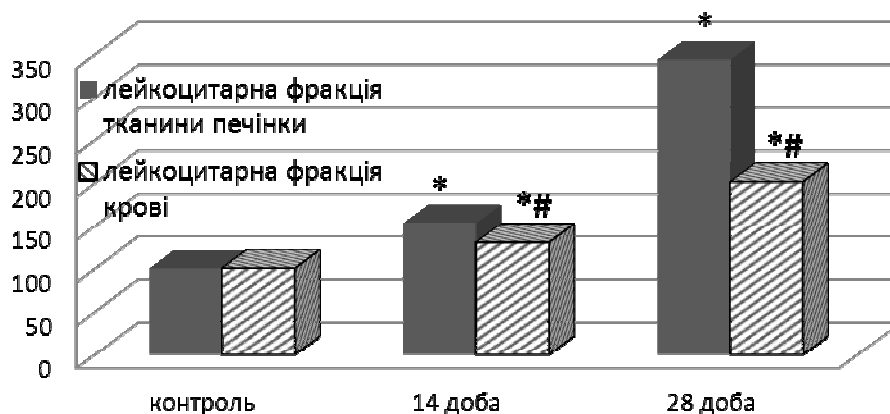


Рис. 1. Рівень пероксиду водню (%) лейкоцитарної фракції крові і тканини печінки щурів за умови аліментарного ожиріння.

Примітка. Тут і в наступних рисунках: * – вірогідність різниці щодо контролю ($p < 0,05$), # – вірогідність різниці між дослідними групами ($p < 0,05$).

До активних метаболітів кисню, окрім пероксиду водню, відносять також супероксидний аніон-радикал. Встановлено, що при аліментарному ожирінні збільшується НАДН – стимульований вихід супероксиду на 21,5 %, тоді як НАДФН – стимульований вихід супероксиду тільки має тенденцію до підвищення. Слід зазначити, що загальна продукція супероксидного аніон-радикалу в печінці на 13,2 % вища від показників контролю ($p < 0,05$) (табл. 1). Отже, найбільша роль в утворенні супероксид-аніон-радикалів належить мітохондріям.

Таблиця 1

Зміни продукції супероксидного аніон-радикала в тканині печінки за умови експериментального аліментарного ожиріння (M+m)

Показник	Контрольна група (n=12)	2 дослідна група (n=12)
$\cdot O_2^-$ (загальна продукція), мколь/(с*кг)	0,76±0,02	0,86±0,01*
$\cdot O_2^-$ (продукція від мікосом), мколь/(с*кг)	14,85±0,20	15,49±0,14
$\cdot O_2^-$ (продукція від мітохондрій), мколь/(с*кг)	16,42±0,15	20,03±0,23*

Примітка: * – різниця достовірна порівняно з контрольними тваринами ($p < 0,05$).

Аналіз показників пероксидного окиснення свідчить про підвищення вмісту первинних і проміжних продуктів ПОЛ у супернатанті гемолізатів еритроцитів, при цьому до кінця експерименту рівень ДК і ТБК-АП перевищував в середньому на 72,0 % дані контролю ($p < 0,05$). Такі ж зміни відмічалися у плазмі крові: рівень ДК у 2 дослідній групі був вищим на 70 % і ТБК-АП – на 119,2 %, ніж у контролі ($p < 0,05$). Проведені дослідження свідчили

про активацію процесів ліпопероксидації через 28 діб експерименту в гомогенаті печінки (ДК – в 2,3 раза, ТБК-АП – в 1,5 раза) і жировій тканині (ДК – в 1,8 раза, ТБК-АП – в 1,4 раза) ($p < 0,05$).

У тварин із змодельованим аліментарним ожирінням показники ОМБ зазнали виражених змін. Встановлено, що за умови аліментарного ожиріння через 14 діб експерименту на фоні практично незміненого показника КФГ зростає рівень АФГ. Через 28 діб дослідження в щурів у гомогенаті печінки у сполуках зростає як альдегідо-, так і кетопохідні (рис. 2). Отже, у тварин зі змодельованим аліментарним ожирінням спонтанне окиснювання білків у печінці вказує на ініціацію процесів вільнорадикального окиснення (підвищення АФГ) з продовженням гіперактивації пероксидації, що підтверджується зростанням пізнього маркера ОМБ – вмісту КФГ.

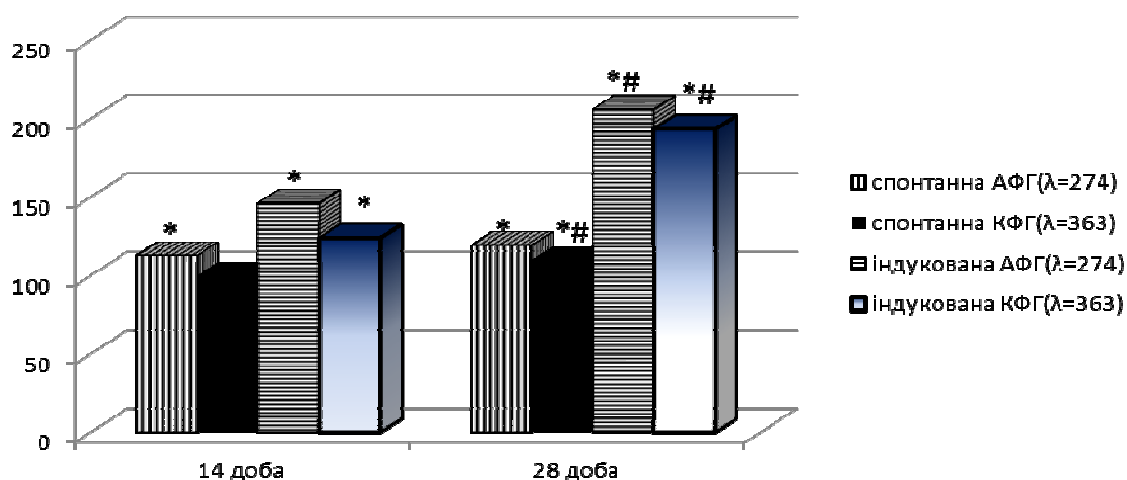


Рис. 2. Рівень альдегідо- (АФГ) і кетопохідних (КФГ) спонтанної і металкаталізованої окиснювальної модифікації білків (%) у печінці щурів за умови аліментарного ожиріння. Примітки: * – різниця достовірна порівняно з контрольними тваринами; # – різниця достовірна між дослідними групами.

Металкаталізована ініціація ОМБ у гомогенаті печінки щурів з дієтіндукованим ожирінням характеризувалася вірогідним зростанням вмісту як АФГ, так і КФГ порівняно з контролем ($p < 0,05$). Слід зазначити, що через 28 діб експерименту значення вмісту продуктів окислювання білків є вищими, ніж через 14 діб, зокрема АФГ – на 59,6 % і КФГ – на 69,5 % ($p < 0,05$). Порівнюючи спонтанну й ініційовану ОМБ встановлено, що металкаталізована пероксидація вже через 14 діб перевищує показники спонтанної, та через 28 діб ОМБ вища в 1,1 (АФГ) і 1,6 (КФГ) раза. Дослідниками зазначено, що індуковану ОМБ можна розглядати як показник стійкості системи до переокислювання, індикатор стресостійкості досліджуваної тканини (Орлова О.А., Лазарчук О.О., 2009).

Проведені дослідження показали порушення з боку ензимної антиоксидантної системи. Так, через 14 діб моделювання ожиріння у щурів активність СОД була вищою на 32,8 % і каталази – на 20,4 % проти контрольних значень ($p < 0,05$). Зазначимо, що у 2 дослідній групі дані

показники зменшувалися проти даних 1 групи (СОД – на 22,1 % і каталаза – на 12,7 %), але залишалися достовірно вищими порівняно з контролем (СОД – на 10,6 % і каталаза – на 7,6 %) (рис. 3).

Аналіз показників глутатіон-залежної антиоксидантної системи крові у щурів свідчив про зниження рівня відновленого глутатіону вже через 14 діб експерименту в усіх досліджуваних тканинах. Таку ж тенденцію відмічено у тварин 2 дослідної групи: показник GSH зменшувався на 36,1 % в крові і відповідно на 52,8 й 33,3 % у жировій тканині і печінці ($p < 0,05$). Показник GSSG змінювався через 28 діб експерименту, а саме, збільшувався щодо контролю у крові на 35,3 %, у жировій тканині на 21,1 % і гомогенаті печінки на 27,9% ($p < 0,05$). Відношення вмісту відновленої та окисненої форм глутатіону є значно нижчим норми у жировій тканині та печінці у 1 групі тварин й у всіх досліджуваних тканинах у 2 групі ($p < 0,05$).

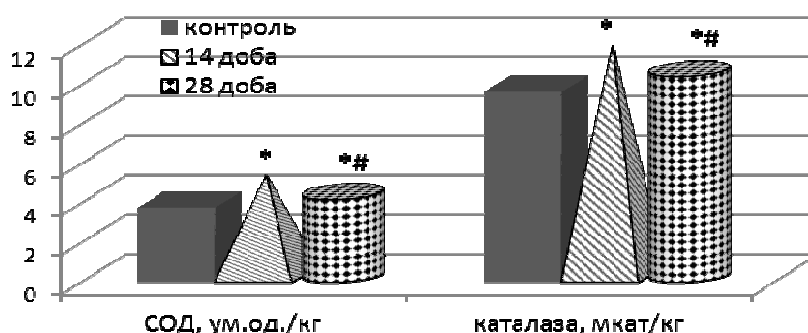


Рис. 3. Показники системи антиоксидантного захисту в гомогенаті печінки у динаміці розвитку аліментарного ожиріння у щурів (* – різниця достовірна порівняно з контрольними тваринами; # – різниця достовірна між дослідними групами).

Відомо, що GSH використовується в окисно-відновних реакціях як джерело SH-груп, які захищають клітину від активних форм кисню (Лановенко І.І., 2012; Forman Н.І. et al., 2004). Отже, встановлено, що у тварин з аліментарним ожирінням має місце дисбаланс у системі глутатіону, пов'язаний із суттєвим збільшенням споживання GSH під час нейтралізації вільних радикалів, які утворюються внаслідок активації процесів ліпопероксидації, при цьому виявлено практично однаковий зсув GSSG у бік зростання. Співвідношення рівнів відновленої та окисненої форм глутатіону свідчить про зниження загального потенціалу глутатіонової системи в тканинах щурів з аліментарним ожирінням.

За умов патологічного процесу ендопатогенами виступають продукти пероксидного окислення, які ведуть до утворення токсичних молекул середньої маси (Дубинина Е.Е., Пустыгина А.В., 2008). При оцінці стану ендогенної інтоксикації встановлено, що за умови аліментарного ожиріння активація вільнорадикального окиснення призвела до зростання через 28 діб загального рівня РНіСММ у плазмі крові (в 2,0 раза), загального рівня РНіСММ еритроцитів (в 1,7 раза), катаболічного пулу РНіСММ у плазмі крові (в 2,4 раза), катаболічного пулу плазми у % від загального пулу (в 1,2 раза) щодо

контролю ($p < 0,05$). Отримані дані свідчать про неспроможність печінки виконувати в повному обсязі детоксикаційну функцію (Лемко І.С. і співавт., 2013). У той же час рівень РНіСММ еритроцитів вже на 14 добу збільшувався в діапазоні хвиль 254-282 нм (рис. 4).

Аналізуючи розподіл РНіСММ між білками плазми та глікокаліксу еритроцитів встановлено, що через 14 діб експерименту цей показник зменшився на 15,1 % проти контролю ($p < 0,05$), що свідчить про зростання кількості метаболітів, які сорбовані на глікокаліксі або знаходяться всередині еритроцитів, що є компенсаторною реакцією.

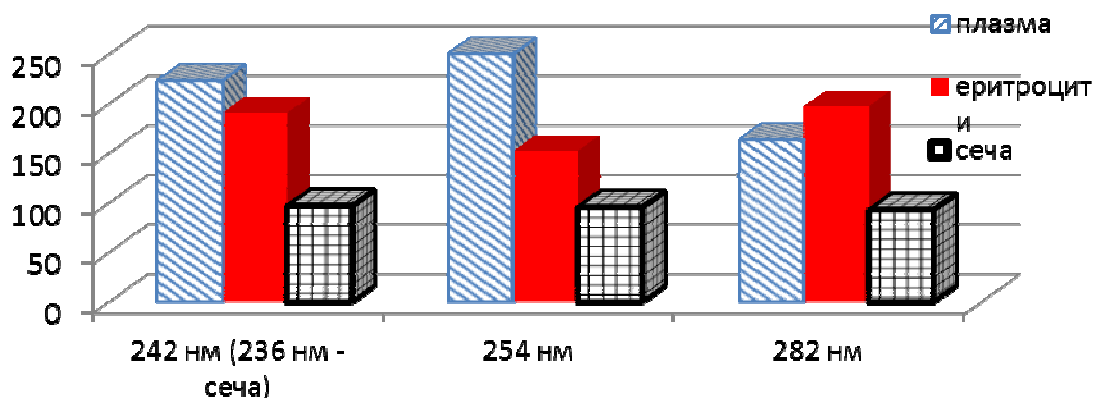


Рис. 4. Порівняльна характеристика показників ендогенної інтоксикації (%) у щурів з аліментарним ожирінням.

Результати наукових досліджень свідчать про те, що рецептори плазматичних мембран, які специфічно зв'язують різні сполуки, є найважливішими функціональними елементами клітини, тому порушення мембранного зв'язування може викликати зміни окремих властивостей плазматичної мембрани і вплинути на метаболізм клітини в цілому (Семко Г.О., 2004). Через 28 діб досвіду показник розподілу РНіСММ між білками плазми та глікокаліксу еритроцитів зріс на 18,9 % відносно даних контролю ($p < 0,05$), що свідчить про підвищене виділення еритроцитами в плазму крові продуктів порушеного метаболізму через уражені клітинні мембрани, при цьому структурно-функціональна дезорганізація подвійного ліпідного шару в мембранах пов'язана з активацією ліпопероксидації.

Незалежно від чинника, який ініціює реакції окиснення, відбувається зростання проникності мембран, яке призводить до ряду змін всередині клітини, що ми досліджували цитофлуориметрично за допомогою флуорохрому JC-1. Проведене дослідження свідчить, що за умови експериментального ожиріння у крові щурів вже через 14 діб досвіду спостерігалася тенденція до зростання, а через 28 діб спостереження кількість лейкоцитів крові зі знизеним трансмембранним потенціалом утричі перевищувала дані в контролі ($p < 0,001$).

Накопичення реакційно здатних вільних радикалів і продуктів ПОЛ та зниження мітохондріального трансмембранного потенціалу за умови експериментального ожиріння призвело до розвитку цитолітичного синдрому,

що проявлялося підвищенням активності амінотрансфераз у крові і печінці. Активність АЛАТ протягом часу спостереження статистично значимо зменшилася у гомогенаті печінки, але зросла у сироватці крові експериментальних тварин ($p < 0,05$). Також виявлено зростання активності АсАТ у гомогенаті печінки на 25,00 % у 1 дослідній групі і на 40,91 % у 2 групі, щодо контролю ($p < 0,05$). Зниження активності АсАТ у сироватці крові 43,14 % через 28 діб досліду може бути пов'язане зі зв'язуванням фермента по двох його активних центрах з SH-групами. Надмірне надходження цитозольних ферментів у позаклітинний простір і в кров створює надмірну субстратну базу для ендопротеаз плазми крові, які, розщеплюючи їх, підвищують пул ендотоксичних речовин, зокрема РНіСММ.

Одними з показників інтенсивності енергетичних процесів в організмі щурів є активність СДГ і ЦХО. Отримані зміни активності ензимів свідчать про пригнічення функції мітохондрій, що може бути однією з причин апоптозу. Встановлено, що за умови аліментарного ожиріння у щурів через 14 діб відмічається тенденція до зниження показників енергетичних процесів клітини, тоді як через 28 діб – вірогідне зменшення в печінці активності СДГ на 17,1 % і відповідно ЦХО на 25,6 % ($p < 0,05$). Ще одним показником, відповідальним за синтез АТФ за рахунок енергії трансмембранного електрохімічного потенціалу та підтримання критичного рівня мембранного потенціалу за рахунок розпаду АТФ, є протонна АТФ-аза. Отримані нами результати вказують на практично незмінні її показники через 14 діб ($344,16 \pm 3,42$ ммоль/(кг×хв)) з достовірним зростанням у 2 дослідній групі ($431,19 \pm 3,20$ ммоль/(кг×хв)) щодо контрольних значень ($336,07 \pm 4,87$ ммоль/(кг×хв)) (рис. 5). Отримані результати можна пояснити зниженням трансмембранного потенціалу і оберненням АТФ-синтазної реакції на АТФ-азу, тобто розпад АТФ тут використовується як джерело енергії для підтримання трансмембранного потенціалу внутрішньої мітохондріальної мембрани на певному критичному рівні.

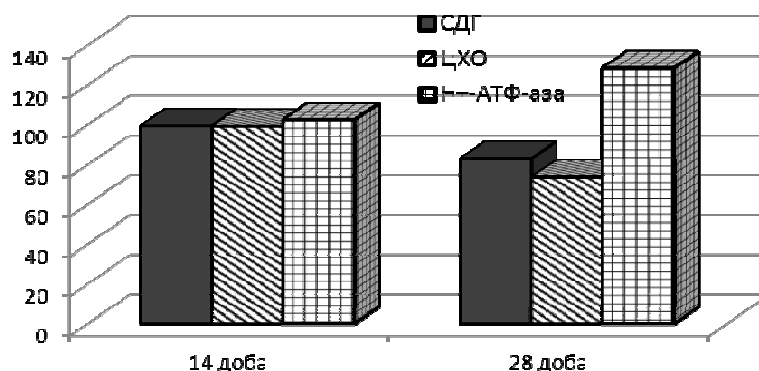


Рис. 5. Динаміка активності показників мітохондріального транспорту електронів (%) у печінці щурів за умови аліментарного ожиріння.

З метою інтегральної оцінки окиснювальної здатності ферментів ендоплазматичного ретикулуму досліджували тривалість тіопенталового сну. У щурів з дієт-індукованим ожирінням його тривалість вірогідно зростала в

1,8 раза, що вказує на суттєве пригнічення процесів детоксикації в печінці уражених тварин. На 14 добу експерименту час біотрансформації тіопенталу в печінці (тривалість тіопенталового сну) був на 38 хв ($p < 0,001$) тривалішим, ніж у щурів контрольної групи. На 28 добу він ще більше зріс і становив 179 % ($p < 0,001$) від норми.

Дослідження рівня програмованої та індукованої загибелі клітин печінки показало зростання частки клітин з явищами апоптозу вдвічі вже через 14 діб експерименту, тоді як через 28 діб рівень апоптозу перевищував на 84,8 % дані 1 дослідної групи. Слід зазначити, що в обох експериментальних групах частка некротичних клітин залишалася у межах контрольних значень з тенденцією до підвищення. Встановлено, що на рівень апоптичної загибелі за умови аліментарного ожиріння найвагоміший вплив мало зниження активності СОД.

Оскільки в основі порушення функціонування про- та антиоксидантних процесів у тканині печінки лежить дисбаланс макро- і мікроелементів, аналіз їх складу в крові щурів при аліментарному ожирінні показав достовірне зниження рівня магнію у 2 дослідній групі в середньому на 60,0 % відносно показників контролю і 1 групи ($p < 0,05$), зменшення показника сироваткового феруму в 2 дослідній групі на 9,5 % проти результатів контролю. Зниження рівня цинку у тварин із змодельованим патологічним процесом спостерігалось вже через 14 діб експерименту (на 20,7 %) з продовженням його депресії до 28 доби (61,5 %), що можна пояснити тим, що цинк, ймовірно, є посередником ефектів лептину (Konukoglu D. et al., 2004).

Аналіз динаміки змін мікроелементів у тканині печінки щурів показав, що через 14 діб експерименту вміст цинку і купруму достовірно зростав, а магнію – мав тенденцію до підвищення, що може бути пов'язано з експресією Zn-, Cu-вмісних супероксиддисмутази і металотіонеїнів. У 2 дослідній групі спостерігалася зовсім інша картина: підвищення вмісту купруму, зниження вмісту цинку і магнію щодо 1 дослідної групи (табл. 2).

Таблиця 2

Показники вмісту окремих мікроелементів у тканині печінки щурів за умови дієт-індукованого ожиріння ($M \pm m$)

Вміст	Контрольна група (n=12)	1 дослідна група (n=12)	2 дослідна група (n=12)
Магнію, мг/г	0,90±0,07	1,05±0,05 $p_1 > 0,05$	0,78±0,06 $p_1 < 0,05$; $p_2 < 0,05$
Цинку, мкг/г	47,73±0,64	50,56±0,58 $p_1 < 0,05$	23,70±1,16 $p_1 < 0,05$; $p_2 < 0,05$
Купруму, мкг/г	0,95±0,08	1,15±0,05 $p_1 < 0,05$	1,89±0,07 $p_1 < 0,05$; $p_2 < 0,05$

Примітки:

1. p_1 – різниця достовірна порівняно з контрольними тваринами;
2. p_2 – різниця достовірна порівняно з ураженими тваринами.

Динаміка досліджених біоелементів вказує на те, що через 14 діб (надмірна маса тіла) експерименту компенсаторні механізми організму перебувають у стані напруження, тоді як аліментарне ожиріння (28 діб досліду) є свідченням типового патологічного процесу з розвитком передумов до поліорганного ураження.

Встановлення достовірної сильної позитивної (у парі СОД–цинк ($r=0,77$; і середньої позитивної (в парі СОД–купрум ($r=0,64$; $p<0,05$)) кореляції через 14 діб зумовлене тим, що ці мікроелементи входять до складу активного центру ензиму Cu/Zn–СОД, який забезпечує регуляцію рівня пероксидації на стадії ініціювання ланцюгів окиснення. Вважають, що за умови патологічного процесу цинк інтенсивно надходить до уражених тканин для активації синтезу металотіонеїнів, підвищення рівня експресії та активності Cu/Zn–СОД у клітинах пошкодженого органа. Слід зазначити, що через 28 діб дані взаємозв'язки втрачаються. Також не виявлено кореляційного зв'язку між рівнем апоптозу й активністю ферментів системи антиоксидантного захисту.

Отримані нами експериментальні дані розширюють існуючі уявлення про біохімічні механізми розвитку аліментарного ожиріння і є теоретичним підґрунтям для подальшого дослідження у цій галузі.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі наведено теоретичне узагальнення та нове вирішення актуального наукового завдання щодо особливостей біологічного окиснення, вуглеводного обміну та ролі макро- і мікроелементного складу біологічних субстратів у їх регуляції за умови експериментального ожиріння.

У результаті вирішення наукового завдання зроблені наступні висновки:

1. У тварин з експериментальним аліментарним ожирінням у крові спостерігається порушення вуглеводного (зростання вмісту глюкози (на 7,2 %) й індексу НОМА (на 18,4 %)), ліпідного (підвищення концентрації лептину на 69,2 %, загального холестеролу (на 54,9 %) і триацилгліцеролів (на 53,6 %)) та білкового (зниження вмісту альбумінів (на 23,7 %) і зростання глобулінів (на 43,1 %)) обмінів.

2. У тварин зі змодельованим аліментарним ожирінням гіперпродукція кисневих радикалів призводить до активації процесів ліпідної і білкової пероксидації, що проявляється достовірним зростанням вмісту ТБК-активних продуктів (на 119,2% у плазмі крові, на 56,9 % у тканині печінки і на 44,1 % в жировій тканині), показників спонтанного окиснювання білків (підвищення альдегідопохідних через 14 діб експерименту зі зростанням кетопохідних через 28 діб досліду у тканині печінки) ($p<0,05$).

3. За умови аліментарного ожиріння ініціюється мітохондріальний шлях клітинної загибелі через зниження трансмембранного потенціалу ($p<0,001$), зростання продукування активних форм кисню (у 2,6 раза у крові й у 3,4 раза у тканинах печінки, проти контролю), дезорганізацію енергозабезпечувального окиснення у гепатоцитах (вірогідне зменшення в печінці через 28 діб експерименту активності сукцинатдегідрогенази в 1,7 раза і

відповідно цитохромоксидази у 2,6 раза, та підвищення активності Н+АТФ-ази у 2,8 раза ($p < 0,05$)), який веде до практично втричі вищого показника апоптичної загибелі клітин печінки через 28 діб експерименту ($p < 0,001$).

4. За умови експериментального аліментарного ожиріння пригнічення антиоксидантного захисту через 28 діб від початку експерименту характеризується зниженням показників ферментної ланки (супероксиддисмутази на 22,1 % і каталази на 12,7 %), проти даних на 14 добу ($p < 0,05$). Недостатність глутатіон-залежної антиоксидантної системи у крові, печінці та жировій тканині щурів обумовлена зменшенням рівнів відновленого і підвищенням окисленого глутатіону, що узгоджується зі зниженням активності глутатіонредуктази і глутатіонпероксидази в клітинних і тканинних субстратах ($p < 0,05$).

5. Показники ендогенної інтоксикації при моделюванні аліментарного ожиріння у щурів вказують на кількісне наростання в діапазоні хвиль 254–282 нм та якісний перерозподіл речовин низької і середньої молекулярної маси між плазмою крові й еритроцитами, переважно катаболічного походження ($p < 0,05$), що негативно впливає на їх елімінацію нирками.

6. Порушення жовчоутворювальної функції печінки у щурів за умови ожиріння характеризується зміною біохімічних властивостей жовчі, про що свідчить підвищення вмісту холестеролу, зниження суми жовчних кислот зі збільшенням показників холато-холестеролового коефіцієнта ($p < 0,05$). Розвиток цитолітичного синдрому при досліджуваній патології характеризується зростанням активності аспартатамінотрансферази у гомогенаті печінки та аланінамінотрансферази у сироватці крові. Про порушення детоксикаційної функції печінки свідчить зростання тривалості тіопенталового сну ($p < 0,05$).

7. Порушення макро- і мікроелементного обміну через 28 діб моделювання аліментарного ожиріння у щурів характеризується зниженням рівня феруму (на 9,5 %), магнію (на 38,9 %), цинку (на 61,5 %) і підвищенням купруму (на 194,7 %) у крові, при цьому вміст ТБК-реактивних позитивно корелює з вмістом купруму ($r_{xy} = 0,66$; $p < 0,05$), рівень окисно модифікованих білків прямо корелює з рівнем сироваткового феруму ($r_{xy} = 0,59$; $p < 0,05$) і обернено – з вмістом цинку ($r_{xy} = -0,60$; $p < 0,05$).

8. Аналіз мікроелементного обміну в тканинах печінки щурів з аліментарним ожирінням свідчить про вірогідне зростання вмісту купруму (у 2,0 раза) щодо контролю, зменшення рівня магнію (в 1,4 раза), цинку (в 2,1 раза) проти даних через 14 діб. Встановлено прямий взаємозв'язок активностей супероксиддисмутази і каталази через 14 діб досліду з рівнем цинку ($r_{xy} = 0,77$; $p < 0,05$) та купруму ($r_{xy} = 0,64$; $p < 0,05$), який через 28 діб експерименту втрачається. Негативний вплив на функціонування циклу трикарбонових кислот, зокрема цитохромоксидази у тканинах печінки, за умови аліментарного ожиріння чинить купрум ($r_{xy} = -0,65$, $p < 0,05$), тоді як на рівень апоптозу в цілому впливає елементний дисбаланс, проте найбільше значення має цинк ($p < 0,05$).

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Марущак М. І. Експериментальне аліментарне ожиріння: апоптоз, антиоксидантна система, макро- і мікроелементи в тканині печінки / М. І. Марущак, О. П. Мялюк, І. М. Кліщ // Медична та клінічна хімія. – 2015. – Т. 17, № 4. – С. 29–33. *(Здобувач самостійно провела експеримент, оформила статтю).*

2. Мялюк О. П. Стан вільнорадикального окиснення у тканинах печінки експериментальних щурів при аліментарному ожирінні / О. П. Мялюк // Вісник проблем біології і медицини. – 2015. – Вип. 4 (1). – С. 120–123.

3. Мялюк О. П. Жовчоутворювальна функція печінки за умови експериментального аліментарного ожиріння / О. П. Мялюк, І. М. Кліщ, М. І. Марущак // Вісник проблем біології і медицини. – 2014. – Вип. 4 (1). – С. 164–167. *(Здобувач самостійно спланувала і провела експеримент, оформила статтю).*

4. Порушення енергозабезпечення тканини печінки як один із механізмів аліментарного ожиріння [Електронний ресурс] / О. П. Мялюк, І. М. Кліщ, В. В. Заєць, М. І. Марущак // Наукові доповіді НУБіП України. – 2016. – № 58. – Режим доступу : http://nd.nubip.edu.ua/2016_1/5.pdf *(Здобувачу належить ідея, планування і проведення експерименту, аналіз та обробка результатів, формулювання висновків).*

5. Эндогенная интоксикация у крыс с алиментарным ожирением / И. М. Клищ, О. П. Мялюк, Р. Р. Осинчук, М. И. Марущак // Scientific review. Biological sciences. – 2016. – № 1. – С. 57–59. *(Здобувач самостійно провела експеримент, у співавторстві оформила статтю).*

6. Синдром эндогенной интоксикация у крыс с алиментарным ожирением / О. П. Мялюк, Р. Р. Осинчук, А. М. Шумеляк, К. Я. Максив // Молодой учёный. – 2016. – № 3 (107). – С. 370–373. *(Здобувач самостійно спланувала і провела експеримент, оформила статтю).*

7. Пат. № 87711 Україна, МПК (2006.01) А 61 К 31/195. Спосіб моделювання аліментарного ожиріння / М. І. Марущак, І. В. Антонишин, О. П. Мялюк, Ю. М. Орел, І. Я. Криницька. – № u2013 12044 ; заявл. 14.10.2013 ; опубл. 10.02.2014, Бюл. № 3. *(Здобувач брала участь у розробці ідеї, проведенні експериментальних досліджень та аналізі результатів, оформленні документації).*

8. Боб О. Динаміка вмісту альдегідо- та кетоніпохідних нейтрального (ОМБ370нм) і основного (ОМБ430нм) характеру в плазмі крові щурів з аліментарним ожирінням / О. Боб, О. Мялюк, М. Марущак // XIX Міжнародний медичний конгрес студентів та молодих вчених, 27-29 квітня 2015 р. : матеріали конгр. – Тернопіль : Укрмедкнига, 2015. – С. 277.

9. Індекс маси тіла як інтегральний показник аліментарного ожиріння у щурів / І. В. Антонишин, Р. Р. Осинчук, О. П. Мялюк, М. І. Марущак // Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм :

VIII науково-практична конференція, 01 жовтня – 02 жовтня 2015 р. : матеріали конф. – Тернопіль, 2015. – С. 4.

10. Источники активных форм кислорода в условиях экспериментального алиментарного ожирения / О. П. Мяслюк, Р. В. Осинчук, М. И. Марущак, Г. Г. Габор // Биология ва тиббиёт муаммолари. – 2015. – № 4 (85). – С. 107.

11. Антонишин І. В. Співставлення рівня трансаміназ та холестерину при експериментальному алиментарному ожирінні / І.В. Антонишин, О.П. Мяслюк, М.І. Марущак // Психофізіологічні та вісцеральні функції в нормі і патології : VII міжнар. наук. конф., присвячена 180-річчю Київського національного університету імені Тараса Шевченка та 120-річчю від дня народження А.І. Ємченка, 7–9 жовтня 2014 р. : тези доп. – К. :Логос. 2014. – С. 23.

12. Антонишин И. В. Динамика массы тела и уровня α -амилазы при экспериментальном алиментарном ожирении / И.В. Антонишин, О.П. Мяслюк, О.О. Боб // Достижения и перспективы развития медицинской науки : IX годовичная научно-практическая конференция молодых ученых и студентов ТГМУ им. Абуали ибни Сино с международным участием, 25 апреля 2014 г. : материалы конф. – Душанбе, 2014. – С. 197.

13. Роль магнію у патогенезі експериментального алиментарного ожиріння / О. О. Боб, І. В. Антонишин, О.П. Мяслюк, М. І. Марущак // Здобутки клінічної і експериментальної медицини. – 2014. – № 2. – С. 221.

14. Боб О. Зміни показників ліпопероксидації та антиоксидантного захисту за умови експериментального алиментарного ожиріння / О. Боб, О. Мяслюк, І. Антонишин // XIX Міжнародний медичний конгрес студентів та молодих вчених, 28-30 квітня 2014 р. : матеріали конгр. – Тернопіль : Укрмедкнига, 2014. – С. 199.

15. Боб О. О. Зміна рівня амінотрансфераз за умови експериментального алиментарного ожиріння / О. О. Боб, О. П. Мяслюк, І. В. Антонишин, М. І. Марущак // Здобутки клінічної і експериментальної медицини . – 2013. – № 2. – С. 236.

АНОТАЦІЯ

Мяслюк О.П. Особливості перебігу вільнорадикального і енергозабезпечувального окиснення при експериментальному алиментарному ожирінні. – На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.04 – біохімія. – Державний вищий навчальний заклад «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України», Тернопіль, 2016.

Дисертація присвячена з'ясуванню особливостей процесів біологічного окиснення в тканині печінки за умови експериментального алиментарного ожиріння та ролі макро- і мікроелементного складу біологічних субстратів у їх регуляції.

Встановлено у тварин з аліментарним ожирінням порушення жовчоутворювальної функції і детоксикаційної функції печінки та доведено активацію процесів ліпідної і білкової пероксидації на фоні гіперпродукції кисневих радикалів, що ініціює апоптоз через зниження трансмембранного потенціалу, дезорганізацію енергозабезпечувального окиснення у гепатоцитах. З'ясовано порушення макро- і мікроелементного обміну у щурів з аліментарним ожирінням. Доведено, що активація антиоксидантного захисту прямо пов'язана з рівнем цинку та купруму, вільнорадикальне окиснення позитивно корелює з вмістом купруму, сироваткового феруму і негативно – з вмістом цинку у крові.

Ключові слова: окиснювальні процеси, біоенергетичні процеси, апоптоз, експериментальне ожиріння, тканини печінки.

АННОТАЦІЯ

Мялюк О.П. Особенности течения свободнорадикального и энергообеспечительного окисления при экспериментальном алиментарном ожирении. – На правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.04 – биохимия. – Государственное высшее учебное заведение «Тернопольский государственный медицинский университет имени И.Я. Горбачевского МЗ Украины», Тернополь, 2016.

Диссертация посвящена выяснению особенностей процессов биологического окисления в ткани печени при экспериментальном алиментарном ожирении и роли макро- и микроэлементного состава биологических субстратов в их регуляции. На основании экспериментального исследования впервые установлена взаимосвязь между содержанием биоэлементов и интенсивностью окислительного и энергообеспечительных процессов, характеризующих развитие алиментарного ожирения и вовлечение печени в патологический процесс.

Исследование липидного и углеводного обменов через 28 суток эксперимента свидетельствует о росте показателей глюкозы, индекса инсулинорезистентности, общего холестерина и триглицеридов относительно контроля. Учитывая, что жировая ткань обеспечивает продукцию адипонектина и лептина, нами установлено повышение концентрации лептина при тенденции к снижению уровня адипонектина. Нарушение обмена белков при экспериментальном алиментарном ожирении сопровождается тенденцией к снижению содержания общего белка с вероятным снижением альбуминов и ростом глобулинов. Снижение содержания альбуминов рядом с повышением отдельных фракций глобулинов свидетельствует о формировании печеночной недостаточности с нарушением белково-синтетической функции.

Установлены у животных с алиментарным ожирением нарушения желчной функции характеризуются повышением содержания холестерина, снижением суммы желчных кислот с увеличением показателей холато-

холестеринового коэффициента в желчи, детоксикационной функции печени, что проявляется количественным нарастанием и качественным перераспределением веществ низкой и средней молекулярной массы между плазмой крови и эритроцитами преимущественно катаболического происхождения, негативно влияет на их элиминацию почками. Доказано, что у животных со смоделированным алиментарным ожирением гиперпродукция пероксида водорода приводит к активации процессов липидной и белковой пероксидации (достоверный рост содержания ТБК-активных продуктов в плазме крови, гомогенате печени и жировой ткани), показателей спонтанного окисления белков (повышение альдегидопроизводных через 14 суток эксперимента с ростом кетопроизводных через 28 суток опыта в ткани печени). Установлено, что при алиментарном ожирении увеличивается НАДН - стимулированный выход супероксида на 21,5%, тогда как НАДФН - стимулированный выход супероксида только имеет тенденцию к повышению. При этом общая продукция супероксидного анион-радикала в печени на 13,2% выше показателей контроля.

Впервые установлен митохондриальный путь инициации апоптоза путем снижения трансмембранного потенциала, дезорганизацию энергообеспечительного окисления в клетках печени, что ведет к развитию цитолитического синдрома, проявляющегося повышением активности аминотрансфераз в крови и печени и гибелью лейкоцитов в ткани печени по типу апоптоза. Выявлены нарушения макро- и микроэлементного состава тканей крыс с алиментарным ожирением, которые характеризуются повышением уровня меди, снижением содержания цинка и магния в ткани печени и установлена их роль в процессах биологического окисления. Доказано, что активация супероксиддисмутазы и каталазы через 14 суток опыта прямо связана с уровнем цинка и меди, которые входят в активный центр фермента Cu/Zn-супероксиддисмутазы, что обеспечивает регуляцию уровня пероксидации на стадии иницирования цепей окисления. При этом установлено, что содержание ТБК-реактантов положительно коррелирует с содержанием меди, содержание окислительно модифицированных белков прямо коррелирует с уровнем сывороточного феррума и отрицательно – с содержанием цинка в крови.

Полученные нами экспериментальные данные расширяют существующие представления о биохимических механизмах развития алиментарного ожирения и являются теоретическим основанием для дальнейшего исследования в этой отрасли.

Ключевые слова: окислительные процессы, биоэнергетические процессы, апоптоз, экспериментальное ожирение, ткани печени.

ANNOTATION

Myalyuk O.P. Peculiarities of free radical oxidation and energy supplying in case of experimental alimentary obesity. – Manuscript.

Dissertation for obtaining a scientific degree of Candidate of Biological Sciences (PhD in Biological Sciences) in specialty 03.00.04 – Biochemistry. – The State Higher Educational Institution «I. Horbachevsky Ternopil State Medical University of the Ministry of Health of Ukraine», Ternopil, 2016.

Thesis is devoted to characteristics of biological oxidation in the liver in case of experimental alimentary obesity and to find out the role of trace element composition of biological substrates in their regulation.

It was established the violation of bile-formation and detoxication functions in animals with obesity. It was proved the activation of lipid and protein peroxidation on the background of the overproduction of oxygen radicals, which due to apoptosis initiation by reducing of transmembrane potential, disruption of energy supplying oxidation in hepatocytes. It is found violations of macro- and trace element metabolism in rats with alimentary obesity. It was proved that activation of antioxidant activity directly related to the level of zinc and copper, free radical oxidation positively correlated with the content of copper, oxide modified proteins interact directly with the level of serum iron and negatively with the zinc content in the blood.

Keywords: oxidative processes, bioenergetic processes, apoptosis, experimental obesity, liver tissue.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

АМО	– активні метаболіти кисню;
ДК	– дієнові кон'югати;
ТБК–АП	– активні продукти тіобарбітурової кислоти;
ПОЛ	– пероксидне окиснення ліпідів;
ОМБ	– окиснювальна модифікація білків;
КФГ	– кетопохідні
АФГ	– альдегідопхідні
СОД	– супероксиддисмутаза;
GSH	– відновлений глутатіон;
GSSG	– окислений глутатіон;
РНіСММ	– речовини низької і середньої молекулярної маси;
АлАТ	– аланінамінотрансфераза
АсАТ	– аспартатамінотрансфераза;
ЦП	– церулоплазмін;
СДГ	– сукцинатдегідрогеназа;
ЦХО	– цитохромоксидаза.

Підписано до друку 24.05.2016. Формат 60Ч84/16.
Папір друкарський. Друк офсетний.
Умовн. друк. арк.1,8.
Наклад 100 прим. Зам. № 121.

Видавництво Тернопільського державного медичного
університету ім. І.Я. Горбачевського.
Майдан Волі, 1, м. Тернопіль, 46001, Україна.