

**НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ
ІНСТИТУТ ФІЗІОЛОГІЇ ІМ. О.О. БОГОМОЛЬЦЯ**

Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису

АЛІЄВ РУФАТ БАХТІЯР ОГЛИ

УДК [616.24-002+616.379-008.64]:616-06:616-008.9

ДИСЕРТАЦІЯ

**ЛЕПТИНЗАЛЕЖНІ МЕХАНІЗМИ МІТОХОНДРІАЛЬНОЇ ДИСФУНКЦІЇ
ПРИ КОМОРБІДНОМУ ПЕРЕБІГУ ЗАПАЛЕННЯ В ЛЕГЕНЯХ ТА
МЕТАБОЛІЧНИХ РОЗЛАДІВ**

222 «Медицина»
22 «Охорона здоров'я»

Подається на здобуття ступеня доктора філософії

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

Науковий керівник: Портниченко Алла Георгіївна, доктор медичних наук,
завідувач відділу гіпоксії

Київ – 2023

АНОТАЦІЯ

Алієв Р.Б. Лептинзалежні механізми мітохондріальної дисфункції при коморбідному перебігу запалення в легенях та метаболічних розладів.— Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття ступеня доктора філософії в галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 222 «Медицина». – Інститут фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України, Київ, 2023.

Дисертація присвячена визначенню ролі лептинзалежної регуляції у порушеннях функції мітохондрій при ЛПС-індукованому запальному процесі в легенях на тлі експериментальних метаболічних розладів.

В експериментах на 144 дорослих щурах-самцях Вістар з використанням патофізіологічних (моделювання запального процесу та його коморбідного перебігу на тлі інсулінорезистентності та цукрового діабету 2 типу), фізіологічних (дослідження параметрів зовнішнього дихання та газообміну, полярографічне визначення функціональної активності мітохондрій), біохімічних (визначення параметрів вуглеводного та ліпідного обміну), морфологічних (ультраструктурні дослідження зразків тканин), молекулярно-біологічних (визначення експресії білків) та статистичних методів дослідження встановлено роль лептинзалежної регуляції у порушеннях функції мітохондрій при коморбідному перебігу ЛПС-індукованого запального процесу і експериментальних метаболічних розладів.

Одержані результати характеризуються науковою новизною. Розроблено експериментальну модель коморбідного перебігу у щурів ЛПС-індукованого запального процесу на тлі інсулінорезистентності, викликаного вживанням високожирової дієти, та цукрового діабету 2 типу (ЦД2). Вперше встановлено, що ЛПС-індуковане запалення в легенях на тлі інсулінорезистентності та цукрового діабету 2 типу характеризується прогресивними порушеннями ультраструктури аерогематичного бар'єру легень, газообміну, структури і функції мітохондрій, параметрів вуглеводного і ліпідного метаболізму.

Встановлено, що запальний процес в легенях супроводжується пригніченням мітохондріального дихання, зменшенням спряження окиснення і фосфорилування, що може призводити до нестачі АТФ. При запаленні на тлі інсулінорезистентності відбувається компенсаторне відновлення процесів окиснення на комплексах I і II електронтранспортного ланцюга (ЕТЛ) мітохондрій, однак для окисного фосфорилування більш ефективно використовуються ліпідні субстрати та піруват. При коморбідному перебігу з ЦД2 запальний процес, навпаки, супроводжується поглибленням розладу енергетичного метаболізму.

Вперше охарактеризовано порушення лептинзалежних механізмів регуляції енергетичного метаболізму при ЛПС-індукованому запальному процесі в легенях на тлі метаболічних розладів. Встановлено гальмівну функцію лептину на мітохондріальне дихання в нормі і при моделюванні інсулінорезистентності при використанні різних метаболічних субстратів, яка опосередковувалася лептиновими рецепторами мітохондрій. Виявлено, що ЛПС-індуковане запалення супроводжується зростанням експресії лептину в легенях і печінці і водночас редукцією лептинзалежної регуляції швидкості окисного фосфорилування на комплексі I ЕТЛ, а при інсулінорезистентності – на комплексах I і II ЕТЛ, в останньому випадку виявлено також редукцію експресії лептину і лептинових рецепторів. Ці зміни обумовлюють порушення лептинзалежної регуляції у легенях і меншою мірою, у печінці, при коморбідному перебігу запального процесу і метаболічних розладів.

Одержані результати мають фундаментальне і практичне значення. Охарактеризовано роль лептинзалежної регуляції функції мітохондрій у патогенезі запального процесу в легенях та метаболічних розладів при їх коморбідному перебігу. Встановлено механізми, що сприяють нестачі енергетичного метаболізму і, внаслідок цього, обтяженню патологічного процесу при коморбідному перебігу цих захворювань. Це надає підстави для розробки патогенетичних методів лікування, спрямованих на компенсацію енергетичного метаболізму, зменшення мітохондріальної дисфункції і покращення прогнозу у пацієнтів з цією тяжкою коморбідною патологією. Одержані результати можуть використовуватися в

науковій, освітній сфері, а також у клінічній медицині з метою доповнення патофізіологічних відомостей і покращення лікування хворих із вищезазначеними поширеними тяжкими захворюваннями.

Ключові слова: коморбідна патологія, запалення, метаболічні розлади, інсулінорезистентність, цукровий діабет 2 типу, щури, високожирова дієта, ліпополісахарид, легені, печінка, стеатогепатоз, мітохондрії, мітохондріальна дисфункція, лептин, лептинові рецептори.

ANNOTATION

Aliyev R.B. Leptin-dependent mechanisms of mitochondrial dysfunction in the comorbid course of inflammation in the lungs and metabolic disorders. - Qualification scientific work on the rights of the manuscript.

Dissertation of the Philosophy Dissertation for the Philosophy Doctor degree in 22 – “Health Care” in speciality 222 – “Medicine”. – Bogomoletz Institute of Physiology NASU, Kyiv, 2023.

The dissertation is devoted to determining the role of leptin-dependent regulation in mitochondrial dysfunction in LPS-induced inflammatory process in the lungs against the background of experimental metabolic disorders.

In experiments on 144 adult male Wistar rats using pathophysiological (modeling the inflammatory process and its comorbid course against the background of insulin resistance and type 2 diabetes mellitus), physiological (examination of the parameters of external respiration and gas exchange, polarographic determination of the functional activity of mitochondria), biochemical (determination of the parameters of carbohydrate and lipid metabolism), morphological (ultrastructural examination of tissue samples), molecular-biological (determination of protein expression) and statistical research methods, the role of leptin-dependent regulation in mitochondrial dysfunction in the comorbid course of LPS-induced inflammatory process and experimental metabolic disorders has been established.

The obtained results are characterized by scientific novelty. The experimental model of the comorbid course of the LPS-induced inflammatory process in rats against the background of insulin resistance caused by the use of a high-fat diet and type 2 diabetes

(T2D) has been developed. It has been established for the first time that LPS-induced inflammation in the lungs against the background of insulin resistance and T2D is characterized by progressive disorders of the ultrastructure of the aerogematic barrier of the lungs, gas exchange, the structure and function of mitochondria, parameters of carbohydrate and lipid metabolism.

It has been established that the inflammatory process in the lungs is accompanied by inhibition of mitochondrial respiration, a decrease in the coupling of oxidation and phosphorylation, which can lead to a lack of ATP. During inflammation against the background of insulin resistance, there is a compensatory recovery of oxidation processes on complexes I and II of mitochondrial electron transport chain (ETC), however, lipid substrates and pyruvate are used more effectively for oxidative phosphorylation. In the case of a comorbid course with T2D, the inflammatory process, on the contrary, is accompanied by a deepening of the disorder of energy metabolism.

For the first time, a violation of leptin-dependent mechanisms of regulation of energy metabolism during LPS-induced inflammatory process in the lungs against the background of metabolic disorders was characterized. The inhibitory function of leptin on mitochondrial respiration in normal conditions and in modeling of insulin resistance using various metabolic substrates, which was mediated by mitochondrial leptin receptors, was established. It was found that LPS-induced inflammation is accompanied by an increase in leptin expression in the lungs and liver and, at the same time, a reduction in leptin-dependent regulation of the rate of oxidative phosphorylation on complex I ETC, but in case of insulin resistance - on complexes I and II ETC, in the latter case, the expression of leptin and leptin receptors was also reduced. These changes cause a violation of leptin-dependent regulation in the lungs and, to a lesser extent, in the liver, under the comorbid course of the inflammatory process and metabolic disorders.

The obtained results have fundamental and practical significance. The role of leptin-dependent regulation of mitochondrial function in the pathogenesis of the inflammatory process in the lungs and metabolic disorders in their comorbid course has been characterized. The mechanisms contributing to the lack of energy metabolism and, as a result, the aggravation of the pathological process in the comorbid course of these diseases

have been established. This provides grounds for the development of pathogenetic treatment methods aimed at compensating energy metabolism, reducing mitochondrial dysfunction, and improving prognosis in patients with this severe comorbid pathology. The obtained results can be used in the scientific, educational sphere, as well as in clinical medicine in order to supplement pathophysiological information and improve the treatment of patients with the above-mentioned common serious diseases.

Key words: comorbid pathology, inflammation, metabolic disorders, insulin resistance, type 2 diabetes, rats, high-fat diet, lipopolysaccharide, lungs, liver, steatohepatosis, mitochondria, mitochondrial dysfunction, leptin, leptin receptors.

Список публікацій здобувача:

Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:

1. Цапенко П, Василенко М, **Алієв Р**, Завгородній М, Козловська М, Топчанюк Л, Сидоренко А, Братусь Л, Бакуновський О, Портніченко В, Портниченко А, (2020) *Вплив високожирової дієти на розвиток інсулінорезистентності та метаболічного синдрому у щурів*. Український журнал медицини, біології та спорту. 2020 – Том 5, № 3 (25), с. 441-444. DOI: [10.26693/jmbs05.03.441](https://doi.org/10.26693/jmbs05.03.441)
2. **Aliiev R.** (2022) *Current concepts of leptin-mediated regulation of metabolism*. Bulletin of problems in biology and medicine. 2022 – Issue 4 (167), p. 9-15. DOI: [10.29254/2077-4214-2022-4-167-9-15](https://doi.org/10.29254/2077-4214-2022-4-167-9-15)
3. Portnychenko A, Vasylenko M, **Aliiev R**, Kozlovska M, Zavhorodnii M, Tsapenko P, Rozova K, Portnichenko V. (2023) *The prerequisites for the development of type 2 diabetes or prediabetes in rats fed a high-fat diet*. Regulatory Mechanisms in Biosystems. 2023, 14 (1), pp. 16–22. DOI: [10.15421/022303](https://doi.org/10.15421/022303) (Web of Science, Scopus)
4. **Алієв РБ**, Розова КВ, Козловська МГ, Василенко МІ, Дубова МГ, Шаповалова АС, Портниченко АГ. (2023) *Морфологічні передумови метаболічних порушень при коморбідному перебігу запального процесу в легенях та цукрового діабету 2 типу у щурів*. Туберкульоз, легеневі хвороби, ВІЛ-інфекція. 2023, № 4 (55): 54-64. DOI: [10.30978/ТВ-2023-4-26](https://doi.org/10.30978/ТВ-2023-4-26) (Scopus)

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

5. **Алієв Р**, Носар В, Розова К, Василенко М, Цапенко П, Сидоренко А, Завгородній М, Братусь Л, Портниченко А. *Енергетичний метаболізм при ЛПС-індукованому запаленні на тлі діабету 2 типу*. Науково-практична конференція з міжнародною участю Галицькі читання «Сучасні уявлення щодо патогенезу запалення: місцеві та системні механізми» Івано-Франківськ, 19-20 вересня 2019 р. С. 3.
6. Портниченко А, Гончар О, Розова К, Василенко М, Цапенко П, **Алієв Р**, Сидоренко А, Завгородній М. *Оксидативні та метаболічні порушення при пошкодженні легень щурів бактеріальним ендотоксином та їх корекція*. Науково-практична конференція з міжнародною участю Галицькі читання «Сучасні уявлення щодо патогенезу запалення: місцеві та системні механізми» Івано-Франківськ, 19-20 вересня 2019 р. С. 49-50.
7. Цапенко П, Портниченко В, Василенко М, Носар В, Гончар О, Розова К, Сидоренко А, Завгородній М, Бабічева В, **Алієв Р**, Портниченко А. *Порушення зовнішнього дихання та енергетичного обміну при ЛПС-індукованому запаленні у щурів*. Матеріали XX-го з'їзду Українського фізіологічного товариства ім. П.Г. Костюка з міжнародною участю, присвяченого 95-річчю з дня народження академіка П.Г. Костюка. Київ, 27-30 травня 2019 р. *Фізіологічний журнал*. 2019; 65, №3 (дод). С. 108.
8. **Алієв Р**. *Формування інсулінорезистентності у перебігу запалення при метаболічних розладах*. 83-ій Всеукраїнський науковий медичний конгрес студентів та молодих вчених «Медицина XXI сторіччя» (з міжнародною участю) присвячений 91-й річниці Донецького національного медичного університету та 91-й річниці студентського наукового товариства імені професора М. Д. Довгялло. Лиман, Україна, 18-19 листопада 2021. С.22-23.
9. **Алієв Р**, Василенко М, Носар В, Портниченко В, Цапенко П, Шаповалова А, Розова К, Портниченко А. *Особливості перебігу ЛПС-індукованого запалення на тлі цукрового діабету 2 типу*. Матеріали Всеукраїнської науково-практичної

конференції: «Актуальні питання патологічної фізіології» (до 150-річчя кафедри загальної та клінічної патофізіології імені Д.О.Альперна) Харків, 26 березня 2021 р. Харків: ХНМУ, 2021. С. 33-34.

10. **Aliiev R**, Kozlovska M, Tsapenko P, Zavgorodnii M, Shapovalova A, Vasylenko M, Rozova K, Portnychenko A. *Respiratory and metabolic peculiarities of LPS-induced inflammation on background of type 2 diabetes*. IV scientific and practical conference of students and young scientists with international participation «From experimental and clinical pathophysiology to the achievements of modern medicine and pharmacy» Kharkiv, Ukraine, May 19, 2022. Харків: Вид-во НФаУ, 2022. С.19.

11. **Алієв Р**, Василенко М, Завгородній М, Козловська М, Носар В, Портниченко А. *Лептинзалежна регуляція функції мітохондрій при цукровому діабеті 2 типу та запаленні*. Матеріали XIII Всеукраїнської науково-практичної конференції «Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм» Тернопіль, Україна, 26-28 жовтня 2022 р. Тернопіль, 2022. С.2.

12. **Aliiev R**, Kozlovska M, Vasylenko M, Rozova K, Nosar V, Portnychenko A. *Type 2 Diabetes Aggravates Metabolic and Regulatory Disturbances under Comorbid LPS-Induced Acute Lung Injury*. 8th Annual Summit on Cardiovascular, Renal and Glycemic Outcomes – The Virtual CVOT Summit 2022, Munich, Germany, 10-11 Nov 2022. P. 30 *Diabetes, Metabolism, and the Heart* 2022; 31:26-27.

13. Portnychenko A, **Aliiev R**, Zhukovska A, Zavhorodnii M, Kozlovska M, Topchanyuk L, Shapovalova A, Vasylenko M, Nosar V, Rozova K, Portnichenko V. *Features and mechanisms of acute lung injury development on the background of type 2 diabetes: the role of hypoxia*. 16th International Conference “Advances in Pneumology”. Berlin, Germany, December 8-10, 2022, ab4743_1.

14. Портниченко А, Василенко М, Гончар О, Жуковська А, Портніченко В, Розова К, Цапенко П, **Алієв Р**, Завгородній М, Козловська М, Топчанюк Л. *Нові механізми патогенезу метаболічних розладів та їх особливості при коморбідному перебігу з запальним процесом у легенях*. Матеріали Пленуму українського наукового товариства патофізіологів. Тернопіль, 15–17 вересня 2022 р. Тернопіль, 2022. С. 67-68.

15. **Алієв Р.Б.**, Козловська М.Г., Василенко М.І., Портниченко А.Г. *Зміни експресії лептинових рецепторів при коморбідному перебігу запального процесу і цукрового діабету 2 типу*. Матеріали V науково-практичної конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю «Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації», Харків, 18 травня 2023 р. Харків: НФаУ, 2023. С. 60-61.
16. Portnychenko A., **Aliiev R.**, Abuwatfa S., Kozlovska M., Shapovalova A., Topchanyuk L., Gonchar O., Vasylenko M., Nosar V., Rozova K., Zhukovska A. *Mechanisms of the comorbid course of the inflammatory process and type 2 diabetes and possibilities of hypoxic correction*. XXII–і читання ім. В. В. Підвисоцького: Бюлетень матеріалів наукової конференції (18-19 травня 2023 року). Одеса: УкрНДІ медицини транспорту, 2023. С.15-16.
17. Portnychenko A, **R. Aliiev**, M. Kozlovska, L. Topchanyuk, S. Abuwatfa, M. Zavhorodnii, A. Zhukovska, M. Vasylenko, V. Nosar, K. Rozova. *Pneumonia course on the background of type 2 diabetes associates with disorders of energy metabolism and leptin regulation* 17th International Conference “Advances in Pneumology”. Vienna, Austria, 3-5 November 2023. Ab5027_1.
18. **Алієв Р**, Носар В, Розова К, Портниченко А. *Структурні та метаболічні порушення при коморбідному перебігу запального процесу в легенях на тлі інсулінорезистентності та цукрового діабету 2 типу*. Всеукраїнська науково-практична конференція молодих вчених «Медична наука-2023», Полтава, 2023. С.67-68.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ	13
ВСТУП	15
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	21
1.1. Епідеміологія метаболічного синдрому та сучасні концепції механізмів його розвитку	21
1.2. Особливості ендокринної активності адипозної тканини при метаболічних розладах	25
1.2.1. Сучасні відомості про лептин та лептинзалежну регуляцію	29
1.2.2. Лептинзалежні механізми розвитку окремих ланок метаболічного синдрому	35
1.3. Перебіг та механізми запальних процесів при метаболічному синдромі	37
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	41
2.1. Експериментальні тварини та експериментальні групи	41
2.2. Моделювання інсулінорезистентності та цукрового діабету 2 типу	42
2.3. Моделювання запального процесу та його коморбідного перебігу на тлі інсулінорезистентності та цукрового діабету 2 типу	42
2.4. Тест толерантності до інсуліну та глюкометрія	43
2.5. Визначення показників ліпідограми плазми крові	44
2.6. Визначення показників газообміну	45

2.7. Визначення функціональної активності мітохондрій, її лептинзалежної регуляції та ролі клітинних і мітохондріальних лептинових рецепторів	45
2.8. Ультраструктурні дослідження зразків тканин	47
2.9. Визначення експресії білків	48
2.10. Визначення вмісту білка	50
2.11. Статистичний аналіз результатів	50
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ	52
3.1. Розробка експериментальної моделі коморбідного перебігу запального процесу на тлі інсулінорезистентності та цукрового діабету 2 типу	52
3.2. Морфологічні прояви мітохондріальної дисфункції при ЛПС-індукованому запаленні в легенях на тлі інсулінорезистентності та ЦД2	59
3.3. Механізми регуляції енергетичного метаболізму при коморбідному перебігу запального процесу в легенях та метаболічних порушень	69
3.3.1. Метаболічні прояви перебігу ЛПС-індукованого запального процесу на тлі інсулінорезистентності та ЦД2	69
3.3.2. Зміни функції мітохондрій при ЛПС-індукованому запальному процесі та метаболічних порушеннях	72
3.3.3. Лептинзалежні механізми регуляції функції мітохондрій при ЛПС-індукованому запальному процесі та інсулінорезистентності	77
3.3.4. Зміни експресії лептинових рецепторів і лептину в тканинах при коморбідному перебігу запалення в легенях і метаболічних порушень	83

РОЗДІЛ 4. АНАЛІЗ І УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ	89
ВИСНОВКИ	103
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	106
ДОДАТКИ	136

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ

IL – інтерлейкін

IRS – субстрат рецептора інсуліну

LEPR – лептиновий рецептор

PI3K – фосфатидилінозитол-3-кіназа

TNF – фактор некрозу пухлин

VO₂/кг – споживання кисню за хвилину на 1 кг маси тіла

VCO₂/кг – виділення вуглекислого газу за хвилину на 1 кг маси тіла

АГ – артеріальна гіпертензія

АГБ – аерогематичний бар'єр

АТФ – аденозинтрифосфат

ВЖД – високожирова дієта

ДО – дихальний об'єм

ЕПР – ендоплазматичний ретикулум

ЕТЛ – електронтранспортний ланцюг

ІР – інсулінорезистентність

ЛПС - ліпополісахарид

ЛР – лептинорезистентність

МС – метаболічний синдром

НАД – нікотинаміддинуклеотид

ТГ – тригліцериди

ФАД – флавінаденіндинуклеотид

ХОД – хвилинний об'єм дихання

Хол – загальний холестерин

ХолЛПВЩ – холестерин ліпопротеїдів високої щільності

ХолЛПДНЩ – холестерин ліпопротеїдів дуже низької щільності

ХолЛПНЩ – холестерин ліпопротеїдів низької щільності

ЦД2 – цукровий діабет 2 типу

ЦНС – центральна нервова система

ВСТУП

Актуальність

Серед причинних факторів високої поширеності коморбідної патології на тлі інсулінорезистентності (ІР) та цукрового діабету 2 типу (ЦД2) у світі особливе місце займає епідемія метаболічного синдрому - симптомокомплексу, який об'єднав у собі модифіковані фактори ризику розвитку і важкого перебігу ряду соціально значущих захворювань, що призводять до катастрофічного зниження якості життя працездатного населення. Однією з найбільш обговорюваних останніми роками проблем сучасної медицини є коморбідний перебіг пневмонії і метаболічних розладів, зокрема, ЦД2 та механізми обтяження патологічного процесу в цих умовах. Показано, що захворюваність і короткострокова або довгострокова смертність від пневмонії у пацієнтів з ЦД 2 типу набагато вища, ніж у пацієнтів, які не страждають на діабет [1, 2, 3].

Сучасні дослідження засвідчують, що запальні захворювання легень можуть сприяти резистентності до інсуліну. У свою чергу, гіперглікемія є незалежним фактором ризику тяжких клінічних результатів серед пацієнтів з пневмонією або іншими респіраторними захворюваннями [4, 5, 6].

Одним з важливих адипокінів, задіяних до механізмів розвитку метаболічного синдрому, ІР та ЦД2, є лептин. Зв'язуючись із специфічними рецепторами, лептин відіграє провідну роль в регуляції енергетичного обміну, харчової поведінки, знижуючи відчуття голоду та збільшуючи витрати енергії, а також регулює ряд інших фізіологічних функцій [7, 8, 9]. Розвиток лептинорезистентності, яка є патогенетичним механізмом метаболічного синдрому, включає порушення структури гена *ob*, транспорту лептину через гематоенцефалічний бар'єр, функції лептинових рецепторів та внутрішньоклітинних механізмів передачі лептинового сигналу. Незалежно від причини порушення біологічної функції лептину, його висока концентрація веде до зниження секреції інсуліну, інгібує дію цього гормону на гепатоцити та сприяє розвитку інсулінорезистентності та ЦД2 типу [10, 11, 12]. На відміну від центральних, периферичні механізми впливу лептину, зокрема, через лептинові рецептори мітохондрій, вкрай мало досліджені. Так, показано, що вплив

лептину на кардіоміоцити може стимулювати мітохондріальну дисфункцію та розвиток апоптозу, особливо в умовах надмірного внутрішньоклітинного накопичення кальцію [13].

Лептин може бути важливим патогенетичним чинником у розвитку коморбідної патології. Відомо, що зростання рівня лептину в плазмі сприяє патології легень через свою прозапальну дію, а гіперглікемія та резистентність до лептину й інсуліну можуть посилювати порушення легеневої функції [14, 15, 16]. Однак, незважаючи на інтенсивні дослідження, роль лептинзалежних механізмів у патогенезі коморбідного перебігу запалення і метаболічних розладів, що обумовлює обтяження перебігу цих захворювань та погіршення їх прогнозу, недостатньо з'ясована і потребує вивчення.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами

Дисертаційна робота виконана в рамках відомчих тем НДР відділу гіпоксії Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України: «Механізми розвитку та компенсації гіпоксичних та оксидативних тканинних пошкоджень при нейродегенеративних і метаболічних розладах» (номер державної реєстрації 0116U004474 (2017-2019 рр)), «Молекулярно-генетичні механізми впливу гіпоксії на перебіг запалення та метаболічних розладів» (номер державної реєстрації 0119U103909, 2020-2023 рр).

Мета дослідження: встановити роль лептинзалежної регуляції у порушеннях функції мітохондрій при ЛПС-індукованому запальному процесі в легенях на тлі експериментальних метаболічних розладів.

Відповідно до мети роботи були поставлені такі **завдання:**

1. Розробити експериментальну модель коморбідного перебігу запального процесу на тлі інсулінорезистентності та цукрового діабету 2 типу.
2. Визначити морфологічні прояви мітохондріальної дисфункції при ЛПС-індукованому запаленні в легенях на тлі інсулінорезистентності та ЦД2.
3. Охарактеризувати метаболічні прояви перебігу ЛПС-індукованого запального процесу на тлі інсулінорезистентності та ЦД2.
4. Встановити зміни функції мітохондрій і лептинзалежні механізми регуляції

енергетичного метаболізму при коморбідному перебігу запального процесу в легенях та метаболічних порушень.

Об'єкт досліджень. Механізми коморбідного перебігу запальних процесів при метаболічних розладах.

Предмет досліджень. Порушення лептинзалежних механізмів регуляції енергетичного метаболізму при ЛПС-індукованому запальному процесі в легенях на тлі метаболічних розладів.

Методи дослідження: патофізіологічний експеримент (моделювання запального процесу та його коморбідного перебігу на тлі інсулінорезистентності та цукрового діабету 2 типу), фізіологічні (дослідження параметрів зовнішнього дихання та газообміну, полярографічне визначення функціональної активності мітохондрій), біохімічні (визначення параметрів вуглеводного та ліпідного обміну), морфологічні (ультраструктурні дослідження зразків тканин), молекулярно-біологічні (визначення експресії білків) та методи математичної статистики.

Наукова новизна одержаних результатів

При виконанні дисертаційної роботи розроблено експериментальну модель коморбідного перебігу у щурів ЛПС-індукованого запального процесу на тлі інсулінорезистентності, викликаного вживанням високожирової дієти, та цукрового діабету 2 типу.

Вперше встановлено, що ЛПС-індуковане запалення в легенях на тлі інсулінорезистентності та цукрового діабету 2 типу характеризується прогресивними порушеннями ультраструктури аерогематичного бар'єру легень, газообміну, структури і функції мітохондрій, параметрів вуглеводного і ліпідного метаболізму.

Встановлено, що запальний процес в легенях супроводжується пригніченням мітохондріального дихання, зменшенням спряження окиснення і фосфорилування, що може призводити до нестачі АТФ. При запаленні на тлі інсулінорезистентності відбувається компенсаторне відновлення процесів окиснення на комплексах I і II ЕТЛ мітохондрій, однак для окисного фосфорилування більш ефективно використовуються ліпідні субстрати та піруват. При коморбідному перебігу з ЦД2 запальний процес, навпаки, супроводжується поглибленням розладу енергетичного

метаболізму.

Вперше охарактеризовано порушення лептинзалежних механізмів регуляції енергетичного метаболізму при ЛПС-індукованому запальному процесі в легенях на тлі метаболічних розладів. Встановлено гальмівну функцію лептину на мітохондріальне дихання в нормі і при моделюванні інсулінорезистентності при використанні різних метаболічних субстратів, яка опосередковувалася лептиновими рецепторами мітохондрій. Виявлено, що ЛПС-індуковане запалення супроводжується зростанням експресії лептину в легенях і печінці і водночас редукцією лептинзалежної регуляції швидкості окисного фосфорилування на комплексі I ЕТЛ мітохондрій, а при інсулінорезистентності – на комплексах I і II ЕТЛ мітохондрій, в останньому випадку виявлено також редукцію експресії лептину і лептинових рецепторів.

Практичне значення отриманих результатів

При виконанні роботи встановлено механізми, що сприяють нестачі енергетичного метаболізму і, внаслідок цього, обтяженню патологічного процесу при коморбідному перебігу запалення в легенях і метаболічних розладів. Це надає підстави для розробки патогенетичних методів лікування, спрямованих на компенсацію енергетичного метаболізму, зменшення мітохондріальної дисфункції і покращення прогнозу у пацієнтів з цією тяжкою коморбідною патологією.

Одержані результати можуть використовуватися в науковій, освітній сфері, а також у клінічній медицині з метою доповнення патофізіологічних відомостей і покращення лікування хворих із вищезазначеними поширеними тяжкими захворюваннями.

Особистий внесок здобувача. Дисертаційна робота є завершеним самостійним дослідженням автора. Автором було проведено розробку основної наукової ідеї, аналіз літератури відповідно до теми дисертації, формулювання мети і завдань дослідження. Автором особисто проведено експериментальні дослідження та аналіз одержаних результатів. Окремі експериментальні методи виконувались за допомогою наукових співробітників відділу гіпоксії Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, які є співавторами опублікованих наукових праць.

Інтерпретація отриманих результатів та їх узагальнення проводилась здобувачем особисто за участі наукового керівника.

Апробація результатів дисертації. Основні положення та результати дисертаційної роботи доповідалися та обговорювалися на: 20-ому з'їзді Українського фізіологічного товариства з міжнародною участю, присвяченому 95-річчю від дня народження академіка П.Г. Костюка (Київ, 27-30 травня 2019 р.); науково-практичній конференції з міжнародною участю «Галицькі читання: Сучасні уявлення щодо патогенезу запалення: місцеві та системні механізми» (Івано-Франківськ, 19-20 вересня 2019 р.); VIII Національному конгресі патофізіологів України з міжнародною участю «Патологічна фізіологія – охороні здоров'я України», присвяченого 120-річчю Одеської патофізіологічної школи (Одеса, 13-15 травня 2020 р.); Перших читаннях, присвячених Д.О. Альперну «Актуальні питання патологічної фізіології» (до 150-річчя кафедри загальної та клінічної патофізіології імені Д.О. Альперна) (Харків, 26 березня 2021 р.); IV науково-практичній конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю «Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації» (Харків, 19 травня 2022 р.); Пленумі Українського наукового товариства патофізіологів (Тернопіль, 15–17 вересня 2022 р.); XIII науково-практичній конференції «Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм» (Тернопіль, 26-28 жовтня 2022 р.); 8th Annual Summit on Cardiovascular, Renal and Glycemic Outcomes - The Virtual CVOT Summit 2022 (Munich, Germany, 10-11 Nov 2022); 16th International Conference “Advances in Pneumology” (Berlin, Germany, December 8-10, 2022); V науково-практичній конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю (м. Харків, 18 травня 2023 р.), XXII читаннях ім. В. В. Підвисоцького (Одеса, 18-19 травня 2023 р.); 17th International Conference “Advances in Pneumology” (Vienna, Austria, 3-5 November 2023); Всеукраїнській науково-практичній конференції молодих учених «Медична наука – 2023» (Полтава, 1 грудня 2023 р.), а також на семінарах відділу гіпоксії Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України.

Публікації. За матеріалами дисертації було опубліковано 18 друкованих робіт: 4 статті у фахових наукових журналах, затверджених МОН України, у тому

числі 2 статті, що індексуються у наукометричних базах Web of Science та Scopus, і 14 тез доповідей на конференціях.

Структура та обсяг дисертації. Дисертація викладена українською мовою на 135 сторінках; складається з анотації, змісту, переліку умовних позначень, символів, одиниць, скорочень і термінів, вступу, огляду літератури, матеріалів і основних методів дослідження, розділу власних досліджень, аналізу й узагальнення результатів дослідження, висновків, списку використаних джерел із 266 найменувань. Дисертація проілюстрована 2 таблицями і 26 рисунками.

РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1 Епідеміологія метаболічного синдрому та сучасні концепції механізмів його розвитку

Метаболічний синдром (МС) є найпоширенішим розладом ендокринної регуляції, що становить одну з загрозливих проблем охорони здоров'я ХХІ століття. Останні роки він залишається чи не найважливішою проблемою ендокринології, кардіології, дієтології, внутрішньої та сімейної медицини. Вчені пов'язують розвиток цієї патології зі стрімкою урбанізацією, зловживанням висококалорійної їжі, малорухливим способом життя та зростанням стресових навантажень [17].

Французьким вченим J. Samus [18] була опублікована стаття під назвою «Поодагра, діабет, гіперліпідемія: триметаболічний синдром», вміст якої відображав взаємозв'язок між цими станами. Через 2 роки Н. Mehnert та Н. Kuhlmann [19] в своїй публікації, яка присвячена зв'язку між артеріальною гіпертензією (АГ) та цукровим діабетом назвали подібне поєднання захворювань синдромом достатку. G. Reaven [20] поєднав ці клінічні прояви поняттям «метаболічний синдром X», в основі якого ключова роль належить інсулінорезистентності, яка індукує розвиток компенсаторної гіперінсулінемії, гіпертригліцеридемії, АГ та абдомінального ожиріння. В подальшому цей симптомокомплекс N. Kaplan [21] назвав смертельним квартетом.

З роками кількість носіїв компонентів МС, за даними різних авторів, варіювала від 14 до 35% серед дорослого населення та продовжує збільшуватись навіть серед дітей та підлітків, при чому достовірно частіше зустрічається в чоловіків ніж в жінок [22, 23].

Клініцисти не завжди надають належної уваги «епідемії ХХІ століття». У практичних умовах МС часто не діагностується і, відповідно, пацієнти не отримують адекватної терапії. Незважаючи на те, що відомі провідні механізми розвитку МС, але деякі патогенетичні механізми залишаються недостатньо вивченими [24].

В останні десятиліття закордонні дослідники найважливішу роль в механізмі розвитку МС відводять адипоцитам жирової тканини [25, 26]. Жирова тканина

представляє собою орган, що має ендокринні та паракринні функції. Вони залежать від морфології самих адипоцитів та їх локалізації. Слід зазначити, що вісцеральна жирова тканина більш активна в ендокринологічному плані ніж підшкірна жирова тканина [27].

Збільшення в організмі жирової тканини, особливо абдомінальної, призводить не тільки до психологічних та косметичних проблем, але це ще може бути тригерним фактором до високого ризику МС, який в свою чергу є підґрунтям до розвитку ішемічної хвороби серця, АГ і ЦД2 [28, 29].

Цукровий діабет – це тяжке прогресуюче захворювання, що характеризується хронічною гіперглікемією, в результаті порушеної секреції інсуліну (цукровий діабет 1-го типу) та/або зниженої толерантності до інсуліну (цукровий діабет 2-го типу). Згідно з даними Міжнародної діабетичної федерації (International Diabetes Federation), кількість випадків цукрового діабету у світі набуває вигляду епідемії: у 2021 році уражено 537 мільйонів хворих [30], але спостерігається тенденція подальшого розповсюдження діабету серед урбанізованого (міського) працездатного населення країн, що розвиваються, у осіб віком 40–59 років приблизно однаково як чоловічої, так і жіночої статі. Прогнозується, що до 2030 року кількість хворих на діабет збільшиться до 552 млн, а до 2035 – до 592 млн [31, 32, 33, 34].

Епідеміологічне зростання цукрового діабету не обійшло нашу країну. Це підтверджується даними Центру медичної статистики МОЗ України, станом на 2019 рік в Україні зареєстровано 207 383 пацієнтів з цукровим діабетом (дані надані без урахування статистики АР Крим та окупованих територій Донецької та Луганської областей), що приймають препарати інсуліну (58 954 – цукровий діабет 1 типу, 138 563 – цукровий діабет 2 типу, 9 886 – педіатричні пацієнти). Для ЦД2, крім порушень, пов'язаних з секрецією інсуліну, характерним є феномен інсулінорезистентності та прихований перебіг з тривалим періодом уявного благополуччя, коли захворювання буває не діагностованим [35].

Більшість вчених патогенетичною основою МС вважають ІР [36, 37]. Головними причинами розвитку ІР вважається ожиріння, дисліпідемія, оксидативний стрес, стрес ендоплазматичного ретикулуму та запалення. ІР проявляється як

стійкість клітин організму до дії інсуліна та виникає внаслідок порушення проведення в цих клітинах інсулінового сигналу, реалізація якого здійснюється по мембранно-опосередкованому механізму [38].

Можливим фактором виникнення IP може бути мутація білків, що беруть участь в процесі передачі інсулінового сигналу [39], серед складових інсулінового каскаду, що включає рецептор, субстрат інсулінового рецептору (білок IRS), PI3-кіназний каскад та систему активації глюкозного транспортеру GLUT-4 [38]. Рецептор інсуліна являє собою гетеродимер, який складається з двох α -субодиниць та двох β -субодиниць, що пов'язані між собою дисульфідними містками. Кожна з глікопротеїнових субодиниць містить багато глікозидних залишків, виконує певну функцію і має особливу структуру [40]. α -субодиниці розташовані на зовнішній поверхні клітинної мембрани та містять місце зв'язування інсуліну. β -субодиниці перетинають мембрану і оголюються або виступають на внутрішній поверхні мембрани та мають сайт зв'язування для АТФ, який активує кіназну функцію та індукує автофосфорилування рецепторів у залишках тирозину [41].

Фізіологічна передача сигналів інсуліна відбувається після зв'язування інсуліна з специфічними рецепторами на клітинній поверхні, яка активується лігандом тирозинкіназою. Зв'язування інсуліна з рецептором призводить до фосфорилування тирозина, інших субстратів та активації двох паралельних шляхів: шлях фосфатиділінозитол-3-кінази (PI3K) та шлях кінази мітогенактивованого білка (MAP) [42]. Тирозинкіназа фосфорилує протеїни субстрата рецептора інсуліна (IRS) внаслідок чого вони набувають здатності з'єднуватись з білками, що містять сульфгідрильну групу. Одним з таких білків є p85-субодиниця PI3-кінази. В нормі тирозинкіназна активність в м'язах та гепатоцитах зростає пропорційно до рівня глюкози в об'ємі фізіологічної концентрації інсуліну в плазмі крові, тоді як ця активність при діабеті знижена на 50% і більше [43].

За механізмом впливу існує 5 груп мутацій рецептора інсуліна. Одні з них призводять до дефектів зв'язування з інсуліном, інші – до зниження швидкості біосинтеза, дефектів посттрансляційної модифікації та внутрішньоклітинного

транспорту, прискороного руйнування білка-рецептора та зниження тирозинкіназної активності [44].

Крім рецепторних механізмів розвитку ІР, існують пострецепторні, які пов'язані опосередкованим порушенням роботи переносників глюкози (GLUT). Існує 5 типів переносників глюкози в середину клітини, але найважливішим виявляється GLUT-4, який є єдиним інсулінозалежним переносником глюкози. Він локалізується в клітинах тканин, чутливих до інсуліну, а саме це скелетні м'язи, серцевий м'яз та жирова тканина, і переносить глюкозу шляхом полегшеної дифузії [45, 46]. Порушення, які призводять до інсулінорезистентності можливі при глюкозуванні або зменшенні транслокації GLUT-4 [47, 48].

Важливу роль у розвитку ІР та ЦД2 відіграє резистентність жирової тканини до протиліполітичної дії інсуліна. Встановлено, що у осіб з вісцеральним типом ожиріння спостерігається хронічне асептичне запалення гіпертрофованих адипоцитів. Вісцеральна жирова тканина секретує багато адипокінів та цитокінів, які грають значну роль у розвитку ІР, гіперглікемії та асоційованими з ними ускладненнями [49, 50, 51, 52].

При ожирінні та ЦД2 в результаті окисного та карбонильного стресу відбувається зростання рівня малонового діальдегіду і дієнових кон'югатів, які впливаючи на ендотелій судин, призводять до його дисфункції [53]. Дисфункція ендотелію, що виникає при ІР характеризується гіпопродукцією оксида азота (NO), який має вазодилітаторні властивості, але надмірне накопичення внутрішньоклітинного NO в клітинах ендотелія та β -клітинах підшлункової залози при дисліпідемії прискорює апоптоз цих клітин [54].

Ендотеліальна дисфункція, що виникає при ІР супроводжується дисбалансом цитокінів та дефіцитом антиоксидативних систем [52, 55].

Підтверджено, що при ІР виникає хронічне латентне субклінічне запалення жирової тканини інфільтрованої мононуклеарними клітинами, які продукують цитокіни [56, 57]. Цитокіни – численна група сигнальних білкових молекул, які синтезуються та секретуються різними клітинами організму, насамперед, клітинами імунної системи. До прозапальних цитокінів відносять інтерлейкіни ІЛ-1, ІЛ-2, ІЛ-3,

IL-6, IL-9, IL-12, а також фактор некрозу пухлин (TNF- α). Деякі цитокіни, протизапальні, запобігають запальному процесу (IL-4, IL-10) [58, 59].

Слід зазначити, що в межах взаємозв'язку ожиріння, запалення та IP більш досліджено механізми, пов'язані з TNF- α та IL-6 [60]. Відомо, що TNF- α знижує тирозинпротеїнкіназну активність інсулінового рецептора, інсулінстимульоване фосфорилування субстрата інсулінового рецептора та експресію транспортера GLUT-4 в м'язовій і жировій тканинах, що супроводжується порушенням транспорту глюкози [61, 62, 63]. Також TNF- α знижує експресію гена ліпопротеїнліпази, стимулює ліпогенез та синтез жирних кислот, що додатково підсилює ступінь IP і ожиріння [64, 65].

Стосовно IL-6, то він також знижує експресію транспортера глюкози GLUT-4 та субстрата інсулінового рецептора, при тому маючи ще й протизапальну дію за рахунок зниження TNF- α та інтерферона [66]. Під дією цього цитокіну підвищується рівень гліцеролу та вільних жирних кислот в сироватці крові, що супроводжується ліпотоксичною дією на β -клітини підшлункової залози [67, 68].

1.2. Особливості ендокринної активності адипозної тканини при метаболічних розладах

В останні роки накопичується все більше даних на користь того, що жирова тканина представляє собою найважливіший ендокринний орган. Доведено, що клітини жирової тканини, які синтезують адипокіни є повноцінним енергетичним органом, а не тільки джерелом енергії [8, 69]. Адипокіни – це велике сімейство біологічно активних речовин з гормоноподібною дією, частина з яких секретується безпосередньо клітинами абдомінальної жирової тканини, а інша – утворюється в клітинах деяких тканин, але опосередковано впливають на функціонування та розвиток жирової клітковини. Серед них – лептин, адипонектин, грелін, резистин, вастин, ретинол-зв'язуючий протеїн, оментин та багато інших [70, 71].

Загальними властивостями адипокінів є: участь у регуляції обмінних процесів на місцевому або системному рівні, підвищення або зниження чутливості тканин до

інсуліну, а також прозапальна або протизапальна дія. Ці біоактивні фактори, що виділяються жировою тканиною, циркулюють і передають інформацію іншим метаболічно активним органам, таким як м'язи, печінка, підшлункова залоза та мозок за допомогою ендокринних механізмів, тим самим модулюючи системний метаболізм [72, 73].

З одного боку, жирова тканина виконує енергетичну функцію, яка полягає у накопиченні та вивільненні ліпідів, а з іншого - ендокринну функцію і виробляє безліч факторів, які циркулюють та регулюють системний метаболізм та запалення [74]. Жирова тканина гістологічно поділяється на три типи: біла, що становить понад 95% жирової маси, бура, яка становить від 1% до 2%, та коричнева. Якщо останні беруть участь у механізмі вироблення енергії, то біла жирова тканина являє собою депо для накопичення жиру та служить найбільшим ендокринним органом для системної секреції адипокінів та цитокінів [75, 76].

Взаємозв'язок між запаленням та метаболічною дисфункцією включає вплив імунних клітин на регуляцію системного метаболізму та запалення, що називають імунометаболізмом [77]. Хронічне запалення жирової тканини значною мірою пов'язане з підвищеним накопиченням прозапальних макрофагів, які є основними імунними клітинами, що секретують більшу частину запальних цитокінів, галектину-3 та екзосом як у людини, так і у мишей. Зі збільшенням маси тіла у адипозній тканині збільшується кількість макрофагів, які фагоцитують жирові фрагменти [78,79]. Зниження ваги супроводжується зменшенням вираженості запального процесу в адипозній тканині та корелює зі зменшенням інфільтрації тканини макрофагами. Зі збільшенням жирової маси макрофаги, що інфільтрують адипозну тканину, також піддаються фенотиповому переключенню з M2-подібних поляризованих протизапальних на M1-подібні поляризовані прозапальні клітини, які продукують прозапальні цитокіни, активні форми кисню, оксид азоту та знищують патогени [80, 81]. Накопичення макрофагів в адипозній тканині пов'язано з підвищеним виробленням хемокінів та збільшенням проліферації резидентних макрофагів [82, 83].

У рамках взаємозв'язку ожиріння, запалення та інсулінорезистентності заслуговують на увагу такі цитокіни, як лептин, адипонектин, фактор некрозу

пухлини- α (TNF- α) та інтерлейкін-6 (ІЛ-6). Розуміння властивостей цих речовин дозволить отримати уявлення про можливу сферу впливу адипозної тканини на організм [84].

Серед адипокінів значну увагу привертає адипонектин. Адипонектин - це білок з молекулярною масою близько 30 кДа, що складається з 244 поліпептидів та продукується як білими, так і коричневими адипоцитами з найвищим рівнем у підшкірній жировій тканині. Цей гормон має різні ефекти на організм. При обстеженні хворих на ЦД II типу було виявлено значне зниження рівня адипонектину порівняно з пацієнтами без діабету. Крім того, при станах, які супроводжуються запальною реакцією жирової тканини, секреція адипонектину знижена, що обумовлено придушенням активності транскрипційного фактора – ядерного фактора каппа-бі (NF- κ B) в макрофагах та моноцитах, а також в ендотеліальних клітинах [74, 85]. Адипонектин регулює енергетичний гомеостаз і надає антизапальний та антиатерогенний ефекти. Протизапальні властивості адипонектину обумовлені зменшенням адгезії нейтрофілів, активацією макрофагів, вивільненням оксиду азоту з судинної стінки, зниженням концентрації розчиненого E-селектину та зменшенням активації тромбоцитів. При пошкодженні судинної стінки він швидко накопичується в субендотеліальному просторі, перешкоджаючи при цьому експресії молекул адгезії, акумуляції окислених ліпопротеїнів низької щільності (ЛПНЩ) і трансформації макрофагів у пінисті клітини, і пригнічує проліферацію гладком'язових клітин.

Адипонектин пригнічує активність ферментів печінки, що беруть участь в глюконеогенезі, це сприяє збільшенню транспорту глюкози в м'язи, що активує окислення жирних кислот і підвищує чутливість тканин до інсуліну. Експресія, секреція та плазмовий рівень адипонектину знижуються при ожирінні та/або абдомінальному розподілі жирової тканини, тим самим підкресливши зворотний взаємозв'язок ступеня ожиріння та продукції адипонектину [66, 86, 87]. Деякі дослідники пояснюють це наявністю інгібіторів експресії та/або секреції адипонектину, що продукуються жировою тканиною. Доведено, що принаймні одним із таких інгібіторів є TNF- α .

TNF- α є типовим прозапальним цитокіном та одночасно адипокіном, який

продукується моноцитами, макрофагами, ендотеліоцитами, мастоцитами, клітинами нейроглії і в окремих випадках - Т- і В-лімфоцитами і має 157 амінокислотних залишків з молекулярною масою 17 кДа [88]. Тривалий час вважалося, що основними продуцентами TNF- α є моноцити/макрофаги у відповідь на вплив різних видів імунних модуляторів і тільки в 1993 році в експерименті було вперше описано продукція TNF- α жировою тканиною, а в подальших дослідженнях описані його зміни при ЦД 2 типу в людини [89, 90]. Цей цитокін відіграє важливу роль у розвитку інсулінорезистентності за рахунок зниження фосфорилування тирозину інсулінового рецептора та субстрату інсулінового рецептора першого типу у м'язовій тканині та в абдомінальній жировій тканині. TNF- α знижує передачу інформаційного сигналу біологічної дії інсуліну, посилюючи інсулінорезистентність, постійно присутню при ЦД2, а також перешкоджаючи поглинання глюкози і вільних жирних кислот жировою тканиною, та залучений в патогенез інсулінорезистентності як у печінці, так і в м'язах. Показано, що активація серинкінази TNF- α підвищує фосфорилування серину в субстраті інсулінових рецепторів 1 та 2 типу, що послаблює проведення інсулінового сигналу. Поряд з цим TNF- α пригнічує функціональну активність β -клітин і потенціює глюкозотоксичність, що призводить до розвитку ЦД2 [91, 92].

З ожирінням пов'язують ще один прозапальний цитокін – ІЛ-6, який представляє собою глікопротеїн з молекулярною масою 20-30 кДа, що включає 183 амінокислотних залишки. Близько 30% циркулюючого ІЛ-6 продукується абдомінальною жировою тканиною, решта 70% секретується багатьма тканинами і клітинами, включаючи моноцити, макрофаги, фібробласти, Т- і В-лімфоцити, гепатоцити, кератиноцити, ендотеліальні, кровотворні клітини, клітини пухлин різного походження. Рецептор ІЛ-6 також експресується в декількох областях мозку, таких як гіпоталамус, в якому він контролює апетит та споживання енергії. Встановлено, що рівень експресії гена ІЛ-6 в жировій тканині має пряму кореляцію як зі ступенем активування поглинання глюкози, так і зі ступенем вираженості інсулінорезистентності та гіперінсулінемії. Концентрація ІЛ-6 у крові прямо корелює з індексом маси тіла та підвищена при ожирінні, інсулінорезистентності та ЦД 2-го типу. У той же час ІЛ-6 може чинити і протизапальний ефект за рахунок зниження

рівнів TNF- α та інтерферону [66, 93].

1.2.1. Сучасні відомості про лептин і лептинзалежну регуляцію

Першим та найбільш дослідженим специфічним для жирової тканини адипокином є лептин (від грец. leptos - тонкий), який був відкритий у 1994 році в Рокфелерському університеті американським генетиком Джефреєм Фрідманом [94]. У разі підвищення індексу маси тіла відбувається збільшення секреції лептину, що призводить до зниження споживання їжі. Цей адипокін являє собою циркулюючий протеїн, мішенню якого є аркоподібні ядра гіпоталамуса. При порушенні сприйняття лептинових сигналів порушується секреція багатьох нейропептидів, що регулюють харчову поведінку і витрату енергії. Хоча лептин повинен знижувати вагу при високих рівнях його у крові, багато випадків ожиріння демонструють резистентність до лептину. Лептинорезистентність (ЛР) може бути пов'язана або з дефектом транспорту лептину через гематоенцефалічний бар'єр, або з дефіцитом внутрішньоклітинних сигнальних механізмів [95, 96].

Лептин служить сполучною ланкою між адипоцитами і β -клітинами підшлункової залози, стимулюючи секрецію інсуліну в умовах інсулінорезистентності. Гіперпродукція лептину жировою тканиною супроводжується підвищенням ступеня інсулінорезистентності, і цей ефект опосередковується впливом адренергічної системи у периферичних тканинах. Блокада транспорту глюкози або гліколізу в присутності високих рівнів інсуліну пригнічує експресію та секрецію лептину в адипоцитах. Відомо, що лептин сам відіграє важливу роль у розвитку резистентності до своєї дії, що називають «лептин-індукованою лептинорезистентністю». Перманентне підвищення рівня лептину погіршує стан лептинових рецепторів і зменшує їх загальну кількість. При цьому розвивається лептинорезистентність, яка збільшує схильність пацієнтів до аліментарного ожиріння, що сприяє подальшому зростанню рівня лептину та посиленню лептинорезистентності. Таким чином формується порочне коло [9].

Лептин являє собою поліпептидний гормон з молекулярною масою 16 кДа, що складається з 167 амінокислотних залишків та кодується геном ob/ob (obese

gene) у 7 хромосомі людини. Він має схожі за структурою з рецепторами цитокінів І класу трансмембранні рецептори (LEPR) та виражені гідрофільні властивості [97, 98]. Переважна кількість лептину синтезується клітинами жирової тканини, а в меншій кількості – клітинами м'язової тканини, шлунка, плаценти, печінки, легень, молочних залоз та кісткового мозку [99]. В крові цей адипокін може перебувати в двох формах – вільній та зв'язаній з специфічними зв'язуючими білками, де вільна є біологічно активною. Все більшу діагностичну цінність набуває визначення індексу вільного лептину: співвідношення між рівнями лептину та його рецептора [100].

Регуляторний ефект лептину опосередковується через взаємодію зі специфічними до нього лептиновими рецепторами на плазматичній мембрані. Лептин є єдиним продуктом єдиного гена, а його рецептор (LEPR) в результаті сплайсингу різних транскриптів (шматочків) представлений декількома різними ізоформами, які відрізняються за довжиною цитоплазматичного домену, необхідного для здійснення сигнальної трансдукції. Всі 6 ізоформ рецептора лептина, відомих як LEPRa, LEPRb, LEPRc, LEPRd, LEPRe та LEPRf, що експресуються в ЦНС та інших периферійних тканинах (печінці, β -клітинах підшлункової залози, плаценті, серці, м'язах, ендотелії судин, рецепторах смаку) мають загальний домен зв'язування лептина, але відрізняються внутрішньоклітинними доменами [101, 102]. Ізоформи поділяються на 3 класа: довгі, короткі та секреторні. Довга ізоформа LEPR (LEPRb) переважає в гіпоталамусі та регулює апетит, масу тіла та кісткову масу, а коротка знаходиться в багатьох периферійних тканинах і забезпечує транспорт та деградацію лептина. Для передачі сигналів всім ізоформам рецептора лептину необхідні янус-кінази (JAK1 та JAK2). JAK1- зв'язуючий домен містять всі ізоформи LEPR в своїй навколосмембранній ділянці. Активована JAK каталізує фосфорилування STAT білків (родина факторів транскрипції еукаріотів, які беруть участь у передачі сигналу від великої кількості цитокінів та факторів росту), які після активації транслокуються в ядро, де стимулюють експресію специфічних генів. LEPRe є розчинною ізоформою рецептора лептину, що не має трансмембранного домену, і

це дозволяє йому зв'язувати циркулюючий лептин та інгібувати його центральний транспорт. Цитоплазматична частина LEPRb зв'язана з JAK2, що сприяє фосфорилуванню самого JAK2 та трьох залишків тирозина (Y985, Y1077 и Y1138), а також дозволяє активувати інші медіатори на LEPRb, такі як STAT3, який в свою чергу регулює транскрипцію генів-мішеней лептина [103, 104].

Лептин має багато ендокринних та нейроендокринних функцій. Він регулює споживання їжі, масу тіла, енергетичний обмін, функцію серцево-судинної системи, впливає на рівень глюкози крові, залучений до процесів онкогенезу, запалення та аутоімунної агресії [7, 105]. Лептин регулює також репродуктивну функцію та відіграє життєво важливу роль у розвитку плоду, прозапальних імунних реакціях, ангиогенезі та ліполізі [106, 107]. Рецептори лептину експресуються по всьому тілу, включаючи центральну нервову систему, але функція периферичних рецепторів, в тому числі, мітохондріальних, менш досліджена [108, 109].

Лептин надходить з адипоцитів в кровотік, проходить через гематоенцефалічний бар'єр і надходить в області мозку, що беруть участь у регулюванні енергетичного балансу гіпоталамуса. Існує думка, що саме короткі ізоформи рецептора можуть транспортувати лептин через гематоенцефалічний бар'єр або утворювати гетеродимери з іншими мембранними білками на поверхні клітини. На рівні гіпоталамуса лептин регулює апетит та метаболізм, де він, впливаючи на центри насичення та голоду, зв'язується з рецепторами та викликає активацію сигналів, які гальмують прийом їжі та підвищують витрати енергії. Лептин, з одного боку, пригнічує експресію та біосинтез генів у нейронах, які стимулюють апетит: NPY (нейропептид Y), AGRP (агутаї-білок) та MCH (меланінконцентруючий гормон), а з іншого – активує експресію генів у нейронах, які знижують апетит: α -MSH (альфа-меланоцитостимулюючий гормон) та CART (транскрипт, регульований кокаїном та амфетаміном). Таким чином лептин може інгібувати нервові шляхи, що активуються стимуляторами апетиту (орексигенними), щоб зменшити споживання енергії та активувати шляхи, на які націлені анорексигенні засоби для пригнічення апетиту [110, 111, 112].

Доведено, що рівень лептину знаходиться в залежності від ендокринного статусу. Наприклад, концентрація його вище у жінок в порівнянні з чоловіками. Це може бути пов'язано також із різним розподілом жирової тканини у чоловіків та жінок, у яких сильніше розвинений підшкірний шар жиру, а від цього залежить різна швидкість синтезу лептину. Лептин впливає і на відділи головного мозку, що регулюють функцію щитовидної залози, гонад та симпатичну нервову систему [113, 114]. Мішенню дії лептину в гіпофізі є гонадотрофи, які експресують повнорозмірні лептинові рецептори LEPRb. В умовах *in vitro* лептин стимулює секрецію культивованими гонадотрофами як лютеїнізуючого так і фолікулостимулюючого гормону (ФСГ), у той час як в умовах *in vivo* спостерігається стимуляція секреції лише першого. Лептин у низьких концентраціях підвищує секрецію ФСГ, у той час як при підвищенні його концентрації секреція гормону пригнічується.

Лептин грає важливу роль у регуляції сперматогенезу, його концентрація в спермі негативно корелює з рухливістю сперматозоїдів, їх кількістю та обсягом еякуляту [115]. Лептин грає певну роль у сексуальній функції та регуляції настання статевої зрілості. У худих дівчат часто не настає овуляція або яйцеклітина не виходить із яєчника під час менструального циклу. Рівень лептину підвищується у жінок, які страждають на передменструальний синдром. Встановлено, що естрогени та прогестини різноспрямовано впливають на рівень лептину та чутливість клітин до цього гормону, модулюючи експресію *LepR*. У жінок концентрація лептину, що циркулює в крові, вища, ніж у чоловіків, і змінюється протягом менструального циклу. Вона плавно наростає від початку фолікулярної до середини лютеїнової фази і дещо знижується до кінця лютеїнової фази. При цьому в середині циклу відзначається передовуляторний пік концентрації лептину. Лептин у низьких концентраціях підвищує секрецію фолікулостимулюючого гормону (ФСГ), тоді як при підвищенні концентрації секреція ФСГ пригнічується [116, 117, 118].

Водночас основним гормоном, який регулює синтез лептину, є інсулін. Інсулін та інші пептидні гормони підшлункової залози, включаючи амелін, глюкагон та поліпептиди підшлункової залози, знижують споживання їжі та впливають на секрецію лептину [9]. У нормі лептин перешкоджає зниженню чутливості до інсуліну.

Короткочасна існуюча гіперінсулінемія не призводить до підвищення концентрації лептина в плазмі крові, а тривала призводить до цього за рахунок стимуляції вивільнення лептина, який опосередковано пригнічує секрецію інсуліна β -клітинами підшлункової залози. Зниження чутливості рецепторного апарату тканин до дії інсуліну призводить до його підвищення, що, у свою чергу, збільшує зміст лептина за допомогою зниженої регуляції рецепторів до лептину в гіпоталамусі [119, 120].

Лептин пригнічує як базальну так і глюкозостимульовану секрецію інсуліну. Механізм дії лептину полягає в тому, що відбувається активація та мембранна транслокація калієвих АТФ-залежних каналів, які гіперполяризують мембрану β -клітин і тим самим знижують секрецію інсуліну [121]. Блокада транспорту глюкози або гліколізу в присутності високих рівнів інсуліну пригнічує експресію та секрецію лептину в адипоцитах. Відомо, що у мишей з дефіцитом LEPR у периферичних тканинах швидкість секреції лептину білою жировою тканиною збільшується, і це дозволяє припустити, що лептин має негативний зворотний зв'язок на свою секрецію в адипоцитах. У білих адипоцитах лептин притуплює інсулінову реакцію, що призводить до зниження індукованого інсуліном поглинання глюкози та ліпогенезу, а у коричневих адипоцитах передача сигналів лептину послаблює стимульоване інсуліном поглинання глюкози за рахунок зниження активності кінази інсулінового рецептора [122]. Зміни в метаболізмі глюкози через застосування високожирової дієти пояснюють зниженням рівня лептину в кровообігу людини і, таким чином, сприяють збільшенню ваги та ожирінню. Гіперлептинемія є достатньою і необхідною для індукції резистентності до лептину, хоча збільшення маси тіла та споживання їжі в надмірних кількостях не залежать від наявності гіперлептинемії [9].

У печінці лептин сприяє синтезу ліпопротеїнів з ліпідів, але інгібує її з продуктів, що перетравлюються в кишечнику. Отже, пряма передача сигналів лептину в печінці сприяє катаболізму ліпідів, подібно до дії лептину на печінку через ЦНС. Проте, на відміну від дії лептину на печінку через ЦНС, печінкова передача сигналів лептину знижує чутливість печінки до інсуліну метаболізму глюкози. Лептин посилює розщеплення тригліцеридів у скелетних м'язах,

кетогенез у печінці, окиснення жирних кислот у скелетних м'язах та печінці. Відповідно, лептин зменшує розмір депо жирової тканини та знижує вміст ліпідів у скелетних м'язах, а також у печінці [123, 124, 125]. Лептин пригнічує стимульований інсуліном ліпогенез у білих адипоцитах, а інсулін знижує активність ліпази, що призводить до уповільнення розщеплення триацилгліцеринів та активації їх синтезу із жирних кислот. З цього випливає, що дія інсуліну на тропні тканини зводиться до стимуляції утилізації глюкози на синтез глікогену та жирів [38].

Також лептин, діючи як цитокін, сприяє запальним реакціям. Доказом того є те, що підвищені рівні циркулюючого лептину у пацієнтів з ожирінням значною мірою сприяють уповільненому запальному стану, який робить цих людей більш сприйнятливими до розвитку серцево-судинних захворювань, діабету II типу дегенеративних та аутоімунних захворювань [126, 127]. Цікаво, що лептин діє як на вроджену, так і на адаптивну імунну відповідь. Зокрема, в макрофагах лептин стимулює експресію CD39, CD69, CD25, CD71 і IL-1, а також має прозапальні властивості та активність, аналогічну іншим реагентам гострої фази, і підвищує секрецію запальних цитокінів, включаючи TNF- α , IL-6 IL-12. У нейтрофілах лептин сприяє хемотаксису та вивільненню активних форм кисню [128].

Вплив лептину на судинну стінку остаточно не вивчено. У літературі є дані, що повідомляють як про проангіогенну, так і про антиангіогенну дію описаної речовини [129, 130]. Важливим механізмом дії лептину є експресія індукцибельної синтази оксиду азоту (iNOS) та циклооксигенази-2 (ЦОГ-2), а також вироблення оксиду азоту (NO), простагландину E, IL-6 та IL-8. Рівні лептину також позитивно корелюють з рівнями фібриногену, інгібітора активатора плазміногену-1, фактору фон Віллебранду та фактору VIIa і негативно корелюють з протеїном C та тканинним активатором плазміногену. Ці події відповідальні за стимуляцію лептином окислювального стресу, а на серцево-судинному рівні вони призводять до запалення судин та гіпертрофії гладких м'язів судин, які сприяють атеросклерозу, гіпертонії, ішемічній хворобі серця та тромбозу [131, 132].

1.2.2. Лептинзалежні механізми розвитку окремих ланок метаболічного синдрому

В основі розвитку та прогресування МС лежить продукція адипозною тканиною біологічно активних речовин, які призводять до зниження чутливості периферичних тканин до інсуліну, гіперінсулінемії (ГІ), порушення вуглеводного, ліпідного обмінів, ініціюють процеси запалення та тромбогенезу [133]. ІР поряд зі зниженням секреції інсуліну призводить до ЦД2, який був вперше визнаний компонентом метаболічного синдрому в 1988 році. Гіперглікемія, ІР та дефіцит інсуліну є відмінними рисами ЦД2 [134, 135].

При синдромі ІР, якщо є стан гіперінсулінемії, то прогнозується високий рівень лептину. Резистентність до лептину частіше зустрічається у людей з ожирінням, що також призводить до ІР, маючи на увазі, що лептин відіграє роль у патогенезі ЦД2. Гіперлептинемія, що відображає резистентність до лептину, є ключовим фактором у розвитку ІР у пацієнтів із ЦД2, що робить лептин потенційним біомаркером для оцінки рівнів ІР. Підвищений рівень лептину у пацієнтів з ожирінням та діабетом може вказувати на резистентність до лептину; і оскільки лептин є сильним регулятором чутливості до інсуліну/гомеостазу глюкози, можливо, що при розвитку резистентності до лептину це може посилити ІР. [136, 137]. Наразі запропоновано низку пояснень феномена ІР, які включають порушення структури гена ожиріння *ob*, транспорту лептину через гематоенцефалічний бар'єр, функції лептинових рецепторів та внутрішньоклітинних механізмів передачі лептинового сигналу.

Довга форма *LEPR^b* переважно експресується в гіпоталамусі і, як вважають, відповідає за передачу центральної дії лептину. Короткі внутрішньоклітинні форми *LEPR* широко експресуються у різних периферичних тканинах. Функція цих рецепторів взагалі дуже мало вивчена. У поодиноких випадках вдається встановити спадкову природу ІР, яка обумовлена мутацією гена, що кодує рецептор *LEPR^b* та полягала в утворенні укороченого рецептора без трансмембранного та внутрішньоклітинного доменів [138, 139].

Вважається, що експресія лептину та секреція лептину жировою тканиною регулюються статусом харчування (голодування та годування), інсуліном, стероїдами

(глюкокортикоїдами та статевими стероїдами) та, можливо, іншими гормонами, а також β -адренергічною дією на адипоцити. Через зміни впливу цих факторів вночі рівень лептину зростає приблизно на 30% [140]. Порушення цієї регуляції можуть бути важливим фактором розвитку ЛР.

У розвитку асоційованої з ожирінням ЛР беруть також участь гіпоталамічне запалення, стрес ендоплазматичного ретикулуму та порушення аутофагії. Лептин регулює загальну чутливість організму до рівнів інсуліну та тригліцеридів у людей з дефіцитом лептину, і існує негативний зв'язок між резистентністю до інсуліну та концентрацією лептину у спинномозковій рідині [141, 142]. Ряд досліджень вказує на те, що реалізація основних метаболічних ефектів лептину залежить не так від його рівня, скільки від кількості рецепторів до нього [143, 144]. Лептин має інгібіторну дію на секрецію інсуліну, що пов'язано з індукованими лептином прозапальними цитокінами, такими як С-реактивний білок та інтерлейкін-6, що викликають апоптоз β -клітин підшлункової залози. Можливе пояснення може полягати в тому, що лептин та інсулін діють по тому самому шляху, що призводить до перехресних перешкод між лептином та інсуліном. Тирозинкіназа рецептора інсуліну бере безпосередню участь у клітинному процесі передачі сигналів інсуліну. Лептин також стимулює субстрат рецептора інсуліну та фосфатидилінозитол-3-кіназу (PI3K) у сигнальному шляху інсуліну, тим самим підвищуючи периферичну чутливість до інсуліну за рахунок підвищеного поглинання глюкози та окислення жирних кислот у тканинах [145].

Лептин у гіпоталамусі спочатку активує шлях JAK-STAT, який, в свою чергою, стимулює шлях інсуліну PI3K, і цей механізм відомий як «перехресні перешкоди лептин-інсулін». Резистентність до лептину, яка найчастіше зустрічається при ожирінні, також призводить до ІР, що вказує на роль лептину в патогенезі ЦД2 [104]. McNeely et al. також виявили у своєму дослідженні, що вищі рівні лептину передбачають підвищений ризик розвитку ЦД2 [146]. Це можливі механізми, за допомогою яких рівні лептину корелюють з ІР при ЦД2.

1.3. Перебіг та механізми запальних процесів на тлі метаболічного синдрому

Легенева інфекція посідає перше місце серед інфекційних ускладнень, що є однією з важливих причин смерті хворих на цукровий діабет. Встановлено, що причина схильності хворих на цукровий діабет до легеневих інфекцій полягає в тому, що в умовах гіперглікемії знижується імунна відповідь та послаблюється фагоцитоз. Основними збудниками у хворих на ЦД2, ускладненим легеневою інфекцією, є грамнегативні бактерії. Вік, перебіг ЦД2, тривалість перебування у стаціонарі, ускладнені захворювання легень, глікозильований гемоглобін, застосування гормонів та антибіотиків, інвазивні операції є факторами ризику легеневої інфекції у пацієнтів із ЦД2. Зі збільшенням віку та затяжним перебігом захворювання функції дихальної системи поступово знижуються, а кількість хвороботворних бактерій у дихальних шляхах, збільшуються, що пов'язано зі зниженням мукоциліарної функції у трахеї та бронхах у осіб похилого віку, що призводить до погіршення кашльового рефлексу та прогресивному зниженню еластичності легеневої тканини. Крім того, у більшості літніх хворих на ЦД2 спостерігається гіпоксемія, яка знижує об'єм крові в легеневих капілярах та вміст легеневого сурфактанту, що призводить до дисбалансу кровотоку та збільшує ймовірність легеневої інфекції. [147, 148].

Добре відомий зв'язок вірусних інфекцій з метаболічними порушеннями, що став предметом інтенсивних досліджень після появи коронавірусної хвороби 2019 року COVID-19, спричиненої коронавірусом тяжкого гострого респіраторного синдрому 2 (SARS-CoV-2). Зовсім недавно були накопичені дані, що свідчать про потенційний перехресний зв'язок між ЦД2 та COVID-19 [149]. Тісний зв'язок між COVID-19 та ЦД2 за Mahrooz et al. являє собою порочне коло. Інфекція SARS-CoV-2 викликає вивільнення прозапальних цитокінів, які призводять до IP та дисфункції β -клітин з подальшим зниженням секреції інсуліну. У пацієнтів із ЦД2 SARS-CoV-2 може індукувати вивільнення катехоламінів та глюкокортикоїдів, які являють собою гіперглікемічні гормони, що змінюють глікемічний контроль під час метаболічних невідкладних станів (гіперосмолярна гіперглікемія). Всі ці механізми викликають гіперглікемію, яка знижує імунну відповідь та підвищує вірулентність SARS-CoV-2. Крім того, хронічний запальний процес та порушення метаболізму глюкози при ЦД2

порушують регуляцію імунної системи, включаючи порушення функції Т-клітин, макрофагів та хемотаксис нейтрофілів, що сприяє інфікуванню вірусами. Пацієнти з ЦД2 не тільки схильні до різних інфекцій, але й мають більш тяжкий перебіг захворювання в порівнянні з пацієнтами без діабету. Було виділено кілька механізмів, які пояснюють, чому пацієнти з ЦД2 мають вищу смертність та ризик ускладнень, ніж населення загалом [150].

Можна припустити, що одним з патологічних факторів, які сприяють системній резистентності до інсуліну при COVID-19, може бути порушення передачі сигналів інсуліну за допомогою індукованого SARS-CoV-2 придушення ACE2, яке призводить до гіперактивності ангіотензину II, що супроводжується порушенням передачі сигналів інсуліну [151]. Інфекція SARS-CoV-2 сприяє окислювальному стресу в клітинах підшлункової залози, що призводить до гіпоксії та запалення з порушенням метаболізму глюкози. Більш того, SARS-CoV-2 безпосередньо пошкоджує важливі органи, що беруть участь у метаболізмі глюкози, такі як нирки та печінка, що призводить до зміни гомеостазу глюкози [152, 153].

Гіперглікемія пов'язана з глікозилюванням білків, мікроангіопатією альвеолярних капілярів та протеолізом сполучної тканини, що призводить до колапсу дрібних дихальних шляхів під час видиху. Гістопатологічні зміни в легенях хворих на ЦД2 включають потовщення альвеолярної, епітеліальної та легеневої капілярної базальної мембрани. Гіперглікемія може спричинити мікроангіопатію альвеолярних капілярів та неферментативне глікозилювання білків у легенях. Це робить колаген менш сприйнятливим до протеолізу, що призводить до його накопичення у сполучній тканині легень та викликає рестриктивне захворювання легень. Гіперглікемія також знижує мукоциліарний кліренс, що може призвести до посилення легеневої інфекції. Крім того, резистентність до інсуліну та системне запалення призводять до окислювального стресу та запальної реакції в легеневій системі. Він також може знижувати силу дихальних м'язів, що призводить до функціональних порушень в легенях. [154, 155]. Високі рівні глюкози стимулюють синтез прозапальних цитокінів, що призводить до окислювального стресу; крім того, стимулюється утворення молекул адгезії, які опосередковують запалення тканин. [156].

При метаболічному синдромі (МС) та ЦД2 активуються циркуляторна та тканинна ренін-ангіотензин альдостеронові системи (РААС) острівців підшлункової залози, які відіграють важливу роль у розвитку природного перебігу ЦД2 [157, 158]. Дисбаланс цитокінів, які модулюють слабе хронічне запалення в жировій тканині, може сприяти резистентності до інсуліну, спровокованої інфекційними агентами. У нещодавньому дослідженні Reiterer et al. показали нижчі рівні адипонектину як захисного адипоцитокіну проти ЦД2 у пацієнтів з гіперглікемією при COVID-19 [159].

Останні дослідження свідчать, що ожиріння викликає порушення респіраторної функції легень [160] та стимулює запальні процеси в легенях через активацію альвеолярних макрофагів [161]. На тваринних моделях було показано, що запальні реакції в легенях впливають на вироблення адипоцитокінів, лептину та адипонектину, цитокінів, білків гострої фази та інших медіаторів, що виробляються жировою тканиною, які можуть брати участь в імунних реакціях легень. Збільшення маси жирової тканини може також впливати на сприйнятливості до легневих інфекцій, посилювати легневе запалення, пов'язане з впливом навколишнього середовища, і загострювати обструкцію дихальних шляхів при вже існуючому захворюванні легень [162].

Розвиток лептинорезистентності, яка є патогенетичним механізмом метаболічного синдрому, включає порушення структури гена *ob*, транспорту лептину через гематоенцефалічний бар'єр, функції лептинових рецепторів та внутрішньоклітинних механізмів передачі лептинового сигналу. Незалежно від причини порушення біологічної функції лептину, його висока концентрація веде до зниження секреції інсуліну, інгібує дію цього гормону на гепатоцити та сприяє розвитку інсулінорезистентності та ЦД2 типу [10, 11, 12]. На відміну від центральних, периферичні механізми впливу лептину, зокрема, через лептинові рецептори мітохондрій, вкрай мало досліджені. Так, показано, що вплив лептину на кардіоміоцити може стимулювати мітохондріальну дисфункцію та розвиток апоптозу, особливо в умовах надмірного внутрішньоклітинного накопичення кальцію [13].

Лептин може бути важливим патогенетичним чинником у розвитку коморбідної патології. Відомо, що зростання рівня лептину в плазмі сприяє патології легень через свою прозапальну дію, а гіперглікемія та резистентність до лептину й інсуліну можуть посилювати порушення легеневої функції [14, 15, 16].

Незважаючи на відомий тісний зв'язок запалення в легенях та метаболічних порушень, роль лептину у коморбідному перебігу цих захворювань досі недостатньо вивчена і потребує дослідження. Особливу цікавість викликає роль лептину у регуляції функції мітохондрій за цих умов, оскільки порушення енергетичного метаболізму можуть бути вагомою причиною смертності хворих при коморбідному перебігу запалення в легенях та метаболічних порушень.

Матеріали, висвітлені в цьому розділі, опубліковано у наукових працях автора [24, 84, 129].

РОЗДІЛ 2.

МАТЕРАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1. Експериментальні тварини та експериментальні групи.

Експерименти проводили з використанням дорослих щурів-самців лінії Wistar, яких утримували у стандартних умовах Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України. Дослідження на тваринах проводили відповідно до рекомендацій ARRIVE (Animal Research: Reporting In Vivo Experiments) 2.0 [163] і були затверджені Комітетом з біоетики Інституту фізіології імені Богомольця, як відповідні до вимог Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються в експериментальних та інших наукових цілях (Страсбург, 1986), та чинного законодавства України з питань охорони піддослідних тварин.

Досліди проведено на 144 щурах-самцях лінії Вістар віком 6 місяців, масою 300-350 г, яких утримували в стандартних умовах віварію Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України і розподіляли на експериментальні групи випадковим чином.

Для розробки експериментальної моделі використовували такі групи тварин: 1) інтактний контроль (n=10); 2) введення ЛПС у дозі 1,0 або 0,5 мг/кг (ЛПС1 і ЛПС0,5, відповідно, n=5 кожна підгрупа); 3) вживання високожирової дієти (ВЖД, n=10); 4) вживання ВЖД і введення стрептозотоцину у дозі 20 або 25 мг/кг (n=24 і n=30, відповідно; з цих тварин відбирали щурів для групи ЦД2 за показниками глікемії відповідно до сучасних критеріїв Американської діабетичної асоціації [164]; 5) ВЖД і введення ЛПС у дозі 1,0 або 0,5 мг/кг (ВЖД+ЛПС1 і ВЖД+ЛПС0,5, відповідно, n=5 кожна підгрупа); 6) ЦД2 і введення ЛПС у дозі 1,0 або 0,5 мг/кг (ЦД2+ЛПС1 і ЦД2+ЛПС0,5, відповідно, n=5 кожна підгрупа).

Для проведення патофізіологічних досліджень використовували такі групи тварин: 1) інтактний контроль (n=10); 2) введення ЛПС у дозі 0,5 мг/кг (ЛПС, n=10); 3) вживання ВЖД і введення ЛПС у дозі 0,5 мг/кг (ВЖД+ЛПС, n=10); 4) ЦД2 (з використанням дози стрептозотоцину 25 мг/кг) і введення ЛПС у дозі 0,5 мг/кг (ЦД2+ЛПС, n=10).

Тварин виводили з експерименту через 3 доби після введення ЛПС і в такий же термін у групах порівняння під уретановим наркозом (1,5 г/кг), розкривали грудну і черевну порожнину, відбирали кров і зразки тканин для подальших досліджень.

2.2. Моделювання інсулінорезистентності та цукрового діабету 2 типу.

Для моделювання інсулінорезистентності та цукрового діабету 2 типу використовували модифікований метод Mansor та співавт. [165]. Інсулінорезистентність викликали за допомогою вживання тваринами високожирової дієти (ВЖД). ВЖД базувалася на стандартній дієті віварію (сухий комбінований корм для гризунів) з додаванням домішки жиру (внутрішній жир свині) до 58% від загальної калорійності, корм надавався у вигляді гранул із суміші подрібнених компонентів. Корм та вода надавалися без обмежень. Тривалість ВЖД становила 4 тижні. Розвиток інсулінорезистентності перевіряли за допомогою тесту толерантності до інсуліну після 2 та 4 тижнів експерименту.

Для відтворення цукрового діабету 2 типу після 2 тижнів ВЖД в/о вводили стрептозотон у дозі 25 мг/кг (Sigma, США). Ефекти розвитку гіперглікемії визначали через 2 доби шляхом вимірювання концентрації глюкози в периферичній крові. Поняття «діабет» визначалося за сучасними критеріями Американської діабетичної асоціації [164].

2.3. Моделювання запального процесу та його коморбідного перебігу на тлі інсулінорезистентності та цукрового діабету 2 типу.

Гостре запальне ураження легень викликали шляхом інтраперітонеального введення ліпополісахариду *E. coli* (ЛПС, Sigma, США) у дозах 0,5 або 1,0 мг/кг маси тіла тварини.

Для відтворення коморбідного перебігу запалення та метаболічних розладів щури знаходились на високожировій дієті (ВЖД) протягом 4-х тижнів з одноразовим внутрішньоочеревинним введенням на 14 добу вживання ВЖД стрептозотонину (25 мг/кг, Sigma, США). ЛПС вводили на 24 добу експерименту. Щури з груп порівняння (контроль та ЛПС) вживали стандартний корм. Тварин виводили з експерименту

через 3 доби після введення ЛПС.

2.4. Тест толерантності до інсуліну та глюкометрія.

Тест толерантності до інсуліну виконували за методом [166] з власною модифікацією за допомогою внутрішньоочеревинного введення 0,5 МЕ/кг рекомбінантного інсуліну людини короткої дії («Хумодар», Україна). Реакцію оцінювали за допомогою вимірювання вмісту глюкози в периферичній крові до і через 15, 30 і 60 хв після введення інсуліну. Відсутність зниження рівня глюкози на 15-30-й хвилині понад 6,1% [167] або відстрочення початку реакції на 60-ту хв дослідження вважали зниженою чутливістю до інсуліну (інсулінорезистентністю).

Концентрацію глюкози вимірювали глюкозооксидазним методом в периферичній крові, одержаній з кінчика хвоста тварини, за допомогою автоматичного глюкометра OneTouch Select (LifeScan, США), який відповідає всім вимогам ISO 15197 щодо точності, проміжної точності та повторюваності продуктивності [168, 169]. Хоча концентрації глюкози в капілярній крові, отримані під час тесту толерантності до глюкози, можуть бути значно вищі, ніж у венозній крові (в середньому на 1,7 ммоль/л), ця відмінність не встановлена для вимірювань без глюкозного навантаження [167], тому вимірювання в капілярній крові може бути застосовано у даному дослідженні.

Встановлено, що на основі біологічної варіабельності (яка є значно вищою, ніж лабораторна варіабельність) вимірювання глюкози повинно мати аналітичну похибку $\leq 2,9\%$, зміщення $\leq 2,2\%$ і загальну похибку $\leq 6,9\%$. Щоб уникнути неправильної класифікації показників, при глюкометрії метою повинна бути мінімізація загальної аналітичної помилки та упереджень. З використанням біологічної варіабельності концентрації глюкози, яка становить для здорових людей 4,8–6,1% інтраіндивідуально та 7,5–7,8% між особами, межа для встановлення діабету (або предіабету) фактично коливається на 0,5-0,9 ммоль/л і потребує повторного вимірювання [167]. З метою даного дослідження, відповідно до цього верхня межа глікемії для визначення діабету може бути статистично встановлена на рівні 8,0-12,0 ммоль/л для вимірювань незалежно від вживання їжі, нижчі показники можуть бути

віднесені до предіабету (за сукупністю діагностичних ознак). Спираючись на ці міркування, нами було прийнято вважати межею глікемії, яка свідчить про наявність діабету, понад 10 ммоль/л при повторних вимірюваннях [170].

Хоча для клінічного встановлення діагнозу традиційно потребують лабораторного визначення концентрації глюкози, а портативні глюкометри призначаються для моніторингу, точність останніх зараз суворо регламентується і досліджується [167, 169, 171, 172].

При проведенні наукового дослідження на тваринах використання автоматичного глюкометра має суттєві переваги: 1) у значному зменшенні крововтрати тварин, що дозволяє виконувати глюкометрію в динаміці дослідження; 2) у високій швидкості вимірювання, яка нівелює втрати глюкози у зразках крові в ході лабораторного визначення, з одного боку, та надає можливість проведення одночасних вимірювань у великих групах тварин в ході експерименту, з іншого. Ці переваги, враховуючи відповідність застосованого глюкометра до вимог ISO та показники його аналітичної точності, які є суворішими за біологічну варіабельність [171], визначають вибір даного метода визначення концентрації глюкози в крові при проведенні глюкометрії та тесту толерантності до інсуліну.

2.5. Визначення показників ліпидограми плазми крові

Оцінку змін ліпідного обміну проводили за допомогою визначення показників ліпидограми плазми крові. Кров відбирали при розсіченні аорти у наркотизованих тварин, додавали 0,1 мО гепарину, центрифугували при 4000 об/хв. Плазму відбирали і заморожували. Дослідження проводили загальноприйнятими ензиматичними методами за допомогою наборів реактивів: AD1A704, AD1A602, AD1A306 (Audit Diagnostics, Ireland) для визначення вмісту загального холестерину (Хол), холестерину ліпопротеїдів високої щільності (ХолЛПВЩ) та тригліцеридів (ТГ), відповідно. Вміст холестерину ліпопротеїдів низької (ХолЛПНЩ) і дуже низької (ХолЛПДНЩ) щільності розраховували за формулою Фрідевальда (оскільки рівень ТГ не перевищував 2,3 ммоль/л):

$$\text{ХолЛПНЩ} = \text{Хол} - \text{ХолЛПВЩ} - \text{ТГ}/2,2 \text{ (ммоль/л)};$$

ХолЛПДНЩ = ТГ/2,2 (ммоль/л).

2.6. Визначення показників газообміну

Дослідження патерну дихання та газообміну проводили в динаміці дослідження за допомогою комп'ютеризованої установки для малих лабораторних тварин, що складалася з дихальної маски, пневмотахографа з датчиком тиску MPX5050 та маспектрометра МН6202 (Україна), з наступною обробкою сигналу програмою "Oscillograph 2.0". Вимірювали частоту дихання та дихальний об'єм (ДО), обчислювали хвилинний об'єм дихання (ХОД) як їх математичний здобуток. За допомогою маспектрометра визначали кількість спожитого кисню та виділеного вуглекислого газу, розраховували споживання кисню та виділення вуглекислого газу за хвилину на 1 кг маси тіла (VO_2 /кг і VCO_2 /кг, відповідно). Показники зовнішнього дихання приводили до системи ВTPS (температура тіла, тиск насиченого парами повітря), а показники газообміну – до системи STPD (стандартна температура та тиск сухого повітря). З метою уникнення впливу коливань атмосферного тиску, температури повітря тощо на показники зовнішнього дихання результати нормалізували у відсотки до контролю, після чого здійснювалася статистична обробка.

2.7. Визначення функціональної активності мітохондрій, її лептинзалежної регуляції та ролі клітинних і мітохондріальних лептинових рецепторів

Зразки паренхіматозної тканини печінки, одержані від тварин експериментальних груп під уретановим наркозом, негайно вміщували на лід і піддавали механічній гомогенізації, додаючи 3 мл/г тканини розчину, що містив 120 mM KCl, 10 mM Hepes, 1 mM EGTA, pH=7,5 [173]. Мітохондрії виділяли методом диференціального центрифугування [174]. Для цього зразки гомогенату центрифугували 6 хв при 800 g, супернатант відбирали і фільтрували через 2 шари капронової тканини. Осад м'яко ресуспендували у середовищі виділення і одержану суспензію центрифугували 10 хв при 12000 g. Осад ресуспендували, додаючи середовище інкубації у кількості 0,1 мл/г тканини печінки. Одержану суспензію

мітохондрій фільтрували через капронову тканину і вміщували у пробірку. Всі процедури виконували при 4 °С. Середовище виділення містило: 120 mM KCl, 2 mM K₂CO₃, 10 mM TrisHCl, 1 mM EDTA, pH=7,2. Середовище інкубації містило: 120 mM KCl, 2 mM KH₂PO₄, 2 mM K₂CO₃, 10 mM TrisHCl, pH=7,2.

Функцію мітохондрій печінки визначали полярографічним методом Чанса [175], використовуючи різні субстрати окиснення: 5 ммоль/л глутамату + 2,5 ммоль/л малату (G+M), 5 ммоль/л сукцинату, 5 ммоль/л пірувату + 2,5 ммоль/л малату (Pi+M) або 40 мкмоль/л пальмітоїлу + 2,5 ммоль/л малату (Pa+M).

Дихальну функцію мітохондрій визначали шляхом вимірювання споживання кисню електродом типу Кларка суспензією гомогенату печінки або ізольованих мітохондрій, 100 мкл якої вносили до полярографічної комірки, що містила загальний об'єм середовища інкубації 1,0 мл при pH=7,4 і 37 °С.

Параметри споживання кисню мітохондріями визначали в таких умовах: стан 2 (споживання кисню до додавання АДФ, або дихання у вихідному стані), стан 3 (споживання кисню, стимульоване АДФ, або фосфорильовальне дихання), стан 4 (споживання кисню після припинення фосфорильовання АДФ, або дихання у стані спокою) і виражали у швидкості споживання кисню за цих умов (відповідно, V₂, V₃, V₄) як нанограм атомів кисню за хвилину на міліграм білка. За полярографічними кривими розраховували: коефіцієнт дихального контролю (ДК) і співвідношення АДФ/О (співвідношення кількості фосфорильованого АДФ і кисню, спожитого під час стану 3). ДК розраховували як відношення V₃/V₄. АДФ/О було розраховано як відношення нмоль доданого АДФ на нанограм атомів кисню, спожитих під час стану 3 [175, 176].

Для дослідження лептинзалежної регуляції функції мітохондрій до суспензії ізольованих мітохондрій після реєстрації V₃ (вихідне значення) в полярографічну комірку додавали 10 нмоль/л розчин лептину в кількості 10 мкл/мл середовища інкубації. Реєстрували зміни хроноамперограм та розраховували відносні показники змін V₃ до та після введення лептину у відсотках.

Для дослідження ролі лептинових рецепторів у регуляції функції мітохондрій застосовували метод зв'язування лептинових рецепторів специфічними антитілами

[177]. З одержаної суспензії ізольованих мітохондрій від кожної тварини відбирали 2 зразки по 100 мкл. Один з них інкубували у 1 мл середовища інкубації протягом 30 хв з додаванням 6 мкг/мл поліклональних антитіл до лептинових рецепторів (PA1-053, Invitrogen, США), придатних для реакції нейтралізації [177], інший зразок інкубували таким же чином без додавання антитіл. Після інкубації кожен із зразків вміщували до полярографічної комірки і проводили дослідження за методом Чанса за вищезазначеним протоколом з додаванням лептину після реєстрації V3. Зареєстровані показники після впливу антитіл порівнювали з показниками, одержаними у зразку цієї ж суспензії без інкубації з антитілами і вираховували відносні величини зміни ефекту у відсотках для кожної тварини, які використовували для подальшої статистичної обробки.

Для дослідження ролі лептинових рецепторів клітин печінки у регуляції функції мітохондрій паралельно проводили дослідження за аналогічним протоколом, використовуючи замість суспензії ізольованих мітохондрій гомогенат паренхіматозної тканини печінки. Одержані результати оцінювали як суму впливів лептинових рецепторів мітохондрій та клітинних лептинових рецепторів, за різницею показників з одержаними при використанні суспензії ізольованих мітохондрій вирізняли складові впливу кожної фракції рецепторів у регуляції функції мітохондрій печінки.

2.8. Ультраструктурні дослідження зразків тканин

Досліджували зразки легень та печінки щурів, які відбирали у наркотизованих уретаном тварин (1,5 г/кг) після розкриття грудної та черевної порожнин. Фіксацію матеріалу проводили загальноприйнятим методом [178], негайно вносячи зразки в 2,5% розчин глютарового альдегіду в 0,1 М фосфатному буфері (рН=7,4). Дофіксація матеріалу здійснювалася за допомогою реактиву Колфілда на основі 2% розчину тетроксиду осмію при рН=7,4 (реактиви фірми Sigma, США). В подальшому проводили зневоднення матеріалу в спиртах зростаючої концентрації (від 60% до 100%), абсолютних спирті і ацетоні з наступною заливкою в епон-аралдіт (реактиви фірми Fluka, Швейцарія). Ультратонкі зрізи товщиною 40-60 нм для перегляду в

електронному мікроскопі контрастували 1% розчином ураніацетату і 0,4% розчином цитрату свинцю (реактиви фірми Sigma, США) за методом Рейнольдса [179]. Перегляд препаратів здійснювали за допомогою електронного мікроскопа ПЕМ - 125K (Україна). Морфометричні параметри визначали за допомогою комп'ютерної програми для морфометричних підрахунків ImageJ (NIH, США) на 130-150 полях для кожного впливу. Морфо- і стереометричні характеристики мітохондрій (загальна кількість мітохондрій; кількість структурно змінених мітохондрій; середній діаметр мітохондрій; середня кількість аутофагосом) в альвеолоцитах II типу та гепатоцитах, а також морфометричні характеристики аерогематичного бар'єру легень (середня арифметична (τ) і середня гармонічна (τ_h) товщини аерогематичного бар'єру та його епітеліального, інтерстиціального і ендотеліального шарів) визначали на електронограмах відповідно до підходів Вейбеля у 100-130 полях зору [180].

2.9. Визначення експресії білків.

Експресію білків визначали у заморожених зразках тканин методом імуноблотингу (Western Blotting) з використанням обладнання і протоколів BioRadLabs (США). Зразки тканин відбирали у наркотизованих уретаном щурів після розкриття грудної та черевної порожнини, вміщували у холодний фізіологічний розчин, швидко висушували фільтрувальним папером і негайно заморожували у рідкому азоті. Для виділення білків заморожені зразки механічно подрібнювали у рідкому азоті, одержаний порошок зважували і додавали 2 об'ємні частини льодяного лізис-буферу у складі: 50 мм TrisHCl, 0,5 media, 2mM DTT, 0,2 mM PMSF, 10% гліцерил, 0,1% Тритон X-100 та коктейль інгібіторів протеаз - по 10 мкл на кожен МП буфера), гомогенізували 1 хв в ультразвуковому гомогенізаторі та інкубували 30 хв при 0 °C. Після центрифугування лізатів 20 хв при 12 000 об/хв відбирали 10 мкл супернатанту для визначення вмісту білка та 60 мкл - для електрофорезу. Зразки для електрофорезу змішували з 20 мкл буферу для зразків у складі: 0,25 М TrisHCl, 40% гліцерил, 8% SDS, 400 mM DTT, 0,02 бромфеноловий синій, 5 % бета-меркаптоетанол, після чого денатурували протягом 7 хв. на водяній бані.

Денатуровані розчинні білки розділяли за допомогою вертикального гелелектрофорезу у системі SDS-PAGE з використанням установки MINIPROTEAN-3. Для розділення білків використовували 12% поліакриламідний гель у складі: 31% розчин акриламід у біс-акриламіді (29:1) - 2,5 мл; 1,5 М розчин TrisHCl, pH 8,8 - 2,5 мл; 10% розчин додецилсульфату натрію - 0,1мл; 10% розчин персульфату амонію - 0,05 мл; TEMED - 5 мкл; деіонізована H₂O - 4,85 мл. У лунки геля послідовно вносили суміш стандартів молекулярної маси (5 мкл) і зразки досліджуваних денатурованих супернатантів (у об'ємах, що містили 100 мг білка), в останню лунку – буфер для зразків. Електрофорез проводили в режимі: 10 хв при 100 V, потім при 200 V до моменту досягнення фронтом нижнього краю геля. Для перевірки якості розділення білків гель фарбували барвником Кумасі.

Перенесення білків на мембрану проводили, використовуючи прилад MINITRANSBLOT CELL. У касеті виготовляли сендвіч з гелю і PVDF-мембрани між 2 шарами фільтрів і вміщували її у танк для трансферу, який заповнювали трансфер-буфером у складі: 50 мМ Tris основний, 380 мМ гліцин, 0,1% SDS. Трансфер проводили 1 годину при 35 мА і 100 V. Якість трансферу перевіряли пофарбуванням мембрани за допомогою Понсо-С.

Мембрани блокували комерційним розчином для блокування Western blocking solution (Sigma, США), або Pierce Clear Milk Blocking Buffer, (ThermoFisher Scientific, США) протягом 1 год. Для обробки поліклональними антитілами використовували буфери на основі PBS, для обробки моноклональними антитілами – буфери на основі TBS. Для відмивання використовували буфер з додаванням 0,05% Tween20 і 1% BSA. Після блокування мембрану інкубували 12 год з первинними антитілами, розведеними в буфері Western blocking solution або Pierce Clear Milk Blocking Buffer. Розведення антитіл визначали згідно з рекомендаціями виробника. Після відмивання інкубували мембрану з вторинними антитілами, розведеними в буфері, протягом 1 год. В якості вторинних антитіл використано козячий антимишачий IgG, кон'югований з пероксидазою (Invitrogen, США) у розведенні 1:2500 або козячий антикролячий IgG, кон'югований з пероксидазою (Sigma, США) у розведенні 1:1000.

Імунозв'язування і детекцію білків проводили за допомогою набору реактивів ProteoQwest Colorimetric Western Blotting Kit (Sigma, США). Після інкубації з вторинними антитілами мембрану відмивали на шейкері 5 разів по 5 хв, використовуючи по 15 мл буфера. Для забарвлення мембрану інкубували у комерційному розчині субстрату TMB (1-Step Ultra TMB-Blotting Solution – Pierce, ThermoFisher Scientific, США), який виявляв комплекс антиген-антитіло на мембрані. Інтенсивність забарвлення визначали за допомогою комп'ютерної денситометрії нативних зображень (рис. 2.1) та представляли в у.о. Одержані показники нормалізували до експресії білків «домашнього господарства» і до рівня контролю, приймаючи останній за 1 у.о.

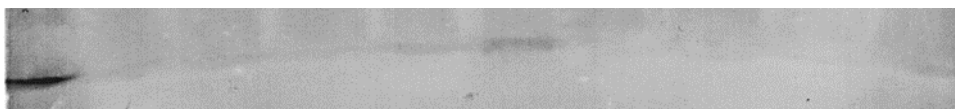


Рис. 2.1. Зразок нативного зображення при визначенні експресії білків.

2.10. Визначення вмісту білка.

Визначення вмісту білка у зразках проводили біцинхоніновим методом за допомогою набору реактивів BCA-1 (Sigma, США). До 10 мкл розведеного 1:20 зразка додавали 40 мкл 4% розчину CuSO_4 та 190 мкл біцинхонінової кислоти, інкубували при 37°C протягом 30 хв. Оптичну щільність визначали спектрофотометрично при довжині хвилі 562 нм. Вміст білка розраховували відносно вмісту білка у стандартному зразку, в якості якого використовували 1мг/мл розчин бичачого сироваткового альбуміну.

2.11. Статистичний аналіз результатів.

Статистичний аналіз проводили з використанням загальноприйнятих методів варіаційної статистики за допомогою програми GraphPad Prism version 8.1.0.325 for Windows, використовуючи одно- або двофакторний дисперсійний аналіз (One-Way або Two-Way ANOVA) та post hoc аналіз за Bonferroni або Tukey. Для перевірки нормальності розподілу показників у вибірці використовували тест Шапіро-Уїлка. При підтвердженні нормальності розподілу визначали середнє арифметичне та похибку середнього, результати

представляли у вигляді ($M \pm m$), при порівнянні параметричних даних у двох групах застосовували метод t-критерію Стьюдента для залежних чи незалежних величин. При порівнянні інших даних застосовували непараметричний U-критерій Манна-Уїтні для незв'язаних величини або T - критерій Вілкоксона для зв'язаних величин. При порівнянні трьох та більше незалежних груп проводили аналіз ANOVA для параметричних величин та ANOVA за Краскелом-Воллісом для непараметричних величин. Для представлення якісних параметрів і відносних величин використовували показники долей або відсотків (%), відповідно. Наявність зв'язків між параметрами та їхню силу визначали за допомогою методів кореляційного аналізу за Пірсоном при нормальному розподілі або за Спірменом при іншому розподілі показників. Відмінність вважалась вірогідною при рівні значущості $p < 0,05$.

РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ

3.1 Розробка експериментальної моделі коморбідного перебігу запального процесу на тлі інсулінорезистентності та цукрового діабету 2 типу

Метою розробки було створення моделі, яка відтворює запальний процес при його коморбідному перебігу з експериментальним ЦД2 у щурів і може бути використаною для проведення патофізіологічних досліджень і розробки експериментальної терапії.

Дослідження було проведено на 50 щурах-самцях лінії Вістар. Вік тварин складав 6 місяців. Дослідних тварин годували ВЖД, яка містила 58% ліпідів у загальній калорійності раціону. Тривалість ВЖД становила 4 тижні, після 2 тижнів дієти внутрішньоочеревинно вводили стрептозотин (Sigma, США, 25 мг/кг) та в процесі експерименту визначали ефекти розвитку гіперглікемії. На 9 добу після введення стрептозотину вводили внутрішньоочеревинно ліпополісахарид E. coli (ЛПС, Sigma) у дозі 1 або 0,5 мг/кг. Розвиток інсулінорезистентності перевіряли за допомогою тесту толерантності до інсуліну після 2 та 4 тижнів експерименту, який виконували за допомогою внутрішньоочеревинного введення 0,5 МЕ/кг рекомбінантного інсуліну людини короткої дії («Хумодар», Україна), реакцію оцінювали за допомогою вимірювання вмісту глюкози в периферичній крові тварини до і через 15, 30 і 60 хв після введення інсуліну. За допомогою автоматичного глюкометра OneTouch (LifeScan, США) визначали рівень глюкози. Реєстрували відсоток виживання тварин у різних серіях експерименту. За допомогою імуноблотингу визначали експресію білка інфламмасоми NLRP3 для оцінки розвитку запальних змін у легеневій тканині.

На першому етапі роботи у дорослих щурів відтворювали інсулінорезистентність та цукровий діабет 2 типу. В процесі експеримента було визначено, що після 2-тижнів годування тварин ВЖД спостерігалось ймовірне зростання глікемії, яке залишалося стало підвищеним протягом наступних 2 тижнів

ліпідного навантаження (рис. 3.1). Згідно з сучасними критеріями [181], отримані показники (понад 6,0 ммоль/л) можна вважати перехідними до діабетичного типу (предіабет). При цьому у тварин з ВЖД приріст маси був незначним і складав у середньому $16,6 \pm 2,1$ г, у контрольній групі – $0,83 \pm 2,2$ г ($P < 0,05$).

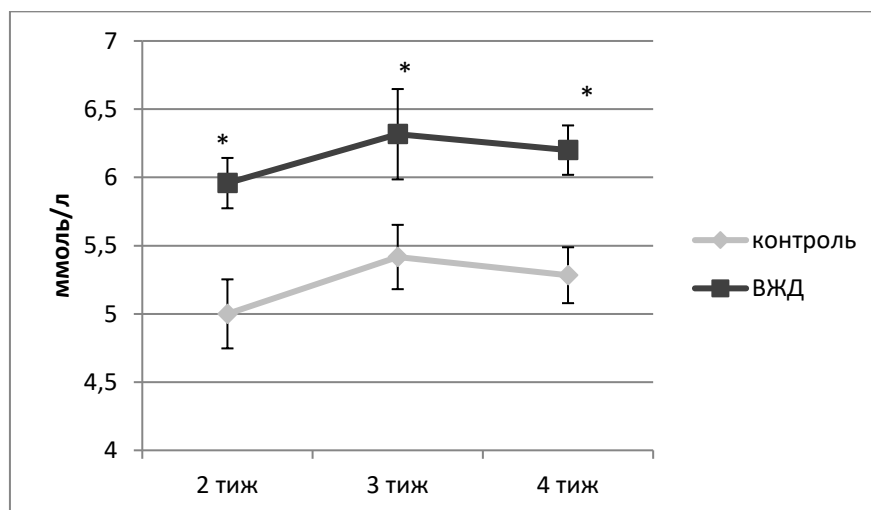


Рис. 3.1. Динаміка глікемії при вживанні ВЖД. * $P < 0,05$ відносно контролю.

При проведенні тесту на толерантність до інсуліну (ТТІ) було встановлено, що щури після 2 тижнів ВЖД показували відсутність зменшення глікемії впродовж 60 хв спостереження і ймовірно зниження чутливості до інсуліну порівняно з контрольною групою (рис. 3.2).

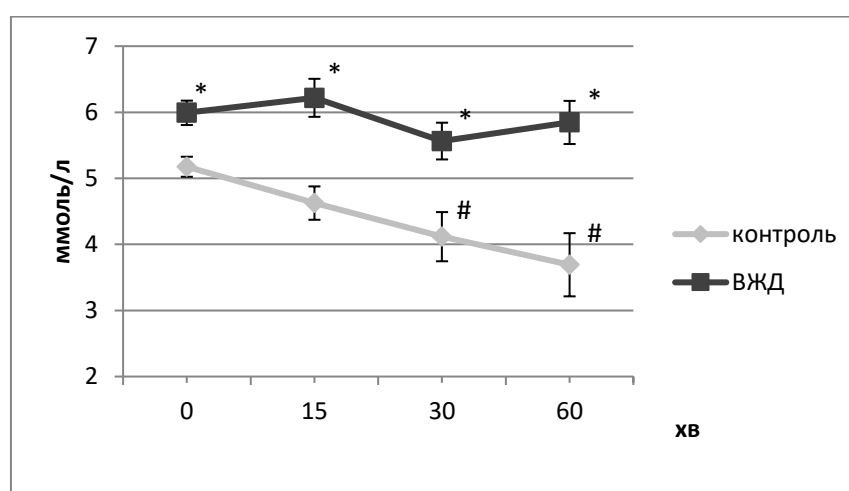


Рис. 3.2. Показники тесту толерантності до інсуліну через 2 тижні вживання ВЖД (вміст глюкози в периферичній крові, ммоль/л). * $P < 0,05$ відносно контролю; # $P < 0,05$ відносно вихідного рівня.

Таким чином, було встановлено, що вживання ВЖД впродовж 2 тижнів є достатнім експериментальним терміном для розвитку проявів інсулінорезистентності.

Після того, як вводили стрептозоточин в дозі 20 мг/кг, виявлено розвиток діабету з глікемією понад 10,0 ммоль/л у 66,6% тварин і значної гіперглікемією (понад 17,1 ммоль/л) у 33,3% тварин (рис. 3.3). Після введення 25 мг/кг стрептозоточину ці показники становили 60 і 46,7%, відповідно (рис. 3.3), при цьому летальності тварин не спостерігалось. Отримані результати дозволяють рекомендувати дозу 25 мг/кг стрептозоточину для використання в моделі.

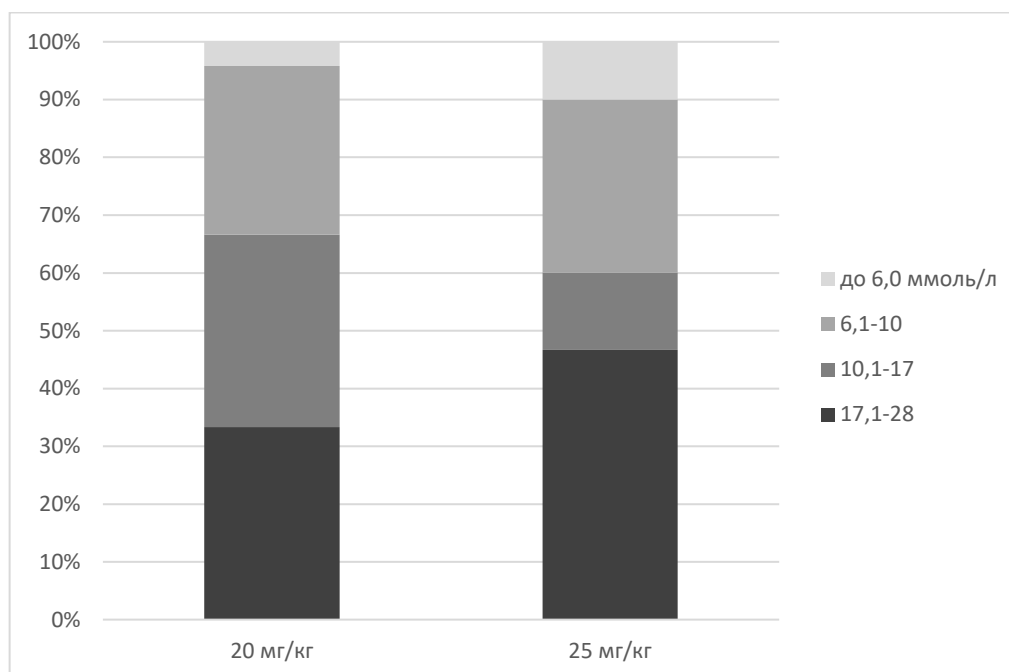


Рис. 3.3. Розподіл тварин за показниками глікемії (% від загальної кількості у групі) через 2 доби після введення стрептозоточину у дозі 20 мг/кг (n=24) або 25 мг/кг (n=30).

Впродовж вживання дієти ще протягом 2 тижнів експерименту вага щурів групи ВЖД збільшилась в середньому на $13,3 \pm 1,8$ г (у контролі – на $0,1 \pm 2,4$ г, $P < 0,05$). У групі щурів із введенням стрептозоточину на тлі вживання ВЖД вага зменшилась на $5,4 \pm 3,3$ г.

При проведенні тесту толерантності до інсуліну після 4 тижнів експерименту

було з'ясовано, що у підгрупі тварин, що мали рівні глікемії понад 10,0 ммоль/л, зберігалася відсутність вірогідної реакції на введення інсуліну, що може свідчити на користь цукрового діабету 2 типу за критеріями гіперглікемії та інсулінорезистентності (рис. 3.4, ЦД2). Та підгрупа тварин, рівні глікемії в якій після введення стрептозотоцину були в межах 6,1-10 ммоль/л, охарактеризована нами як предіабет (рис. 3.4, предіабет). У щурів цієї підгрупи, як і в групі тварин з ВЖД без введення стрептозотоцину (рис. 3.4, ВЖД), зберігалася толерантність до введення інсуліну. Враховуючи вищевказане, ці тварини можуть бути охарактеризовані як інсулінорезистентні з наявністю предіабету або без неї відповідно до рівнів глікемії.

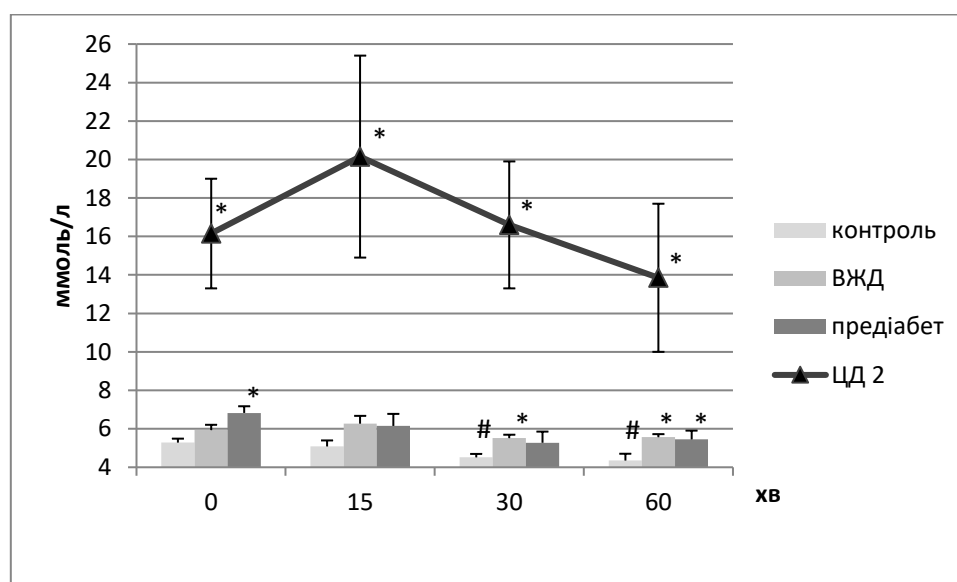


Рис. 3.4. Показники тесту толерантності до інсуліну через 4 тижні експерименту (вміст глюкози в периферичній крові, ммоль/л). * $P < 0,05$ відносно контролю; # $P < 0,05$ відносно вихідного рівня.

Оскільки прояви інсулінорезистентності підтримувалися протягом 2-4-го тижнів експерименту, цей період часу було визнано придатним для проведення патофізіологічних досліджень коморбідного перебігу ЛПС-індукованого запалення у щурів з інсулінорезистентністю і ЦД2.

Для відтворення коморбідного перебігу ЛПС-індукованого запального процесу в легенях на тлі метаболічних порушень використовували дві дози ЛПС – 1,0 або 0,5 мг/кг. Після введення ЛПС в дозі 1,0 мг/кг протягом 1-3 діб спостерігалася

летальність 100% щурів з ЦД2 і глікемією понад 14 ммоль/л і 40% тварин з рівнем глікемії 7-14 ммоль/л. Після введення ЛПС в дозі 0,5 мг/кг летальності тварин не спостерігалось, але були наявні системні ознаки запального ураження легень (температурна реакція, порушення патерну дихання та газообміну, рис. 3.5).

Хоча при введенні ЛПС не спостерігалось вірогідних змін ХОД, але мала місце чітка тенденція до зростання ДО (рис. 3.5). У групі ЛПС також спостерігалось вірогідне зростання газообміну, як щодо споживання кисню, так і стосовно виділення CO₂, що свідчить про гіпервентиляцію. Показники газообміну були також підвищеними у щурів з ЦД2 (рис. 3.5), але при коморбідному перебігу запалення у цій групі газообмін вірогідно знижувався, що вказує на можливе порушення аерогематичного бар'єру та несприятливе зниження енергетичного метаболізму. У групі ВЖД введення ЛПС максимально підвищувало ХОД, а показники газообміну редукувалися меншою мірою, ніж у групі ЦД2+ЛПС (рис. 3.5).

Експресія білка інфламмасоми NLRP3 – маркера низькорівневого (low-grade) запалення – при введенні ЛПС зростала порівняно з контролем у 14,6 разів, у тварин з ЦД2 і введенням ЛПС в дозі 1 мг/кг – у 34,7 разів, а у дозі 0,5 мг/кг – у 26,5 разів (рис. 3.6). Отримані показники пояснюють високу летальність при введенні ЛПС в дозі 1 мг/кг, коли відбувалася значна потенціація запального процесу, вже наявного на тлі експериментального ЦД2. Інакше відбувалось при введенні ЛПС в дозі 0,5 мг/кг, коли ці процеси обмежувалися.

Проведений кореляційно-регресійний аналіз виявив, що у тварин з ЦД2 і введенням ЛПС в дозі 1 мг/кг летальність прямо залежала від показників глікемії ($r=0.622$, $P<0,05$) та маси тіла ($r=0.673$, $P<0,05$, рис. 3.7), що свідчить про тісний зв'язок несприятливого перебігу запального процесу в легенях і ступеня порушень вуглеводного і ліпідного обміну.

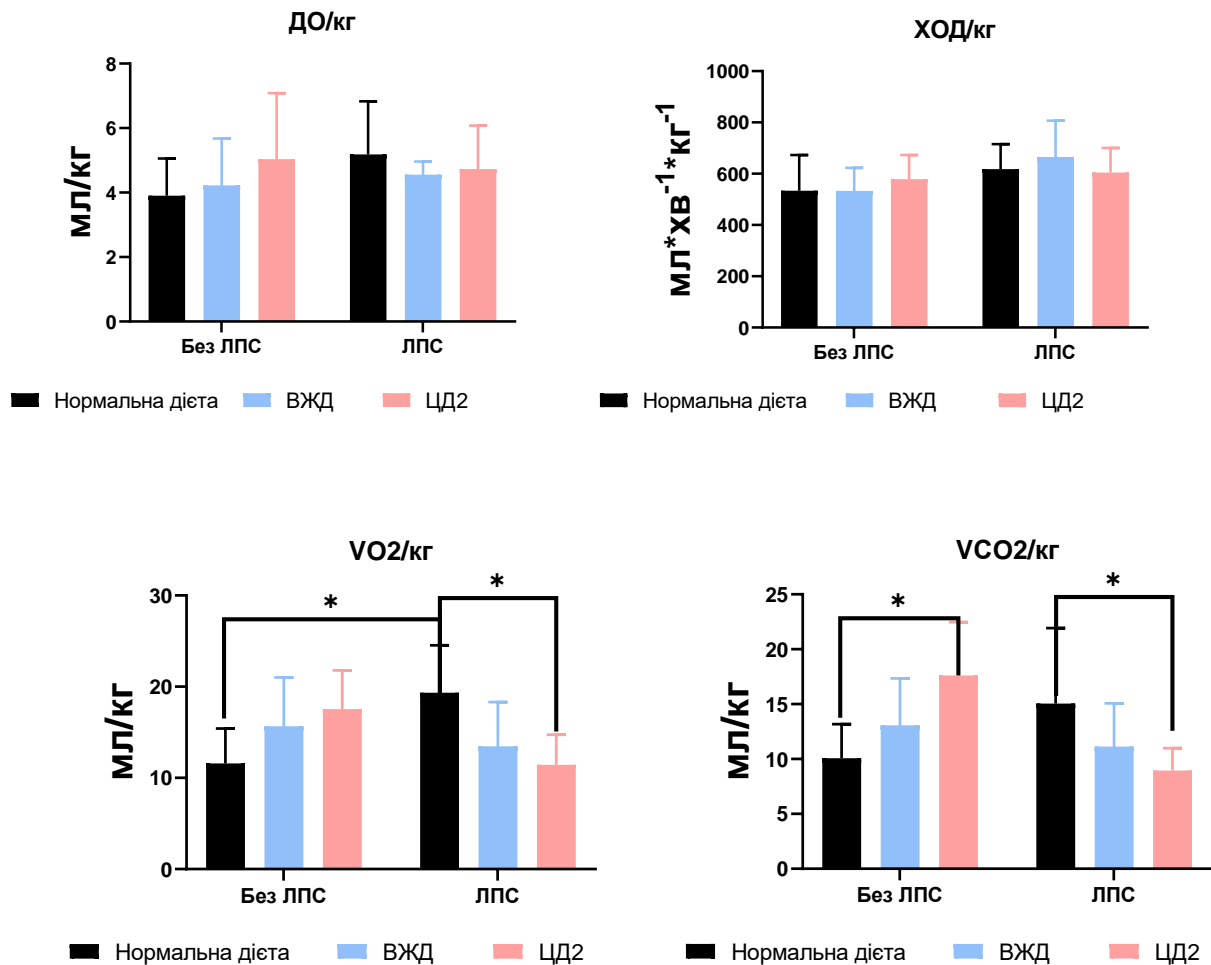


Рис. 3.5. Показники патерну дихання і газообміну при дії ЛПС на тлі метаболічних порушень у порівнянні з контрольними щурами ($M \pm SE$, $n=30$). ДО – дихальний об'єм, ХОД – хвилинний об'єм дихання, VO_2/kg і VCO_2/kg – споживання кисню та виділення вуглекислого газу за хвилину (відповідно), нормалізоване до маси тіла тварин.

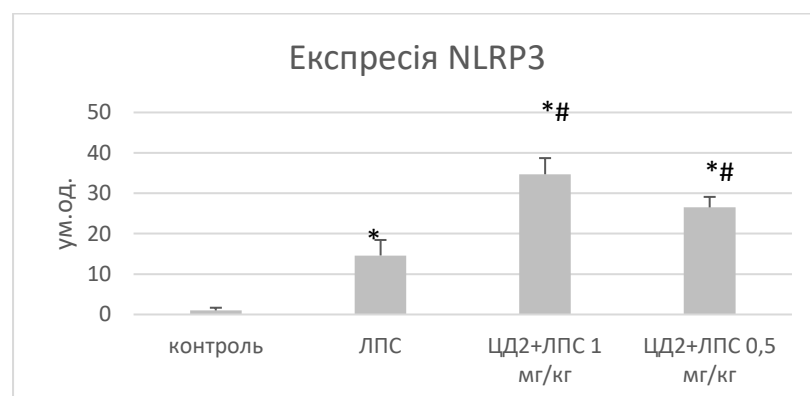


Рис. 3.6. Експресія білка NLRP3 у легенях при дії ЛПС у різних дозах за умов експериментального ЦД2. * $P < 0,05$ порівняно з контролем; # $P < 0,05$ порівняно з групою ЦД2.

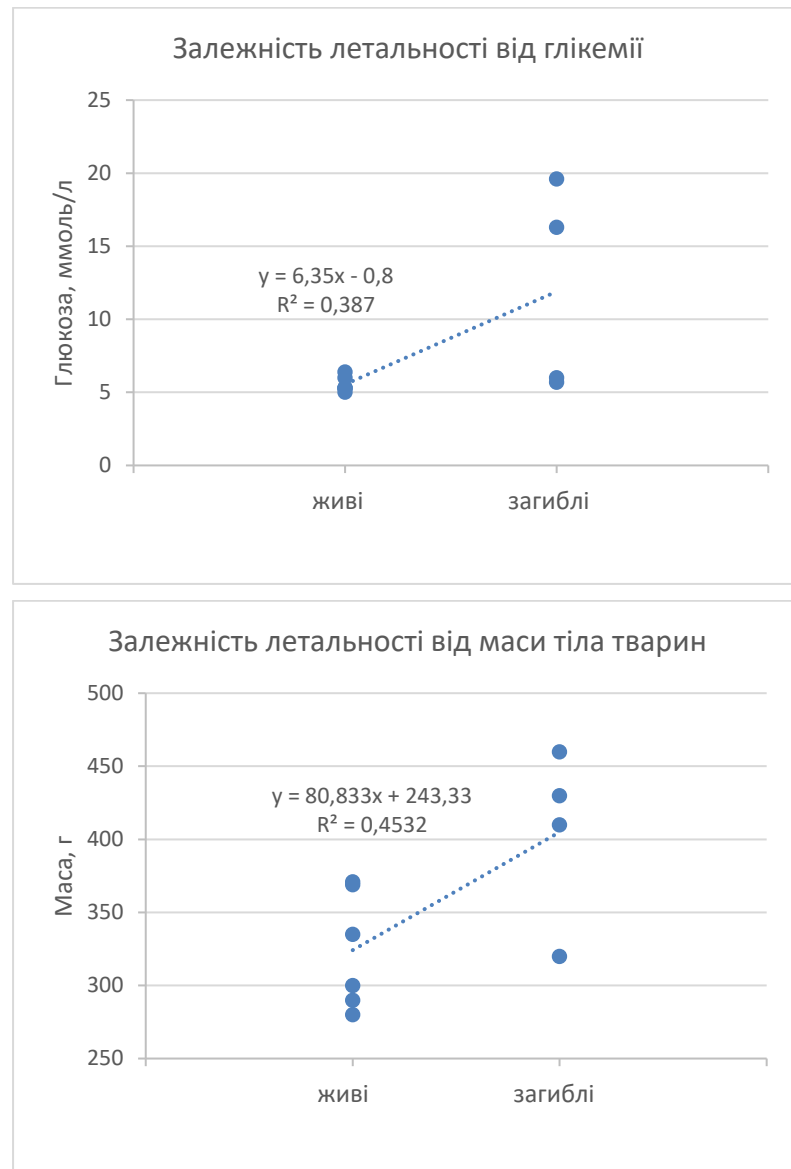


Рис. 3.7. Кореляційна залежність летальності щурів від показників глікемії та маси тіла при коморбідному перебігу запального процесу та ЦД2.

Отримані показники свідчать, що при використанні запропонованої моделі відтворення ЛПС-індукованого запального процесу в легенях в обох досліджених дозах супроводжувалися зростанням проявів низькорівневого запалення, характерного для метаболічного синдрому (рис. 3.6). Вплив цих механізмів може бути причиною несприятливого розвитку запального процесу, який у випадку вживання більшої дози ЛПС (1 мг/кг) на тлі найбільш значних метаболічних порушень при ЦД2 викликав летальність експериментальних тварин. Враховуючи вищезазначене, для патофізіологічних досліджень у подальших експериментальних роботах було обрано

дозу ЛПС 0,5 мг/кг.

Підводячи підсумки цього етапу досліджень, можна стверджувати, що комбінований вплив ВЖД, стрептозотоцину та бактеріального ліпополісахариду ефективно відображав запальний процес в легенях на тлі експериментального ЦД2. Вживання ВЖД протягом 4-тижневого експерименту дозволило підтримувати прояви експериментального ЦД2 (інсулінорезистентність і гіперглікемія), що подовжило ефективне застосування моделі в пролонгованому експерименті. Застосування дози ЛПС 0,5 мг/кг дозволило уникнути несприятливого перебігу запального процесу на тлі ЦД 2 і попередило експериментальну летальність.

В процесі розробки цієї експериментальної моделі було досягнуто оптимізації протоколу підтримання експериментального ЦД2 у тварин і відтворення коморбідного запального процесу, ефективної дії щодо відтворення коморбідного запалення в легенях, попередження значного пошкодження тканин при потенціації прозапальних механізмів патологічних процесів і значної летальності тварин в експерименті. Враховуючи все вищезазначене, можливим є застосування розробленої експериментальної моделі для вивчення механізмів розвитку коморбідного перебігу запалення і ЦД2 і розробки експериментальної терапії.

В наступних серіях експериментальних досліджень використовували дози стрептозотоцину 25 мг/кг (на 14 добу експерименту з початку вживання ВЖД) і ЛПС 0,5 мг/кг (на 24 добу експерименту з початку вживання ВЖД).

Результати, представлені в цьому розділі, опубліковано у наукових працях автора [170, 182, 183, 184, 185, 186].

3.2 Морфологічні прояви мітохондріальної дисфункції при ЛПС-індукованому запаленні в легенях на тлі інсулінорезистентності та ЦД2

Для визначення морфологічних порушень у легенях та печінці, пов'язаних зі змінами енергетичного метаболізму при коморбідному перебігу запалення в легенях і метаболічних розладів було проведено дослідження на 40 щурах лінії Вістар, які були поділені на такі групи (n=10 кожна): 1) контроль; 2) ЛПС; 3) ВЖД+ЛПС; 4)

ЦД2+ЛПС.

Після введення ЛПС інтактним щурам в легенях виявлено розвинений запальний процес зі зміною ультраструктури клітин строми і паренхіми (рис. 3.8). Мітохондріальний апарат клітин був значно пошкодженим, спостерігалася повна або часткова вакуолізація органел, часто з порушенням внутрішньої і зовнішньої мітохондріальних мембран. Значно збільшеною була кількість первинних і особливо вторинних лізосом, що є показником активації катаболічних процесів. Спостерігали мітофагію на різних стадіях формування мітоаутофагосом. Характерною була виражена тотальна гіпергідратація аерогематичного бар'єру (АГБ), значний набряк спостерігався у епітеліальному шарі, що створює ризик розвитку внутрішньоальвеолярного набряку.

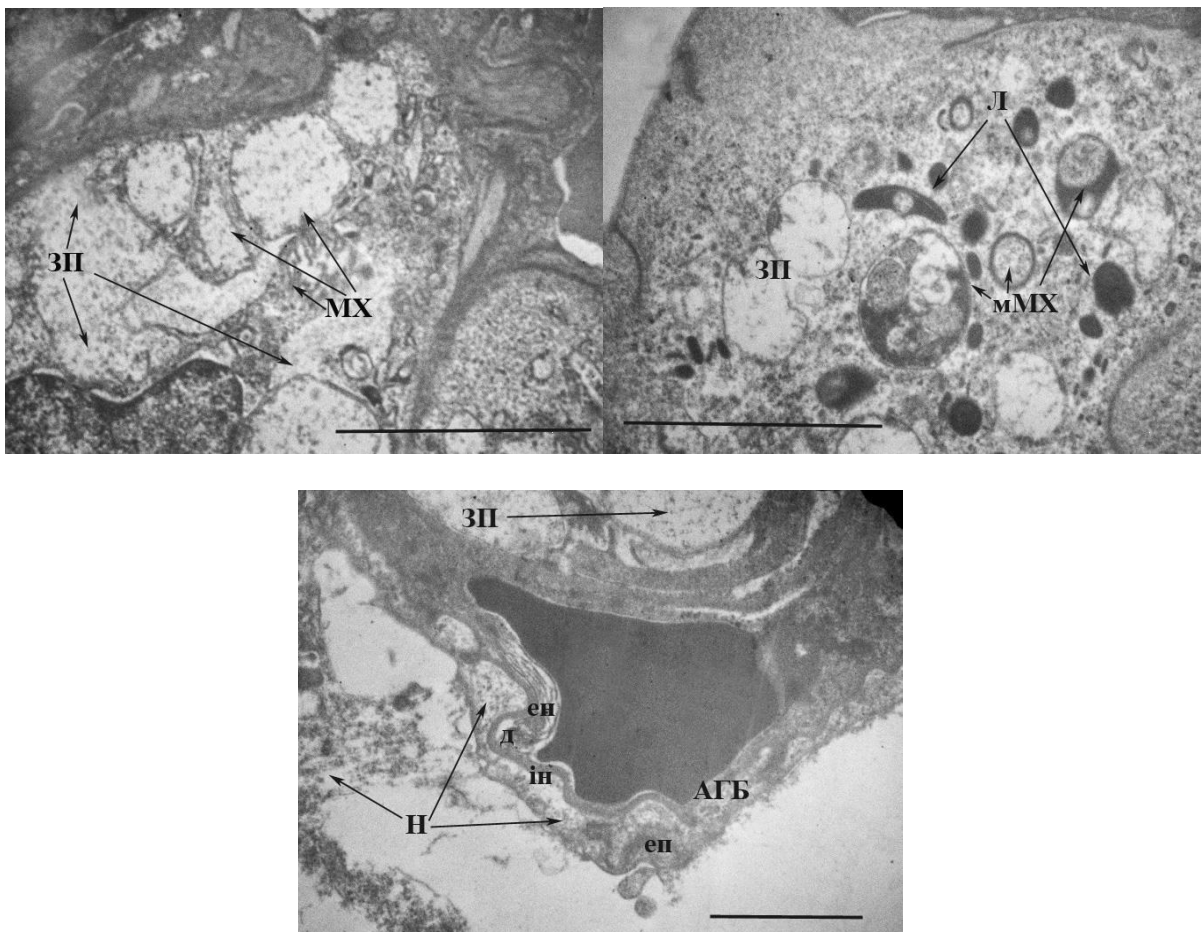


Рис. 3.8. Запальні зміни в легенях після введення ЛПС. ЗП – запальний процес, МХ – мітохондрії, Л – лізосоми, мМХ – мітофагія мітохондрій, Н – набряк, АГБ – аерогематичний бар'єр легень, ен – ендотелій капілярів, ін – інтерстиціальний шар АГБ, еп – епітеліальний шар АГБ, д – деструкція. Масштаб: 1 мкм.

Деструктивні зміни в ендотелії легеневих капілярів відтворювали розвиток ендотеліальної дисфункції (рис. 3.8).

Встановлено, що гіпергідратація АГБ, яка переважно є результатом підвищення проникності цитоплазматичних мембран, призводила при введенні ЛПС до збільшення товщини бар'єру в цілому та його епітеліального й ендотеліального шарів (Табл. 1). При цьому не відбувалося збільшення товщини інтерстиціального шару, тобто не було пристосувального накопичення рідини з метою її дренажа в лімфатичну систему. Такі умови ускладнюють газообмін в легенях і через це погіршують енергетичний метаболізм організму на рівні зовнішнього дихання. Крім того, виявлено ознаки погіршення тканинного дихання, про це свідчать параметри, що характеризували ультраструктуру мітохондріального апарату (табл. 2).

Таблиця 1

Середня арифметична (τ) і середня гармонічна (τ_h) товщини аерогематичного бар'єру легень і окремих його шарів ($M \pm m$)

Групи	АГБ		Епітелій		Інтерстицій		Ендотелій	
	τ	τ_h	τ	τ_h	τ	τ_h	τ	τ_h
Контроль	163 ± 8	155 ± 9	71 ± 5	65 ± 7	49 ± 3	46 ± 3	63 ± 7	50 ± 8
ЛПС	386 $\pm 68^*$	357 $\pm 36^*$	206 $\pm 21^*$	192 $\pm 31^*$	32 $\pm 7^*$	24 $\pm 9^*$	163 $\pm 26^*$	134 $\pm 22^*$
ВЖД+ЛПС	342 $\pm 29^*$	348 $\pm 43^*$	189 $\pm 17^*$	193 $\pm 23^*$	58 ± 6	55 ± 8	118 $\pm 17^*$	121 $\pm 24^*$
ЦД2+ЛПС	415 $\pm 54^*$	392 $\pm 58^*$	287 $\pm 32^{*\wedge}$	274 $\pm 34^*$	71 $\pm 14^{*\#}$	68 $\pm 11^{*\#}$	207 $\pm 27^{*\wedge}$	188 $\pm 21^{*\wedge}$

* $p < 0,05$ порівняно з контролем; # $p < 0,05$ порівняно з ЛПС; $\wedge p < 0,05$ порівняно з ВЖД+ЛПС

Виявлені зміни в мітохондріальному апараті пневмоцитів вказують на значні порушення енергетичного метаболізму при ЛПС-індукованому запаленні. Звертає на себе увагу відсутність пристосувального зростання кількості мітохондрій при ЛПС-індукованому запаленні в легенях, тоді як кількість структурно змінених (пошкоджених) мітохондрій зростала в 11 разів (табл. 2). Аналіз показників свідчить, що компенсація мітохондріальної ланки розладу енергетичного метаболізму

відбувалася лише за рахунок збільшення розмірів наявних мітохондрій та інтенсифікації процесів аутофагії.

Таблиця 2
Морфометричні характеристики мітохондрій в тканині легень (M±m)

Групи	Загальна кількість мітохондрій, од./10 мкм ²	Кількість структурно змінених мітохондрій, %	Середній діаметр мітохондрій, мкм	Середня площа мітохондрій, ум.од.	Середня кількість аутофагосом, % від контролю
Контроль	9,6±0,2	4,6±0,5	0,39±0,01	4512±147	100
ЛПС	10,5±0,7	50,4±11,3*	0,89±0,16*	6454±238*	136*
ВЖД+ЛПС	11,8±1,3	28,6±14,3*	0,64±0,07*	5012±128*#	149*
ЦД2+ЛПС	8,4±0,5#^	39,3±10,2*	0,71±0,21*	5386±213*#	119#^

*p<0,05 порівняно з контролем; #p<0,05 порівняно з ЛПС; ^p<0,05 порівняно з ВЖД+ЛПС

Проведені дослідження ЛПС-індукованого запального процесу у експериментальних тварин дозволили встановити, що клітини з ознаками пошкоджень ультраструктури, або з вираженими проявами деструкції характеризувалися підвищеною активністю синтезу білка. В клітинах легень зростала щільність пакування ендоплазматичного ретикулуму, та більше ніж удвічі (з 56,4±6,8 до 130,8±12,8 од./мкм²) збільшувалася кількість рибосом – вільних та у вигляді полісом (рис. 3.9).

Також підтвердилося припущення, що гранулярний ендоплазматичний ретикулум (ЕПР) міг приймати участь у репаративних процесах щодо структурно пошкоджених мітохондрій або органел в стані перенапруження, оскільки ЕПР щільно оперізував значно зруйновані мітохондрії (рис. 3.10).

Необхідно зауважити, що останній процес був більше розвинений у клітинах печінки. В гепатоцитах вільних рибосом було дуже мало, проте в ЕПР рибосоми щільно вкривали мембранні поверхні (рис. 3.11).

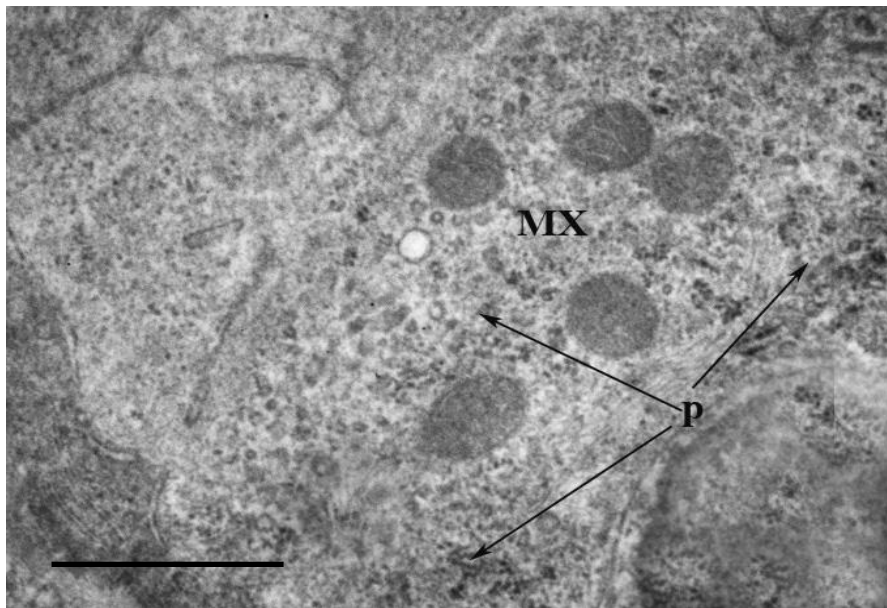


Рис. 3.9. Ультраструктура альвеолоцитів II типу при впливі ЛПС. р – рибосоми, МХ – мітохондрії. Масштаб 1 мкм.

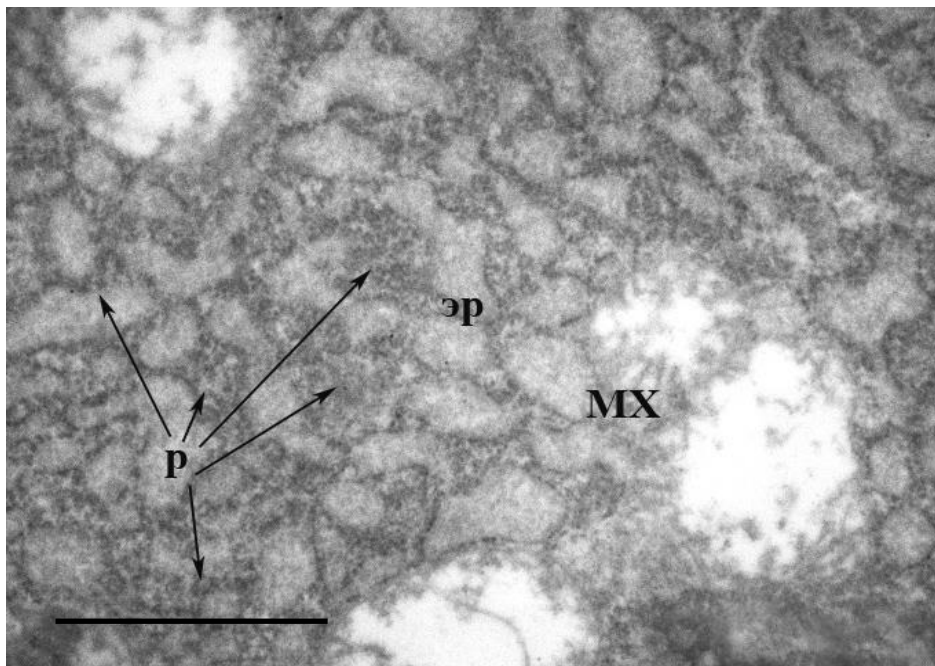


Рис. 3.10. Щільна упаковка ЕПР в альвеолоцитах II типу при введенні ЛПС. МХ – мітохондрії, ер – ендоплазматичний ретикулум, р – рибосоми – зв'язані та зібрані в розетки. Масштаб 1 мкм.

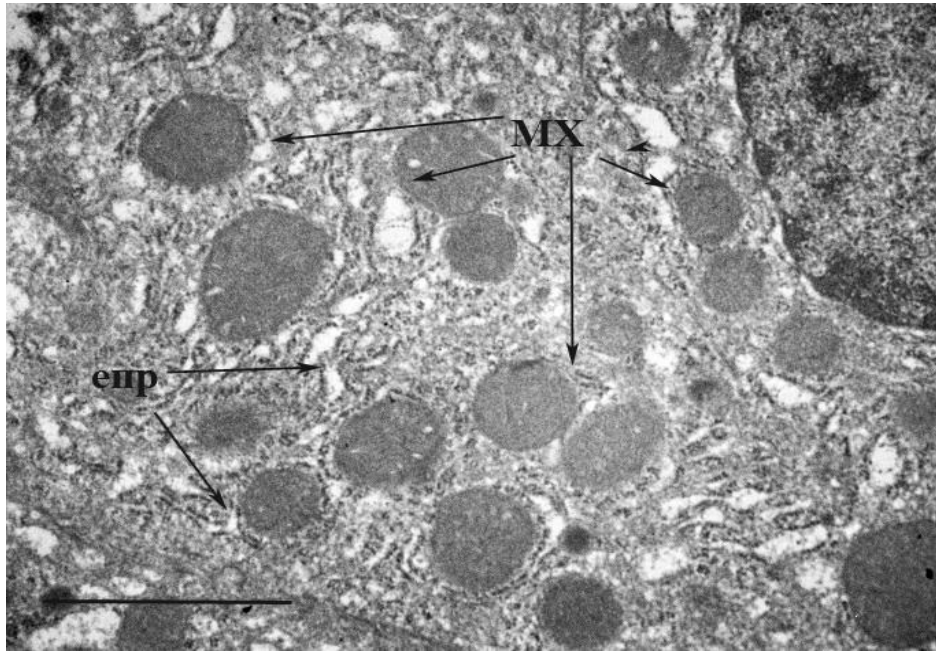


Рис. 3.11. ЕПР в гепатоцитах при введенні ЛПС. МХ – мітохондрії, епр – ендоплазматичний ретикулум.

Слід зазначити, що при введенні ЛПС у легнях і печінці виявлено запальні прояви, ознаки порушень АГБ, в клітинах спостерігали прояви мітохондріальної дисфункції, вагоме зростання кількості вільних і прикріплених рибосом, що може свідчити про деструктивний вплив на енергетичний метаболізм і розвиток компенсаторно-приспосувальних реакцій у вигляді інтенсифікації синтезу білка, репаративних процесів у мітохондріях та їх взаємодії з ЕПР.

На тлі моделювання інсулінорезистентності та ЦД2 у щурів запальні процеси, індуковані введенням ЛПС, мали відмінності від таких у тварин без метаболічних порушень. В клітинах легень спостерігали накопичення жиру у вигляді крапель. Відмічались ділянки тотального набряку, який зростав як в стромі легень, так і в аерогематичному бар'єрі (АГБ, рис. 3.12, а-г; див. табл. 1). Також спостерігали вагомі порушення ультраструктури мітохондрій альвеолоцитів без збільшення їх загальної кількості (рис. 3.12, а, б; див. табл. 2), що часто вказували на напруження функціонування органел, наприклад, розширення та просвітлення міжкристних проміжків (рис. 3.12, б). При цьому забезпечувались компенсаторні механізми: в

мітохондріальному апараті зберігалися динамічні властивості з проявами fission-fusion, (рис. 3.13, а), хоча активний біогенез мітохондрій і вірогідне зростання їх кількості не спостерігалися (див. табл. 1); активним був ядерний та ядерно-мітохондріальний транспорт, збільшилась кількість зв'язаних та вільних рибосом (рис. 3.13, б, в).

Вищеперелічені порушення були більш виразними при наявності ЦД2, ніж при вживанні ВЖД. Так, у щурів з групи ВЖД+ЛПС вірогідно не зростало порушення АГБ порівняно з групою ЛПС (див. табл. 1.). Але звертало на себе увагу, що у групі ВЖД+ЛПС зростала величина τ_h (практично дорівнюючи τ), що свідчить про збільшення кількості потовщених ділянок АГБ по всій товщині бар'єра і має негативний вплив на дифузію кисню. На противагу від цього, у групі ЦД2+ЛПС вірогідно збільшувалась товщина інтерстиціального шару АГБ порівняно з групою ЛПС, що вказує про пристосувальний механізм накопичення рідини для її дренажа в лімфатичну систему, а порівняно з групою ВЖД+ЛПС вірогідно зростала товщина епітеліального і ендотеліального шарів АГБ (див. табл. 1), що є підґрунтям розвитку внутрішньоальвеолярного набряку. У групі ЦД2+ЛПС був також яскраво виражений структурний компонент ендотеліальної дисфункції.

Щодо мітохондріального апарату пневмоцитів, у групі ВЖД+ЛПС відмічалось чітка тенденція до покращення його стану, зростання біогенезу і репаративних процесів порівняно з групою ЛПС, відсутність ознак мітохондріальної дисфункції. Порівняно у тварин з групи ЦД2+ЛПС ці дані погіршувалися, порушувалася ультраструктура мітохондрій, вірогідно меншою була їх загальна кількість та інтенсивність аутофагії, більшою – середня площа мітохондрій (див. табл. 2).

При вивченні пневмоцитів було виявлено ознаки активації синтезу білка порівняно у щурів з групою ЛПС. Доказом цього було ймовірне зростання порівняно з контролем і групою ЛПС (до 325 ± 75 од./мкм²) кількості вільних та зібраних в полісоми рибосом, у тому числі в ділянках, де спостерігали структурні порушення (рис. 3.12, 3.13).

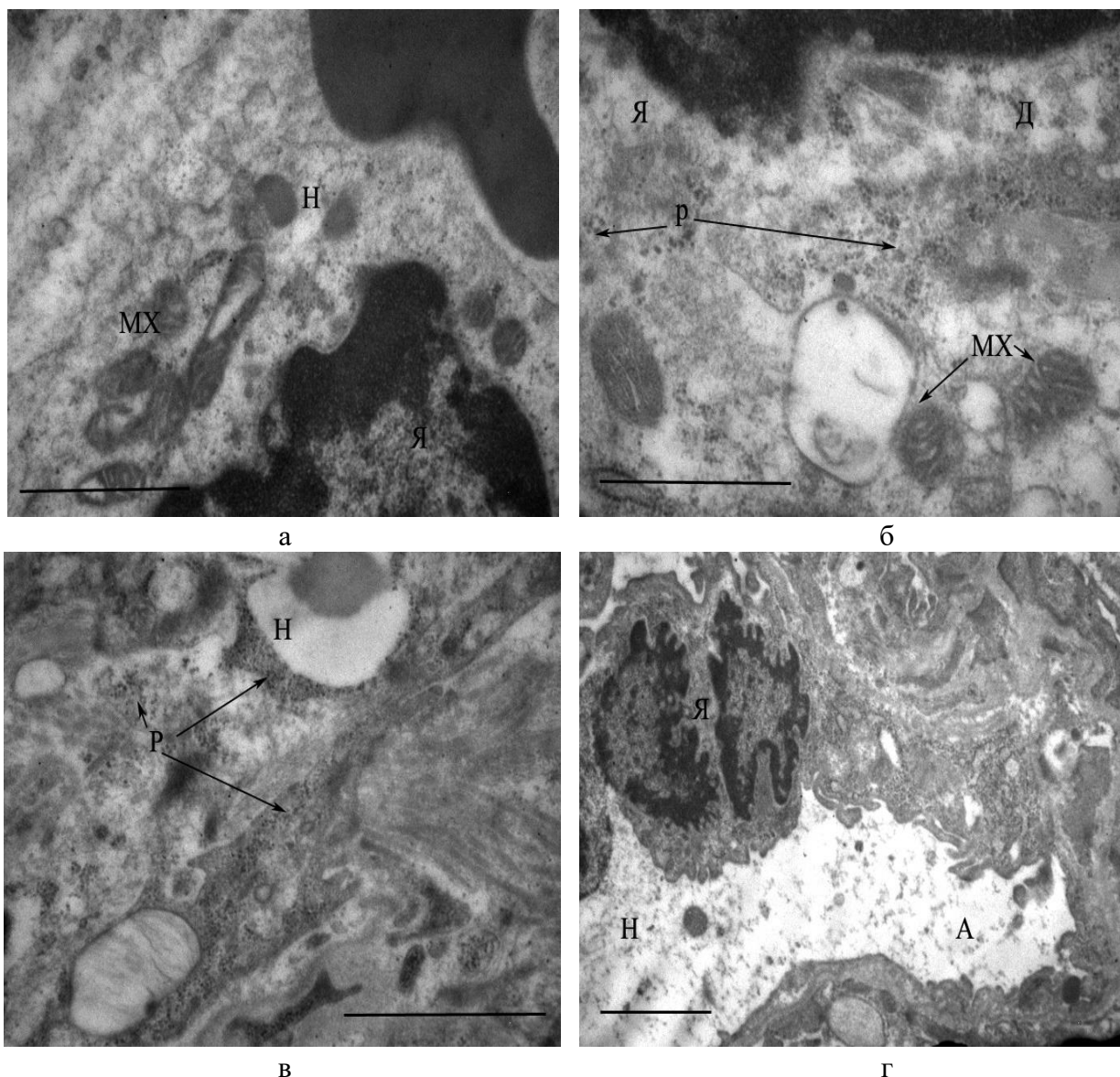


Рис. 3.12. Запальні зміни в легенях при дії ЛПС на тлі ВЖД (а) та ЦД2 (б-г). Патологічні структурні прояви в тканині легень (а-в), АГБ (г), мітохондріальному апараті (а, б). МХ – мітохондрії, Р – рибосоми, Н, Д – набряк, деструкція, Я – ядро, А – порожнина альвеоли. Масштаб: 1 мкм.

В гепатоцитах тварин з моделюванням запального процесу на тлі метаболічних порушень відмічали ліпідну інфільтрацію, місцями дифузний набряк і деструкцію (рис. 3.14). У клітинах печінки щурів з ЦД2 спостерігалися ділянки масивної жирової дегенерації, часто до крапель жиру щільно прилягали мітохондрії (рис. 3.14, а), що, вірогідно, можна інтерпретувати як адаптаційний механізм задля використання високоенергетичного субстрату і пластичного матеріалу при діабеті, виявлялася велика кількість морфологічно змінених мітохондрій. Значущі ознаки ендотеліальної

дисфункції полягали в деструкції ендотелію капілярів і різкому збільшенні товщини перикапілярних просторів, у просвіт яких виходили як білки плазми крові, так і окремі органели (рис. 3.14, а), що також обтяжувало розлад енергетичного метаболізму. На тлі ВЖД зміни були менш вираженими, в клітинах печінки спостерігали дрібні краплі жиру (початкові стадії ліпідної інфільтрації), мітохондріальний апарат був краще збережений і мав ознаки динаміки і репарації (аутофагія), у тканині виявляли окремі вогнища набряку і деструкції (рис. 3.14, б).

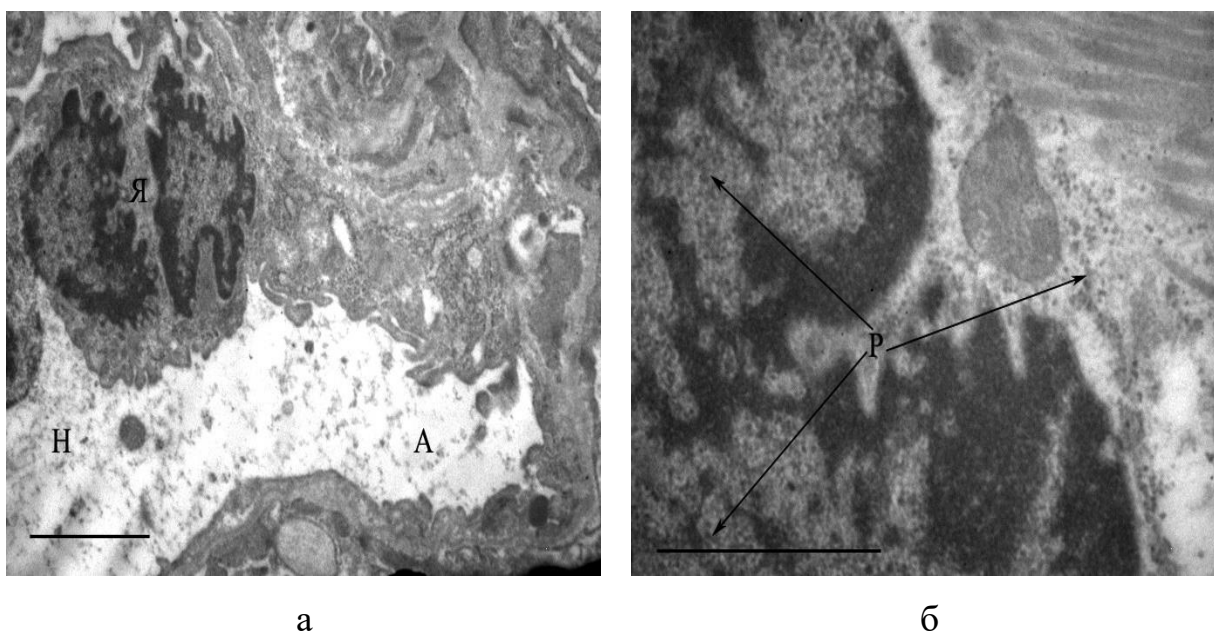


Рис. 3.13. Компенсаторні реакції в клітинах легень при дії ЛПС на тлі ЦД2. а – динамічні процеси в мітохондріальному апараті, ядерно-мітохондріальний транспорт; б – активація рибосом.

Отже, при моделюванні ЛПС-індукованого запалення у легенях виявлено запальні прояви, ознаки порушень аерогематичного бар'єру, мітохондріальної дисфункції, вагоме збільшення кількості вільних і прикріплених рибосом, що вказує на порушення енергетичного метаболізму і розвиток компенсаторно-приспосувальних реакцій у вигляді інтенсифікації синтезу білка, репаративних процесів у мітохондріях та їх взаємодії з ЕПР.

При моделюванні коморбідного перебігу ЛПС-індукованого запального процесу в легенях і цукрового діабету 2 типу у тварин спостерігалось посилення запальних

проявів у легенях на тлі ліпідної інфільтрації, зростання гіпергідратації аерогематичного бар'єру, ендотеліальної та мітохондріальної дисфункції, компенсаторне зростання синтезу білка, що може вказувати про інтенсифікацію процесів альтерації, погіршення енергетичного та ліпідного метаболізму у щурів з коморбідною патологією.

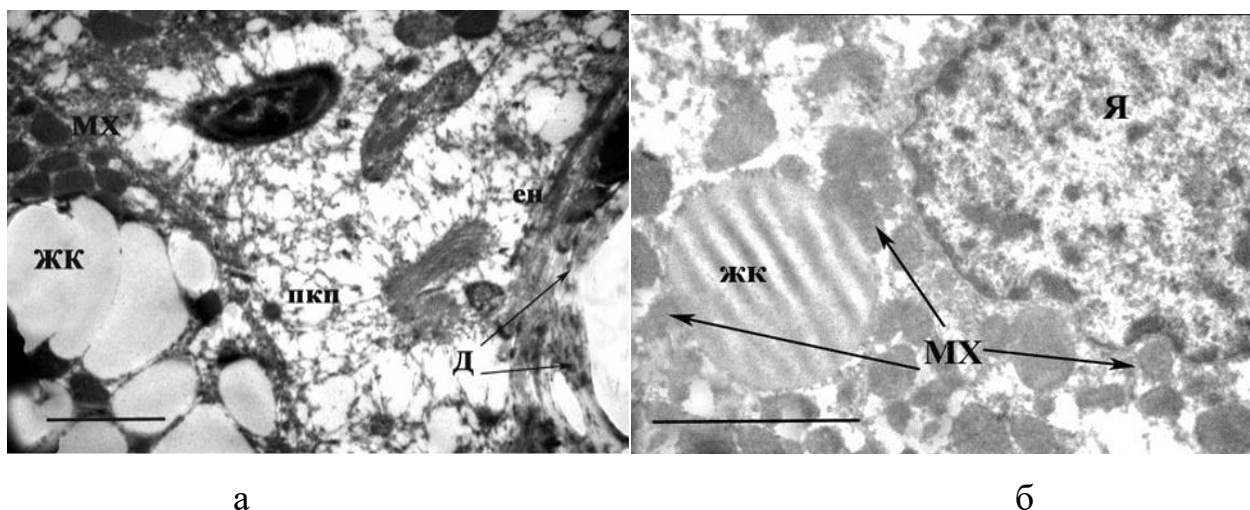


Рис. 3.14. Запальні зміни в гепатоцитах при дії ЛПС на тлі ЦД2 і ВЖД. а – мітохондріальний апарат на тлі масивної ліпідної інфільтрації при ЦД2, ознаки ендотеліальної дисфункції; б – початкові стадії ліпідної інфільтрації і порівняно збережений стан мітохондрій при впливі ВЖД. ЖК – жирові краплі; МХ – мітохондрії; Я – ядро; ен – ендотелій; пкп – перикапілярний простір; Д – ділянки деструкції. Масштаб: 1 мкм.

При ЛПС-індукованому запальному процесу в легенях на тлі інсулінорезистентності патологічні прояви були менш виражені, мітохондріальна дисфункція не спостерігалася, що вказує на підтримання енергетичного метаболізму в цих умовах і лише часткову роль інсулінорезистентності у несприятливому перебігу коморбідної патології.

При дослідженні ультраструктури клітин печінки у тварин з коморбідним перебігом ЛПС-індукованого запального процесу в легенях і цукрового діабету 2 типу спостерігалось зростання стеатозу, ендотеліальної та мітохондріальної дисфункції, компенсаторне зростання синтезу білка у зв'язаних рибосомах, утворення

асоційованих з мітохондріями мембран ендоплазматичного ретикулуму. Одержані результати можуть вказувати, що патогенез коморбідного перебігу ЛПС-індукованого запалення і ЦД2 спрямовується в бік можливої компенсації порушень вуглеводного та енергетичного метаболізму за рахунок погіршення ліпідного обміну і прогресії ожиріння.

Результати, висвітлені в цьому розділі, опубліковано у наукових працях автора [187 - 192].

3.3 Механізми регуляції енергетичного метаболізму при коморбідному перебігу запального процесу в легенях та метаболічних порушень

3.3.1 Метаболічні прояви перебігу ЛПС-індукованого запального процесу на тлі інсулінорезистентності та ЦД2

Для того, щоб охарактеризувати зміни вуглеводного метаболізму при розвитку запального процесу в умовах експерименту визначали рівень глікемії у периферичній крові щурів до та на 3 добу після введення ЛПС. З'ясовано, що введення ЛПС у дозі 0,5 мг/кг не викликало вірогідних змін рівня глікемії у інтактних тварин (рис.3.15, ЛПС). При вживанні ВЖД після введення ЛПС визначали чітку тенденцію до зниження глікемії, а на тлі ЦД2 – до підвищення показників глікемії, вірогідно порівняно з групою ВЖД+ЛПС (рис. 3.15, ВЖД+ЛПС, ЦД2+ЛПС). Отримані показники можуть вказувати на компенсаторну перебудову енергетичного метаболізму у групі ВЖД+ЛПС, направлену на посилення метаболізму глюкози при розвитку запального процесу в умовах інсулінорезистентності, водночас в умовах ЦД2 такі компенсаторні механізми були неефективними.

Для визначення впливу коморбідного перебігу інсулінорезистентності або ЦД2 і запального процесу в легенях на стан ліпідного метаболізму визначали ліпідограму крові експериментальних тварин на 3 добу після введення ЛПС. З'ясували, що ЛПС-індуковане запалення супроводжувалося вірогідним зниженням загального холестерину в крові щурів, тоді як вміст його фракцій, холестерину ліпопротеїдів високої щільності (холестерин ЛПВЩ) та низької щільності (холестерин ЛПНЩ) при цьому вірогідно не змінювалися (рис. 3.16, контроль, ЛПС).

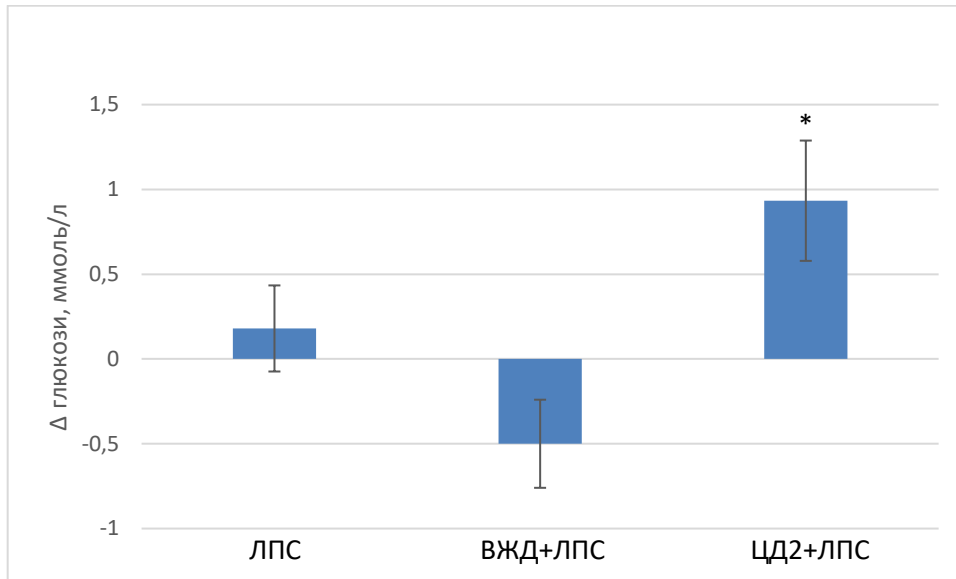


Рис. 3.15. Зміни вмісту глюкози у крові щурів при впливі ЛПС на інтактних щурів, тварин з інсулінорезистентністю (ВЖД) або ЦД2 відносно рівня до введення ЛПС. * $P < 0,05$ порівняно з групою ВЖД+ЛПС.

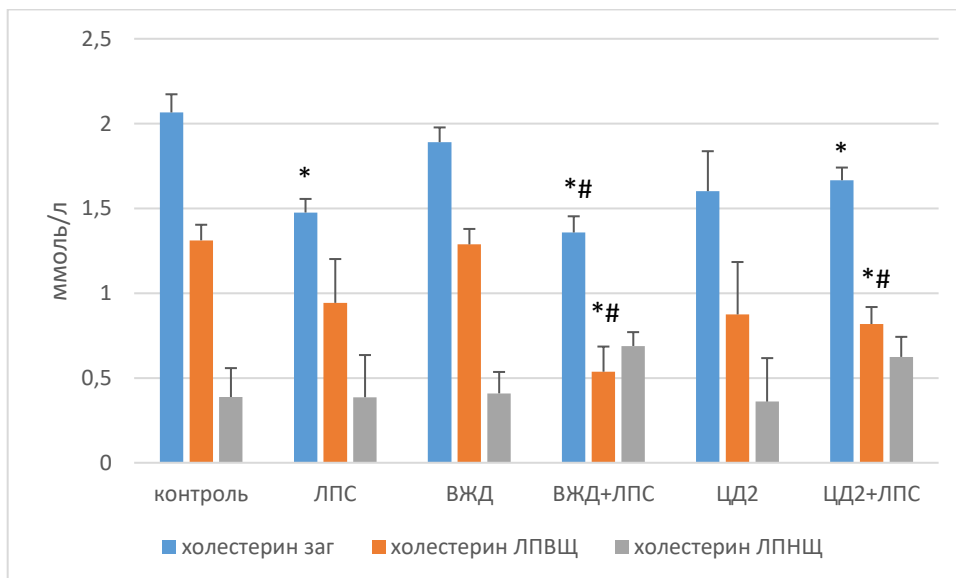


Рис. 3.16. Вміст холестерину та його фракцій у крові щурів при впливі ЛПС, ВЖД, ЦД2 та коморбідному перебігу патологічних процесів. * $P < 0,05$ порівняно з контролем; # $P < 0,05$ порівняно з ВЖД.

Розвиток інсулінорезистентності при вживанні ВЖД та моделюванні ЦД2 не супроводжувалися вірогідними змінами цих даних (рис. 3.16, ВЖД, ЦД2). Проте при введенні ЛПС на тлі ВЖД або ЦД2 вірогідно знижувалися загальний холестерин та

холестерин ЛПВЩ порівняно з контролем та вживанням ВЖД (рис. 3.16, ВЖД+ЛПС, ЦД2+ЛПС), при цьому показники вірогідно не відрізнялися від таких у групі ЛПС. Таким чином, характер змін цих даних ліпидограми при коморбідному перебігу експериментальних патологічних процесів переважно визначався впливом ЛПС, але зміни вмісту загального холестерину та холестерину ліпопротеїдів високої щільності (ЛПВЩ) в крові поглиблювалися при коморбідному перебігу захворювань порівняно з дією лише ЛПС.

Інакший характер змін спостерігався стосовно вмісту тригліцеридів та пов'язаного з ними холестерину ліпопротеїдів дуже низької щільності (ЛПДНЩ). Введення ЛПС приводило до вірогідного зниження цих даних порівняно з контролем (рис. 3.17, контроль, ЛПС). Вживання ВЖД також вірогідно знижувало ці параметри, а комбінований вплив ВЖД+ЛПС зменшував показники відносно групи ВЖД (рис. 3.17, ВЖД, ВЖД+ЛПС), але вони вірогідно не відрізнялися від групи ЛПС. Натомість, при ЦД2 показники мали значну варіабельність і вірогідно не відрізнялися від контролю або групи ВЖД. При впливі ЛПС на тлі ЦД2 показники мали динаміку до зниження, але все ж залишалися вірогідно вищими, ніж при дії лише ЛПС (рис. 3.17, ЦД2, ЦД2+ЛПС).

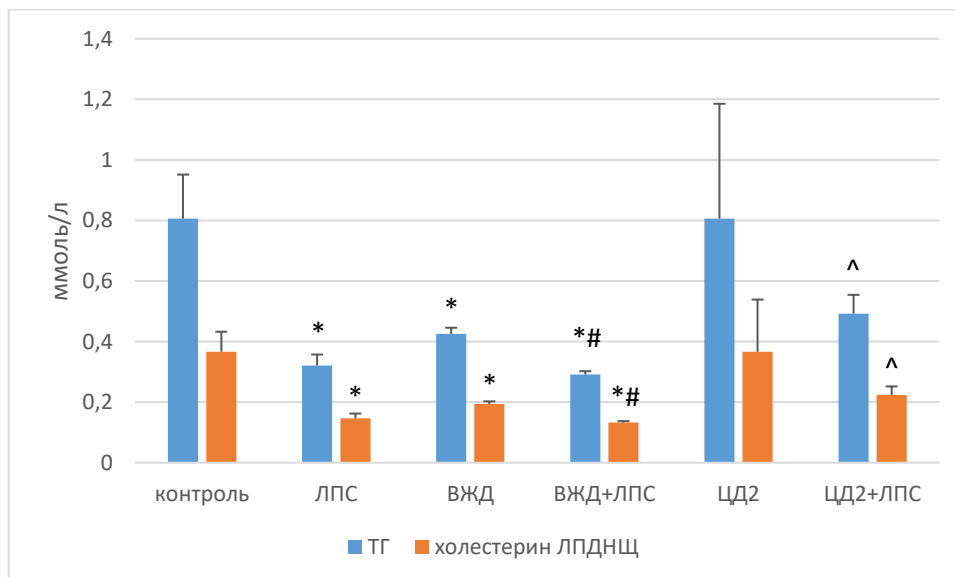


Рис. 3.17. Вміст тригліцеридів (ТГ) та холестерину ліпопротеїдів дуже низької щільності (ЛПДНЩ) у крові щурів при впливі ЛПС, ВЖД, ЦД2 та коморбідному перебігу патологічних процесів. * $P < 0,05$ порівняно з контролем; # $P < 0,05$ порівняно з ВЖД; ^ $P < 0,05$ порівняно з ЛПС.

Аналіз показників ліпідограми може свідчити, що ЛПС-індуковане запалення супроводжується зниженням вмісту тригліцеридів у крові та вмісту загального холестерину внаслідок зменшення вмісту його фракції, пов'язаною з ЛПДНЩ. Розвиток інсулінорезистентності при ліпідному навантаженні був асоційований з подібними ж змінами ліпідограми, крім вірогідного зниження вмісту загального холестерину. Ці перебудови ліпідограми можуть вказувати на переважне використання тригліцеридів як субстратів для підтримання енергетичного метаболізму при вживанні ВЖД. При ініціації ЛПС-індукованого запального процесу зміни ліпідограми недостатньо компенсуються, що призводить до зниження вмісту загального холестерину, а на тлі ВЖД порушуються показники холестерину ЛПВЩ і ЛПДНЩ. Таким чином, перебіг запального процесу в легенях на тлі інсулінорезистентності сприяє декомпенсації ліпідного обміну та, вторинно, – енергетичного обміну.

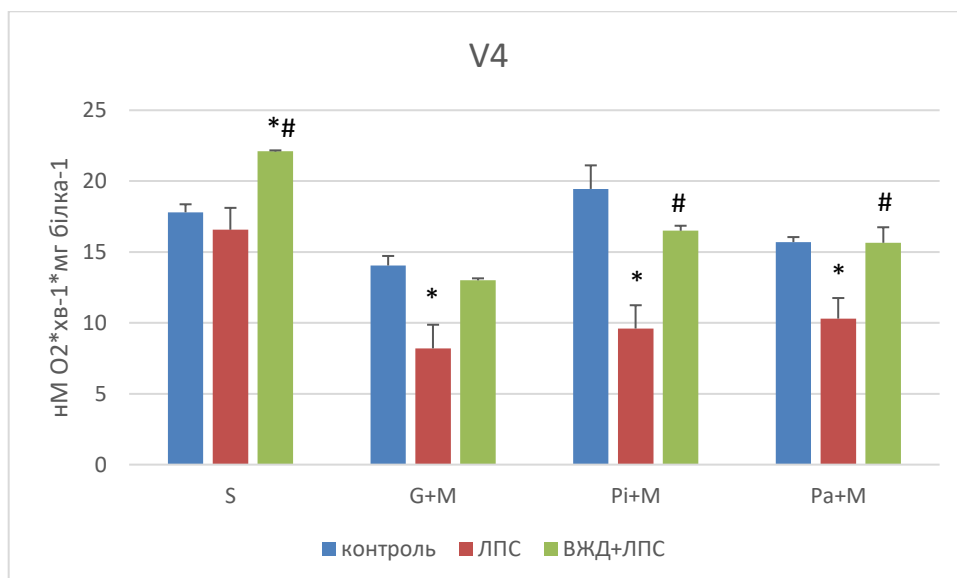
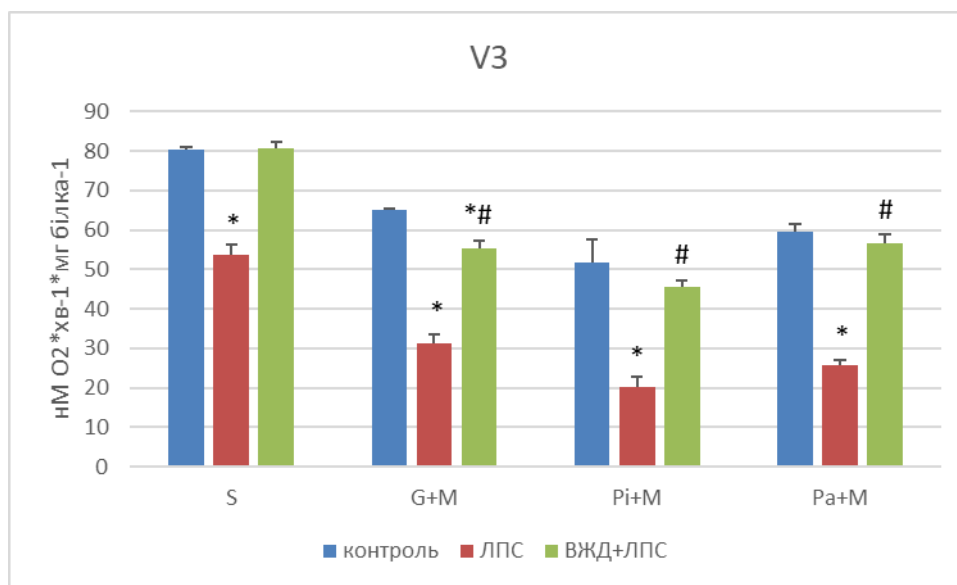
При ЦД2 порушення ліпідного обміну мають інший характер. Використання ліпідів як субстратів для підтримання енергетичного метаболізму підтримується лише у частини тварин, що може поглиблювати значні порушення енергетичного метаболізму при діабеті. Розвиток запального процесу на цьому тлі виявляє посилення компенсаторних процесів, про що свідчить зменшення рівня тригліцеридів та холестерину ЛПДНЩ, однак поглиблюються несприятливі порушення вмісту холестерину та його фракції, пов'язаної з ЛПВЩ.

3.3.2 Зміни функції мітохондрій при ЛПС-індукованому запальному процесі та метаболічних порушеннях

Введення ЛПС викликало зниження швидкості активного фосфорильовального дихання мітохондрій (V3) і швидкості поглинання кисню у контрольованому стані (V4) за використання більшості субстратів, меншою мірою – сукцинату (рис. 3.18). Це призводило до вірогідного зниження дихального контролю за Чансом (V3/V4), переважно за рахунок зменшення V3 (рис. 3.18, V3/V4). Це свідчить про значне

обмеження швидкості окисного фосфорилювання в мітохондріях при експериментальному запаленні. АДФ/О максимально знижувалося при використанні глутамату (G+M), меншою мірою – при окисненні сукцинату (рис. 3.18, АДФ/О), що вказує на зменшення спряження дихання і фосфорилювання.

При моделюванні запалення на тлі ВЖД спостерігали повне або часткове відновлення V3 при окисненні всіх субстратів до рівня контролю порівняно з показниками групи ЛПС (рис. 3.18, V3). Найбільш ефективно підтримувалася V3 при окисненні сукцинату та пальмітоїлу, меншою мірою – пірувату і особливо глутамату.



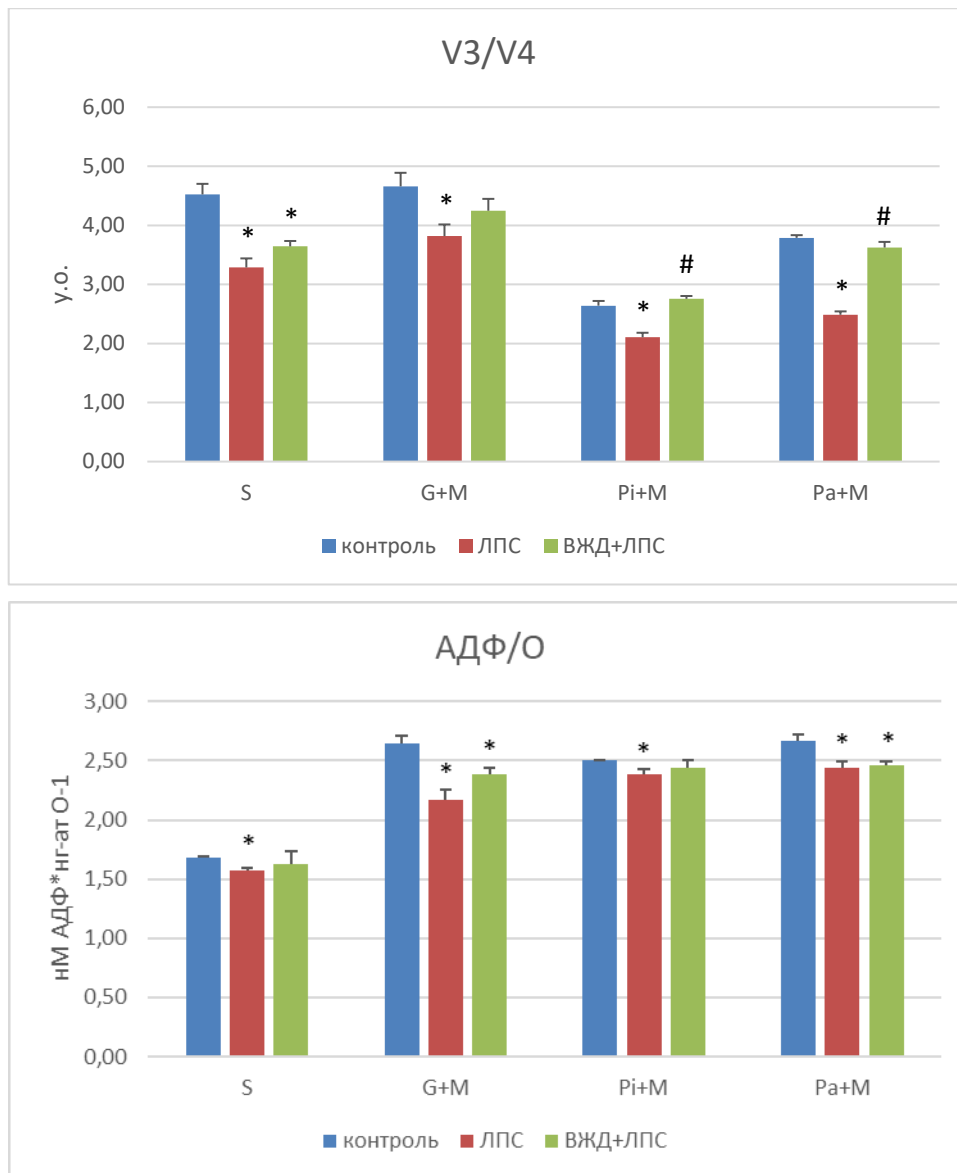


Рис. 3.18. Показники мітохондріального дихання при запаленні (ЛПС) та інсулінорезистентності (ВЖД+ЛПС) при використанні різних енергетичних субстратів: 5 ммоль/л сукцинату (S), 5 ммоль/л глутамату + 2,5 ммоль/л малату (G+M), 5 ммоль/л пірувату + 2,5 ммоль/л малату (Pi+M), 40 мкмоль/л пальмітоїлу + 2,5 ммоль/л малату (Pa+M). *P<0,05 порівняно з контролем; #P<0,05 порівняно з ЛПС.

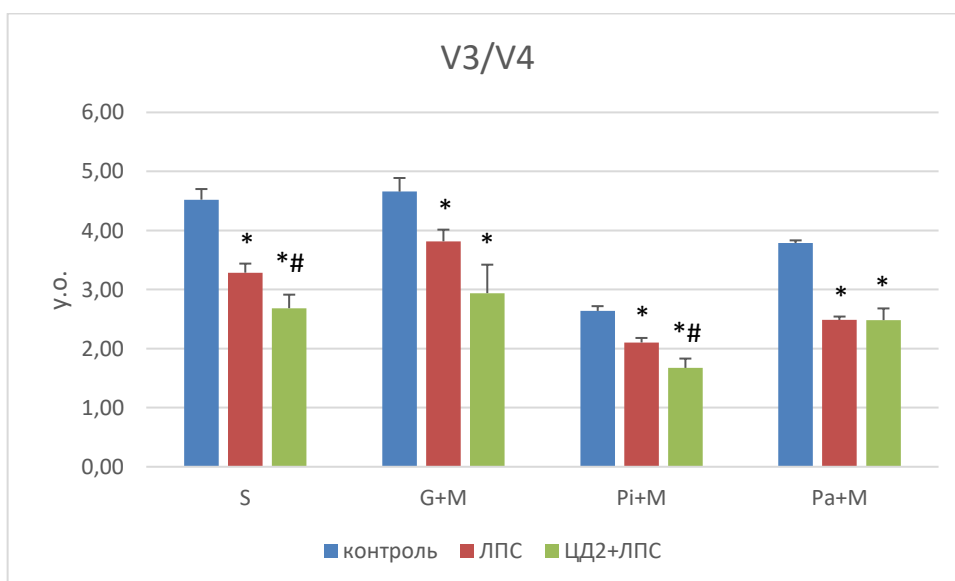
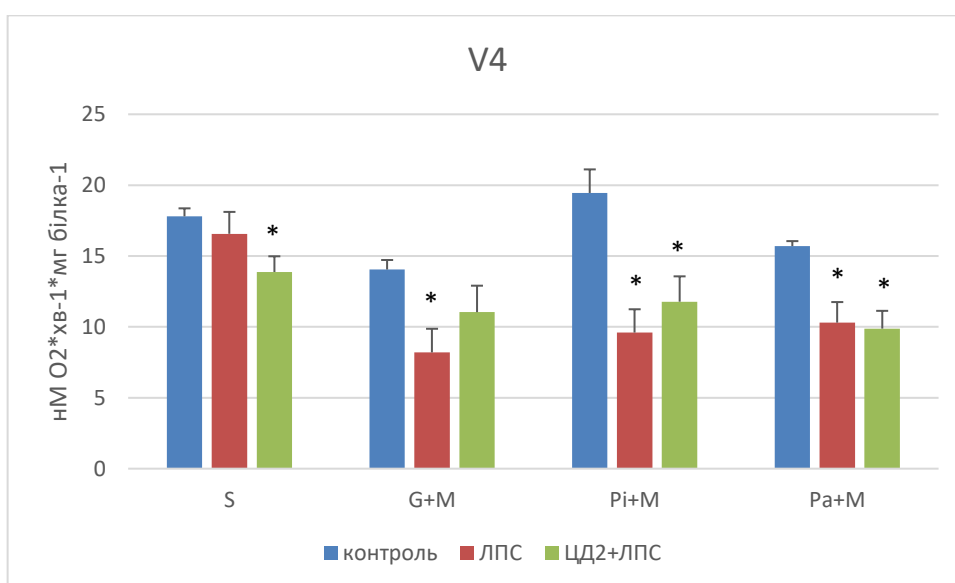
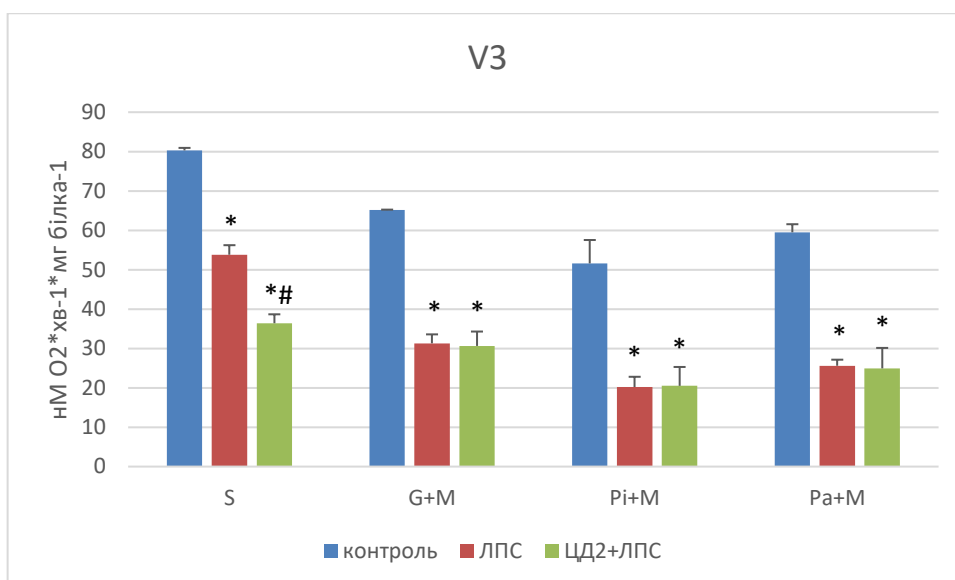
Більш значно на тлі ВЖД+ЛПС змінювалися параметри V4, які частково відновлювалися до рівня контролю при окисненні пірувату та глутамату, повністю – пальмітоїлу і вірогідно перевищували рівень контролю або групи ЛПС при окисненні сукцинату (рис. 3.18, V4). Ці зміни призводили до вірогідного зниження V3/V4 у групі ВЖД+ЛПС порівняно з контролем при окисненні сукцинату (за рахунок зростання

V4), тоді як при окисненні пірувату або пальмітоїлу коефіцієнт $V3/V4$ відновлювався від рівня ЛПС до рівня контролю (рис. 3.18, $V3/V4$). Одержані параметри вказують, що при ініціації запалення на тлі інсулінорезистентності відбувається перебудова енергетичного метаболізму, спрямована на інтенсифікацію процесів окиснення в мітохондріях як на комплексі I, так і на комплексі II ЕТЛ, проте з більш ефективним використанням для окисного фосфорилування таких субстратів, як пальмітоїл та піруват. Зміни показника АДФ/О підтверджують більш низьку ефективність у синтезі АТФ ФАД-залежного субстрату сукцинату і НАД-залежного глутамату при інсулінорезистентності (рис. 3.18, АДФ/О).

На тлі експериментального ЦД2 введення ЛПС супроводжувалося подальшим погіршенням енергетичного метаболізму порівняно з дією ЛПС на інтактних тварин або, тим більш, щурів з інсулінорезистентністю, але вибірково щодо окиснення різних субстратів. Спостерігали найбільш виразну редукцію $V3/V4$ при окисненні сукцинату (за рахунок зменшення $V3$), глутамату та пірувату (за рахунок зростання $V4$), значне зменшення АДФ/О при окисненні сукцинату, проте показники окиснення ліпідного субстрату пальмітоїлу не змінювалися порівняно з дією ЛПС на інтактних тварин (рис. 3.19).

Таким чином, ЛПС-індуковане запалення супроводжується порушеннями енергетичного метаболізму, пов'язаними із пригніченням мітохондріального дихання, а також зменшенням спряження окиснення і фосфорилування, що може призводити до нестачі АТФ. На тлі інсулінорезистентності відбувається компенсаторна стимуляція енергетичного метаболізму, особливо окиснення ліпідних субстратів та пірувату. При коморбідному перебігу з ЦД2 запальний процес супроводжується поглибленням розладу енергетичного метаболізму, зокрема, використання для синтезу АТФ інтерметаболітів циклу Кребса.

Отже, ЛПС-індуковане запальне пошкодження легень і печінки характеризується мітохондріальною дисфункцією та порушенням енергетичного метаболізму. Ці порушення поглиблюються при коморбідному перебігу запалення і діабету 2 типу, особливо щодо використання для синтезу АТФ інтерметаболітів циклу Кребса, тоді як окиснення ліпідних субстратів підтримується.



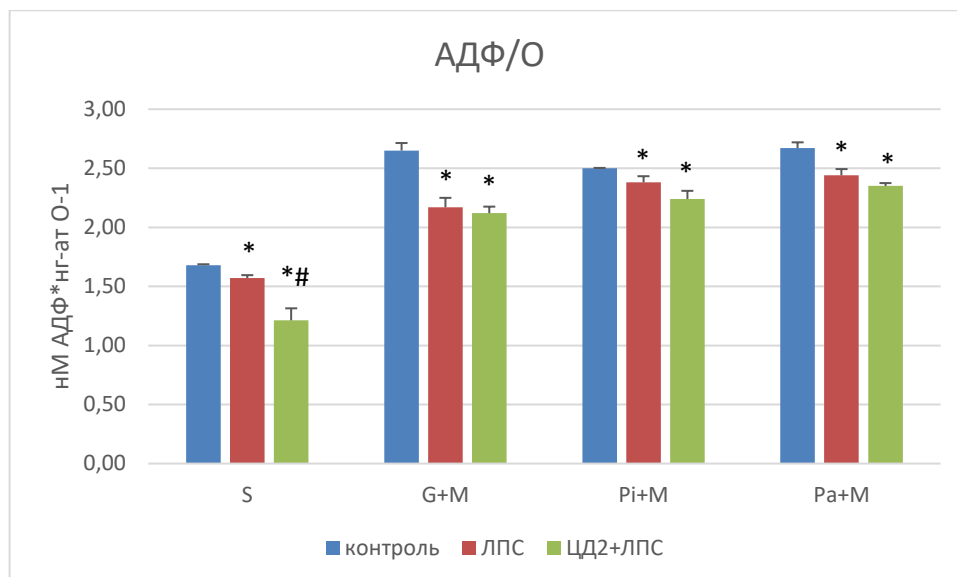


Рис. 3.19. Показники мітохондріального дихання при запаленні (ЛПС) та ЦД2 (ЦД2+ЛПС) при використанні різних енергетичних субстратів: 5 ммоль/л сукцинату (S), 5 ммоль/л глутамату + 2,5 ммоль/л малату (G+M), 5 ммоль/л пірувату + 2,5 ммоль/л малату (Pi+M), 40 мкмоль/л пальмітоїлу + 2,5 ммоль/л малату (Pa+M).
*P<0,05 порівняно з контролем; #P<0,05 порівняно з ЛПС.

3.3.3 Лептинзалежні механізми регуляції функції мітохондрій при ЛПС-індукованому запальному процесі та інсулінорезистентності

Дослідження лептинзалежних механізмів регуляції функції мітохондрій проводили *in vitro* у суспензії ізольованих мітохондрій печінки та гомогенаті печінки дослідних тварин. В процесі дослідження проводили оцінку впливу лептину на швидкість споживання кисню мітохондріями при окисному фосфорилуванні (V3) в умовах зв'язування лептинових рецепторів специфічними антитілами та без нього.

При дослідженні функції мітохондрій у гомогенаті печінки встановлено, що у контрольній групі при додаванні лептину V3 зменшувалася на 33% при окисненні глутамату, на 35% - при окисненні сукцинату і на 37,5% - при окисненні пальмітоїлу (рис. 3.20). Зв'язування лептинових рецепторів призводило до зменшення V3 при окисненні глутамату на 51,2%, при окисненні сукцинату – на 28,5%, при окисненні пальмітоїлу – на 100%. В умовах зв'язування лептинових рецепторів гальмівний ефект лептину на V3 повністю блокувався при окисненні сукцинату і майже повністю – при окисненні глутамату.

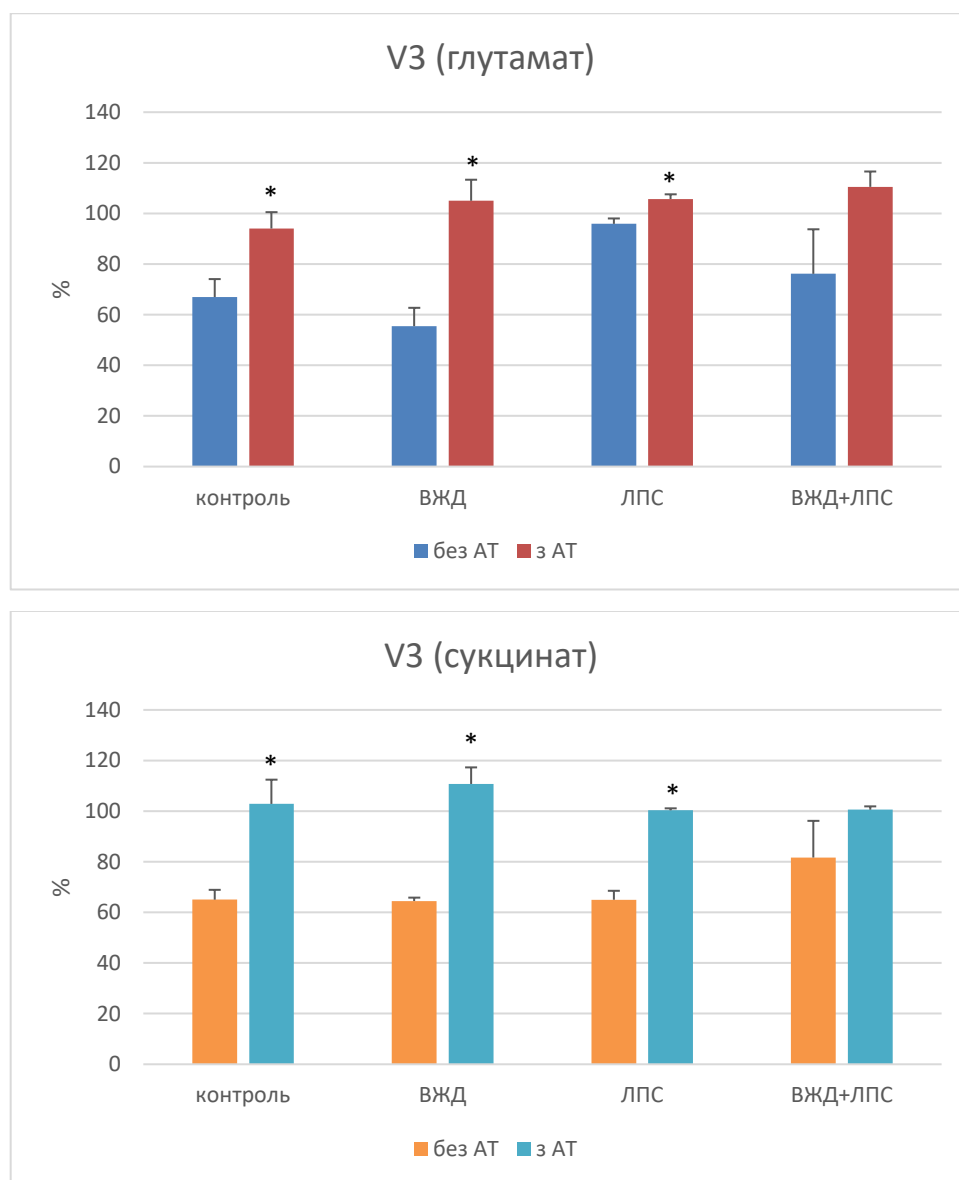


Рис. 3.20. Ефект лептину на швидкість окисного фосфорилювання (відсоток зміни V3 при введенні лептину до вихідного рівня) в гомогенаті печінки, інкубованому з антитілами (АТ) до лептинових рецепторів та без них, при окисненні різних метаболічних субстратів. * $P < 0,05$ при додаванні АТ порівняно з відсутністю впливу АТ; # $P < 0,05$ порівняно з контрольною групою.

Таким чином, в нормальних умовах лептин частково (на 33-37,5%) зменшував швидкість окисного фосфорилювання в мітохондріях, більшою мірою – ФАД-залежних субстратів на комплексі II ЕТЛ та гальмує окиснення НАД-залежних ліпідних субстратів на комплексі I ЕТЛ. Зв'язування лептинових рецепторів попереджувало ефекти лептину при окисненні НАД – і ФАД-залежних субстратів.

Лептинові рецептори повністю опосередковували активацію окиснення пальмітоїлу мітохондріями, значною мірою – окиснення НАД-залежного субстрату глутамату і меншою мірою – ФАД-залежного сукцинату.

При інсулінорезистентності внаслідок вживання ВЖД спостерігалися відмінності впливу лептину переважно щодо окиснення глутамату. Так, при додаванні лептину V3 зменшувалася більш виразно, на 44,5%, при окисненні глутамату, але ефект залишався подібним до контрольної групи при окисненні інших субстратів (на 35,5% - при окисненні сукцинату і на % - при окисненні пальмітоїлу) (рис. 3.20). Зв'язування лептинових рецепторів призводило до зменшення V3 при окисненні глутамату меншою мірою, на 37,3%, при окисненні сукцинату – лише на 16%, при окисненні пальмітоїлу – на %. В умовах зв'язування лептинових рецепторів гальмівний ефект лептину на V3 повністю блокувався при окисненні сукцинату і глутамату.

Одержані результати свідчать, що ліпідне навантаження призводило до посилення гальмівного впливу лептину на швидкість окисного фосфорилування на комплексі I ЕТЛ мітохондрій. Разом з тим, лептинові рецептори повністю опосередковували активацію окиснення пальмітоїлу мітохондріями, дещо меншою мірою опосередковували окиснення НАД-залежного субстрату глутамату і незначно – ФАД-залежного сукцинату.

При ЛПС-індукованому запаленні гальмівний вплив лептину на V3 зменшувався. Так, лептин практично не впливав на швидкість окисного фосфорилування при окисненні глутамату, а при окисненні пальмітоїлу гальмівний вплив лептину становив лише 17,2% (рис. 3.20). Натомість, при окисненні ФАД-залежного сукцинату ефекти лептину зберігалися на рівні контрольної групи. Зв'язування лептинових рецепторів викликало зменшення V3 при окисненні глутамату на 21,3%, при окисненні пальмітоїлу – на 100%, а при окисненні сукцинату – не впливало на вихідний рівень цього показника. В умовах зв'язування лептинових рецепторів наявні ефекти лептину на V3 повністю блокувалися.

Отже, ЛПС-індуковане запалення змінювало лептинову регуляцію функції мітохондрій. Гальмівний вплив лептину на швидкість окисного фосфорилування на

комплексі I ЕТЛ мітохондрій значно зменшувався, але зберігався - на комплексі II ЕТЛ мітохондрій. При цьому лептинові рецептори опосередковували окиснення пальмітоїлу, а їх роль в регуляції окиснення інших субстратів, особливо сукцинату, була незначною.

ЛПС-індуковане запалення на тлі ВЖД характеризувалося подальшим порушенням лептинзалежної регуляції функції мітохондрій зі зростанням порушень на комплексі II ЕТЛ, а також індивідуальної варіабельності ефектів лептину. Так, гальмівні ефекти лептину редукувалися у 50% щурів цієї групи при окисненні глутамату і у 75% - при окисненні сукцинату. В цілому V3 при додаванні лептину мали тенденцію до зменшення на 23,9% при окисненні глутамату, на 18,3% - при окисненні сукцинату і на 37,5% - при окисненні пальмітоїлу. Зв'язування лептинових рецепторів не призводило до вірогідного зменшення V3 при окисненні будь-яких субстратів. В умовах зв'язування лептинових рецепторів наявні ефекти лептину на V3 повністю блокувалися.

Отримані результати вказують, що коморбідний перебіг запального процесу на тлі інсулінорезистентності відрізняється погіршенням лептинзалежної регуляції не тільки на комплексі I ЕТЛ мітохондрій, як властиво запальному процесу, але й на комплексі II ЕТЛ мітохондрій.

При дослідженні ефектів лептину на суспензію ізольованих мітохондрій виявлено, що у контрольній групі при додаванні лептину V3 зменшувалася на 44% при окисненні глутамату, на 32,4% - при окисненні сукцинату і на 1,7% - при окисненні пальмітоїлу (рис. 3.21). Зв'язування лептинових рецепторів призводило до зменшення V3 при окисненні глутамату на 50,5%, при окисненні сукцинату – на 36,1%, при окисненні пальмітоїлу – на 100%, ці результати не відрізнялися від одержаних у гомогенаті печінки. В умовах зв'язування лептинових рецепторів гальмівні ефекти лептину на V3 повністю блокувалися.

Таким чином, при впливі на ізольовані мітохондрії лептин частково (на 32,4-44%) зменшує швидкість окисного фосфорилювання, більшою мірою – НАД-залежних субстратів на комплексі I ЕТЛ, але незначно впливає на окиснення пальмітоїлу. Зв'язування лептинових рецепторів попереджувало ефекти лептину при

окисненні НАД- і ФАД-залежних субстратів. Лептинові рецептори повністю опосередковували активацію окиснення пальмітоїлу мітохондріями, значною мірою – окиснення НАД-залежного субстрату глутамату і меншою мірою – ФАД-залежного сукцинату.

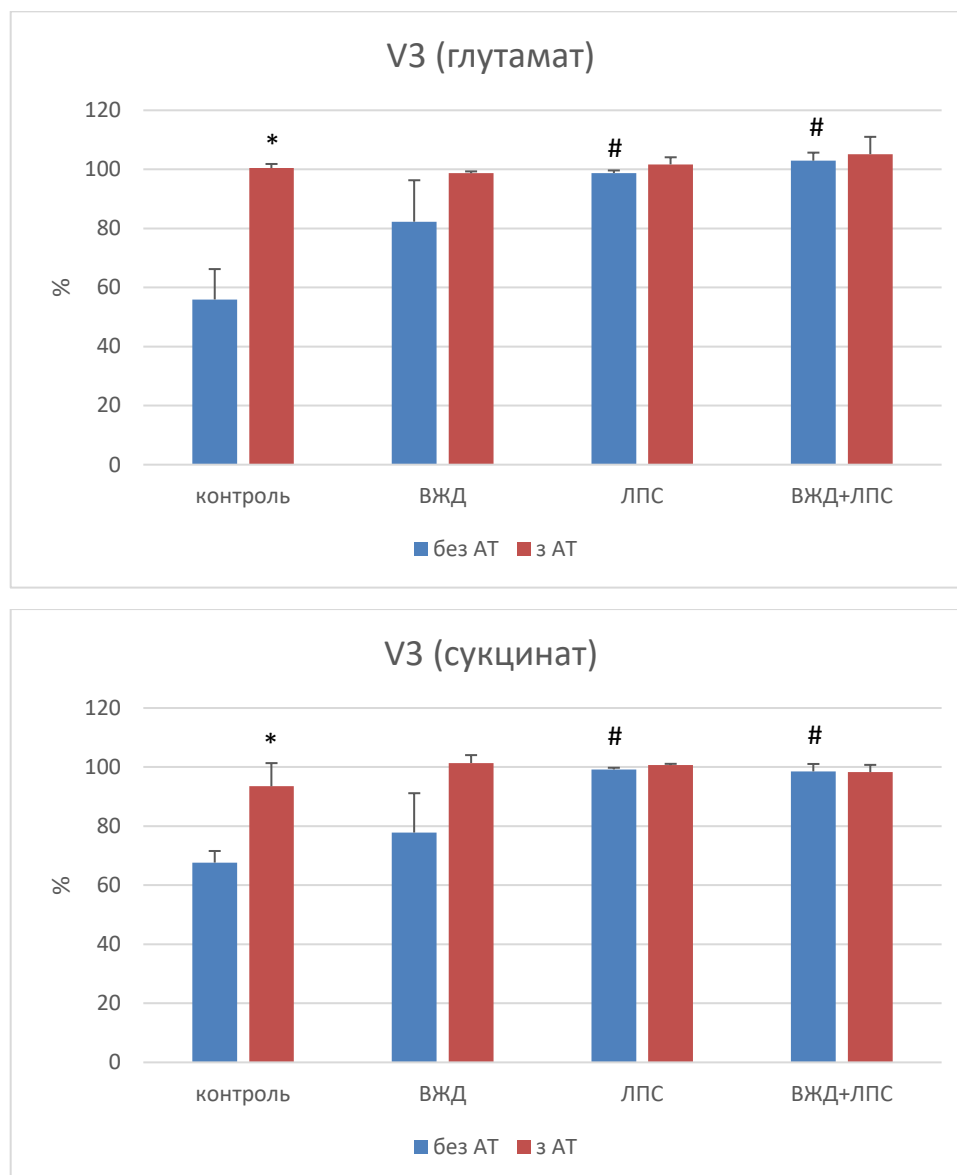


Рис. 3.21. Ефект лептину на швидкість окисного фосфорилування (відсоток зміни V3 при введенні лептину до вихідного рівня) в ізольованих мітохондріях печінки, інкубованих з антитілами (АТ) до лептинових рецепторів та без них, при окисненні різних метаболічних субстратів. * $P < 0,05$ при додаванні АТ порівняно з відсутністю впливу АТ; # $P < 0,05$ порівняно з контрольною групою.

При інсулінорезистентності внаслідок вживання ВЖД спостерігалися відмінності впливу лептину. Так, при додаванні лептину V3 зменшувалася менш виразно, на 17,8% - при окисненні глутамату, на 22,8% - при окисненні сукцинату і на % - при окисненні пальмітоїлу. Зв'язування лептинових рецепторів призводило до зростання V3 при окисненні сукцинату у 66% тварин, і до її зменшення або сталих значень при окисненні глутамату у цих же тварин. В умовах зв'язування лептинових рецепторів гальмівний ефект лептину на V3 повністю блокувався при окисненні сукцинату і глутамату.

Одержані результати свідчать, що ліпідне навантаження призводило до зменшення гальмівного впливу лептину на швидкість окисного фосфорилування на комплексах I і II ЕТЛ мітохондрій. При цьому лептинові рецептори повністю опосередковували ефекти лептину.

При ЛПС-індукованому запаленні гальмівний вплив лептину на V3 був відсутній при окисненні всіх субстратів. Зв'язування лептинових рецепторів збільшувало V3 на 34,2% при окисненні глутамату, на 17,6% - при окисненні сукцинату, але повністю редукувало окисне фосфорилування при окисненні пальмітоїлу. В умовах зв'язування лептинових рецепторів наявні ефекти лептину на V3 повністю блокувалися.

Отже, ЛПС-індуковане запалення змінювало лептинову регуляцію функції мітохондрій. Гальмівний вплив лептину на швидкість окисного фосфорилування на комплексах I і II ЕТЛ мітохондрій був відсутній. При цьому лептинові рецептори різноспрямовано опосередковували окиснення пальмітоїлу та інших субстратів.

ЛПС-індуковане запалення на тлі ВЖД також характеризувалося відсутністю впливу лептину на V3 при окисненні всіх субстратів. Водночас зв'язування лептинових рецепторів викликало зменшення V3 на 23,6% при окисненні глутамату і на 46% - при окисненні сукцинату. В умовах зв'язування лептинових рецепторів ефекти впливу лептину на V3 не виявлялися.

При співставленні ефектів лептину, одержаних у суспензії ізольованих мітохондрій і в гомогенаті печінки, можна зазначити, що клітини печінки здійснювали регуляторний вплив на функцію мітохондрій, який підтримував лептинзалежну

регуляцію при ліпідному навантаженні та частково – при впливі ЛПС, тоді як власні лептинзалежні механізми регуляції функції мітохондрій в цих умовах порушувалися. В той же час при впливі ЛПС на тлі інсулінорезистентності виявлено неспроможність ні мітохондріальних, ні клітинних механізмів у печінці забезпечити лептинзалежну регуляцію окисного фосфорилування.

Отримані результати вказують на те, що коморбідний перебіг запального процесу на тлі інсулінорезистентності характеризується глибокою редукцією лептинзалежної регуляції окисного фосфорилування на комплексах I і II ЕТЛ мітохондрій. При цьому зберігається гальмівна функція лептинових рецепторів, спрямована на окиснення НАД- і ФАД-залежних субстратів.

3.3.4 Зміни експресії лептинових рецепторів і лептину в тканинах при коморбідному перебігу запалення в легенях і метаболічних порушень

При визначенні експресії лептинових рецепторів у тканинах щурів було встановлено, що експресія лептинових рецепторів зростала в легенях при впливі ВЖД і особливо – розвитку ЦД2 (рис. 3.22). У тварин без метаболічних порушень ЛПС не впливав на експресію лептинових рецепторів (рис. 3.22, А), але при введенні ЛПС щурам з інсулінорезистентністю або ЦД2 показники експресії цих рецепторів редукувалися нижче рівня контролю.

У печінці показники експресії були вищими в групі контролю, ніж у легенях, і не змінювалися при вживанні ВЖД, але зростали у щурів, що мали ЦД2 (рис. 3.22, Б). При впливі ЛПС експресія рецепторів не змінювалася у контролі і тільки незначно редукувалася у групі тварин з ВЖД, а у тварин, які мали ЦД2 – продовжувала зростати. Відмінності цих параметрів від показників у легенях можуть вказувати на те, що у печінці відбуваються активні адаптаційні процеси, спрямовані на компенсацію порушень лептинзалежної регуляції при коморбідному перебігу запалення та метаболічних розладів, за рахунок збільшення експресії лептинових рецепторів, водночас в легенях ланки регуляції значно порушуються на рівні експресії цих рецепторів. Зменшення кількості лептинових рецепторів при запальному процесі

теж може пояснювати редукцію лептинзалежної регуляції функції мітохондрій за цих умов, результатом чого може бути розлад енергетичного метаболізму.

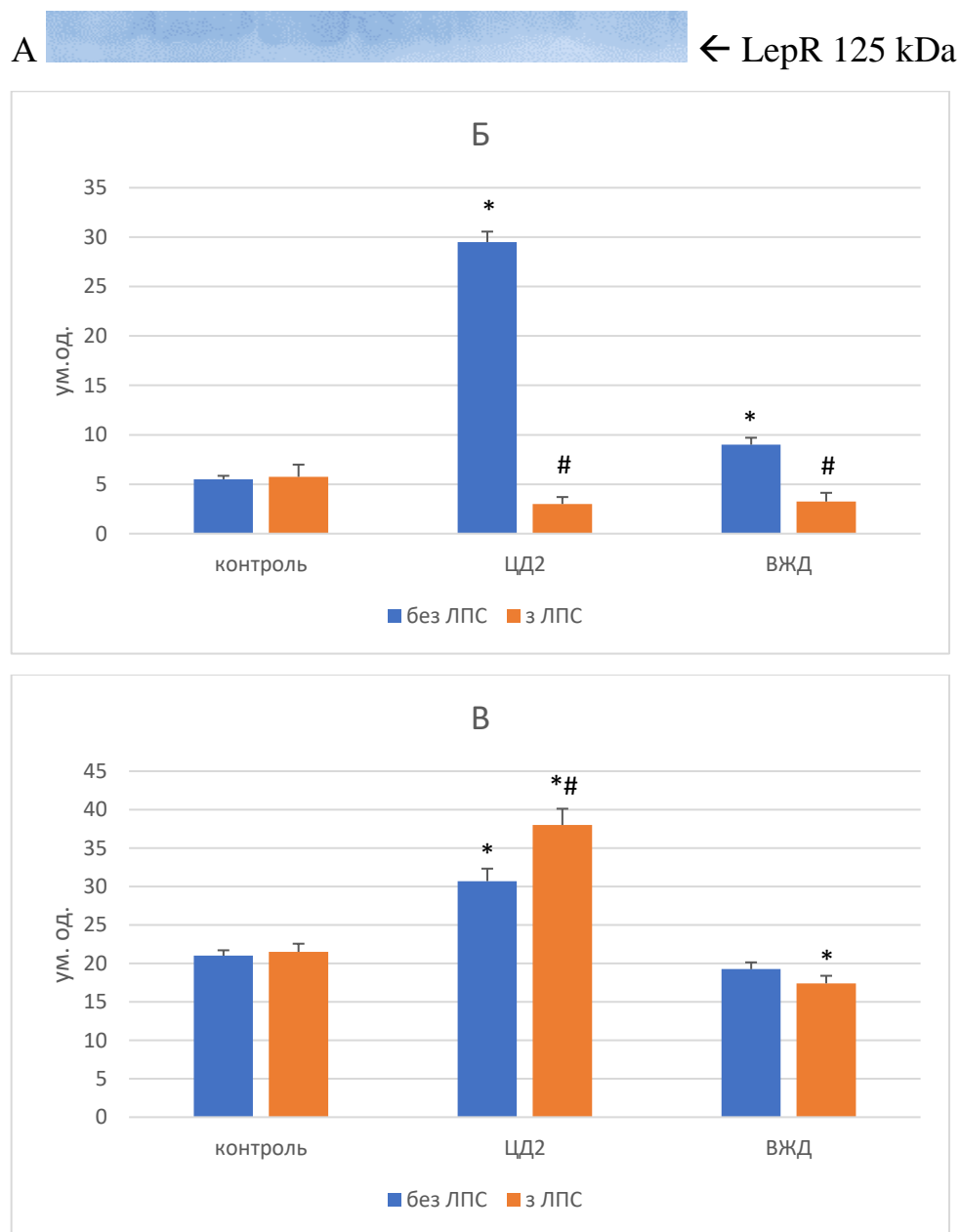


Рис. 3.22. Репрезентативний блот (А) та денситометричні показники експресії лептинових рецепторів (LepR) у легенях (Б) та печінці (В). * $P < 0,05$ порівняно з контролем; # $P < 0,05$ порівняно з групою без впливу ЛПС.

При встановленні експресії білка лептину у тканинах щурів було з'ясовано, що у щурів, які вживали ВЖД призводила до зменшення рівня лептину у легенях, тоді як у печінці рівень лептину вірогідно не змінювався (рис.3.23, А, Б). Після введення ЛПС

інтактним тваринам рівень лептину значно зростав в обох тканинах. У щурів з інсулінорезистентністю введення ЛПС теж викликало підвищення експресії лептину, хоча й меншою мірою, а у щурів, які мали ЦД2 зміни не були вірогідними (рис.3.23, А, Б).

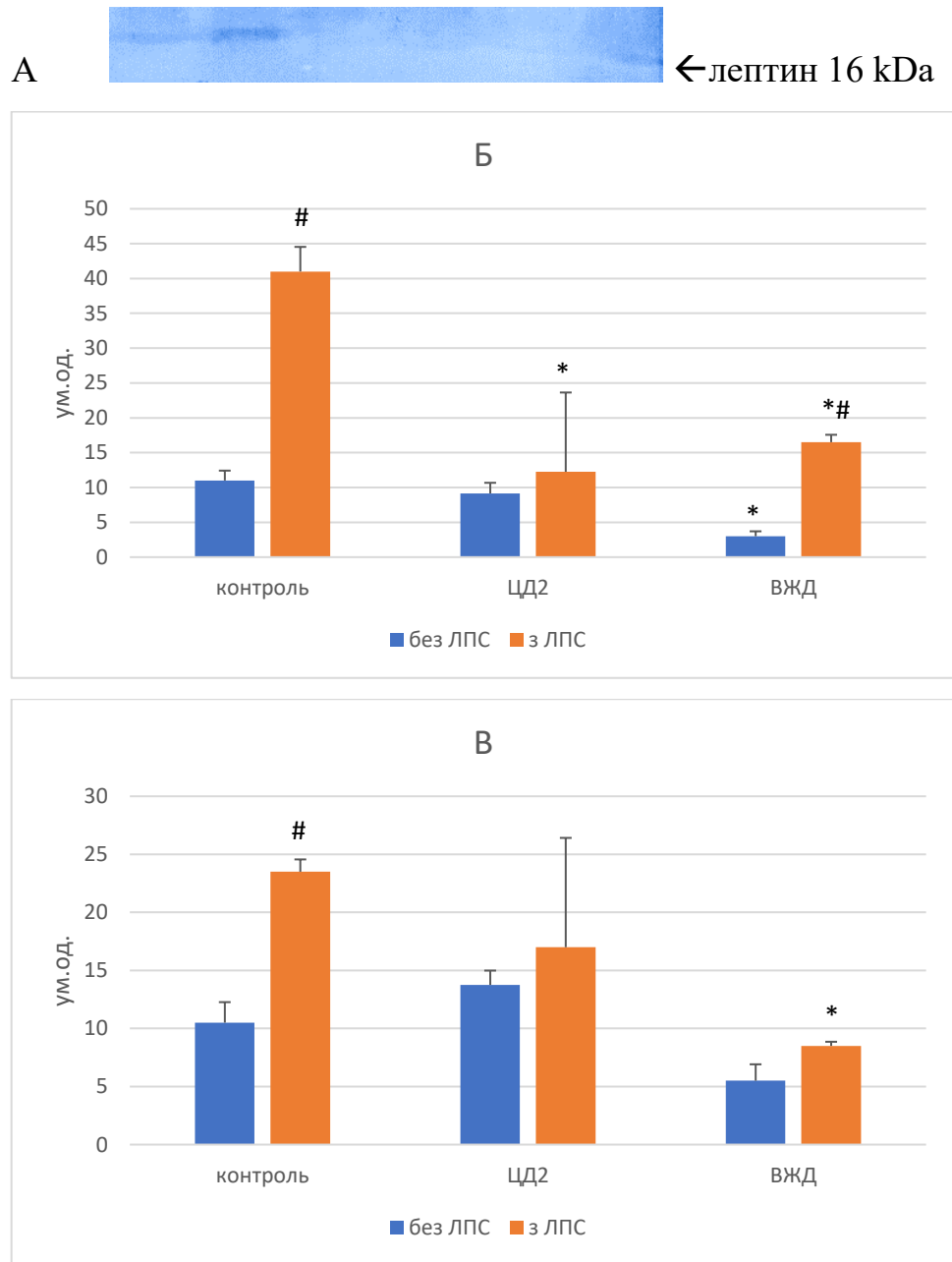


Рис. 3.23. Репрезентативний блот (А) та денситометричні показники експресії білка лептину у легенях (Б) та печінці (В). * $P < 0,05$ порівняно з контролем; # $P < 0,05$ порівняно з групою без впливу ЛПС.

При порівнянні показників експресії лептину та лептинових рецепторів можна зазначити, що у тварин, які не мають метаболічних порушень запальний процес

викликає зростання рівня лептину без впливу на кількість рецепторів. У протилежність цьому, при запаленні у щурів, що мають інсулінорезистентність, рівень лептину підвищується меншою мірою, а рецепторна ланка редукується. При ЦД2 запалення супроводжується порушенням лептинової регуляції зі значною варіабельністю експресії лептину та органоспецифічними змінами кількості рецепторів. Ці зміни є підґрунтям порушень лептинзалежної регуляції при коморбідному перебігу запального процесу і метаболічних розладів.

Задля оцінки про- та протизапальної спрямованості змін цих ланок лептинзалежної регуляції було визначено співвідношення показників експресії лептину до експресії лептинових рецепторів (lep/LepR). З'ясовано, що в легенях метаболічні розлади супроводжувалися зменшенням цього співвідношення, тобто обмеженням прозапального впливу лептину (рис. 3.24, А). Замість того при коморбідному перебігу з запальним процесом співвідношення цих ланок змінювалося в бік зростання прозапального впливу.

У печінці показники lep/LepR були нижчими за рахунок більшої експресії лептинових рецепторів у цій тканині та вірогідно не змінювалися при метаболічних порушеннях (рис. 3.24, Б, 3.24, Б). Введення ЛПС призводило до ймовірного збільшення цього співвідношення, тобто прозапальну регуляцію, у інтактних тварин та значно меншою мірою у щурів з інсулінорезистентністю, а при ЦД2 показники lep/LepR залишалися сталими (рис. 3, Б), що вказує на протизапальну регуляцію впливу лептину в цьому органі при метаболічних розладах та їх поєднанні з запальними процесом.

Підсумовуючи вищезазначене, можна вказати, що введення ЛПС інтактним тваринам призводило до зниження вмісту тригліцеридів у крові та вмісту загального холестерину і холестерину ЛПДНЩ, супроводжувалось порушеннями енергетичного метаболізму, пов'язаними із пригніченням мітохондріального дихання, а також зменшенням спряження окиснення і фосфорилювання. Гальмівний вплив лептину на швидкість окисного фосфорилювання на комплексах I і II ЕТЛ ізольованих мітохондрій редукувався, але підтримувалось окиснення ФАД-залежних субстратів мітохондріями в гомогенаті печінки, при цьому спостерігали збільшення рівня

лептину у легенях і печінці без змін рівня лептинових рецепторів, що посилювало як метаболічні, так і прозапальні механізми впливу лептину.

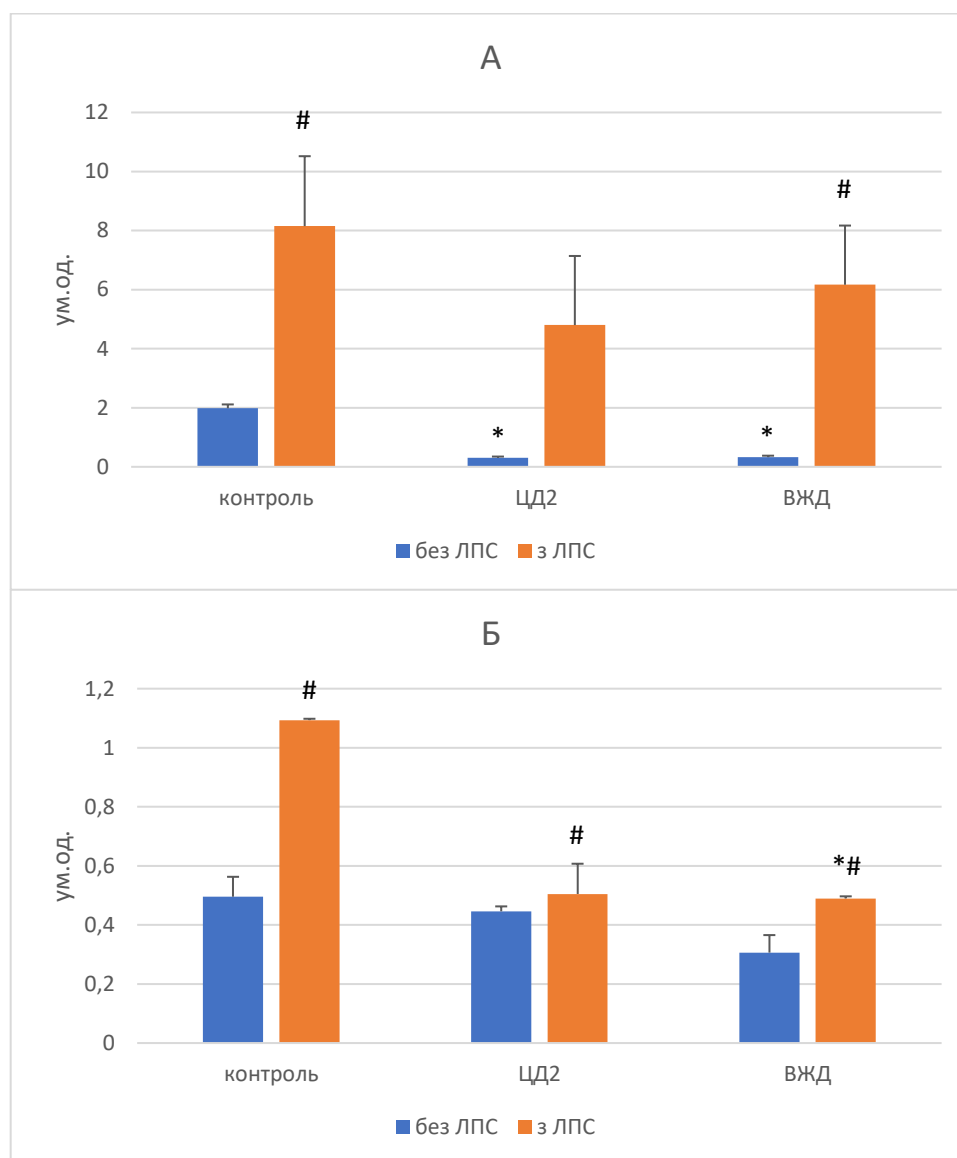


Рис. 3.24. Співвідношення експресії білка лептину до експресії лептинових рецепторів (lep/LepR) у легенях (А) та печінці (Б). * $P < 0,05$ порівняно з контролем; [#] $P < 0,05$ порівняно з групою без впливу ЛПС.

При розвитку запального процесу в легенях на тлі інсулінорезистентності спостерігали зниження у крові вмісту тригліцеридів, загального холестерину і холестерину ЛПВЩ і ЛПДНЩ, при цьому відбувалася компенсаторна стимуляція енергетичного метаболізму, особливо окиснення ліпідних субстратів та пірувату. Гальмівний вплив лептину на швидкість окисного фосфорилювання на комплексах I

і II ЕТЛ мітохондрій, як в умовах їх виділення, так і в складі гомогенату печінки, повністю редукувався. Таким чином, перебіг запального процесу в легенях на тлі інсулінорезистентності сприяв декомпенсації ліпідного обміну та, вторинно, – енергетичного обміну. При коморбідному перебігу з ЦД2 запальний процес відрізнявся поглибленням розладу енергетичного метаболізму, зокрема, пригніченням використання для синтезу АТФ інтерметаболітів циклу Кребса.

Інсулінорезистентність і ЦД2 призводили до збільшення експресії лептинових рецепторів в легенях, а коморбідний перебіг запального процесу на тлі метаболічних порушень істотно зменшував таку експресію, що призводило до порушення лептинзалежної регуляції енергетичного обміну та обтяження перебігу патологічного процесу. При розвитку запалення на тлі інсулінорезистентності ці порушення супроводжувалися зростанням експресії лептину в легенях та збільшенням співвідношення $lep/LepR$ в бік посилення прозапального впливу, що може ускладнювати перебіг пневмонії і обумовлювати погіршення прогнозу при коморбідній патології. У печінці ці зміни були менш виразними, що могло слугувати для компенсаторного підтримання лептинзалежних механізмів регуляції у гепатоцитах.

Результати, висвітлені в цьому розділі, опубліковано у наукових працях автора [170, 182, 183, 186, 188, 189, 191-198]:

РОЗДІЛ 4.

АНАЛІЗ І УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Розробка експериментальної моделі коморбідного перебігу запального процесу на тлі інсулінорезистентності та цукрового діабету 2 типу

При розробці експериментальної моделі нами встановлено (див. розділ 3.1), що вживання ВЖД впродовж 2 тижнів є достатнім експериментальним терміном для розвитку проявів інсулінорезистентності, що співставно з даними Mansor L.S. та співавт. [165]. Після введення стрептозотоцину в дозах 20 або 25 мг/кг виявлено розвиток діабету 2 типу у частини тварин, це відповідає даним, отриманими на інших моделях, в тому числі у тварин ювенільного і молодого віку [199, 200].

Відомі шляхи відтворення ЦД2 можна поділити на дві групи: індуковані і генетично-обумовлені [201]. Одним з експериментальних підходів, наближеним до патогенезу ЦД2 у людини, є комбінований вплив вживання високожирової дієти і введення низької дози стрептозотоцину, яка сама по собі не викликає цукрового діабету [165, 200, 202].

Відомі моделі на щурах з використанням ВЖД різного складу (40-58% ліпідів за калорійністю) і тривалості (2-8 тижнів) і введення стрептозотоцину в дозах 15-60 мг/кг ваги продемонстрували свою ефективність у відтворенні цукрового діабету [165, 200, 202,]. Але з точки зору патогенетичної відповідності ряд моделей мають недоліки: розроблені для тварин ювенільного віку, що не відповідає віковим параметрам захворюваності у людини [200, 202], або можуть фактично поєднувати цукровий діабет 1 і 2 типу при застосуванні великих доз стрептозотоцину [165, 201, 202]. Використаний нами підхід позбавлений цих недоліків і наближений до патогенезу метаболічного синдрому у людини.

Для моделювання запальних процесів, включаючи пошкодження легень, що супроводжується гострим респіраторним дистрес-синдромом, застосовують введення ЛПС грам-негативних бактерій, цей підхід визнано відповідним у респіраторній медицині [203]. Застосування ЛПС в нашій моделі добре відповідає і клінічним

спостереженням, що у хворих з цукровим діабетом є передумови для інфікування легень саме грам-негативною мікрофлорою [204].

Для відтворення запального процесу в легенях у інтактних щурів різного віку широко використовують ЛПС в дозі 5-10 мг/кг ваги [205, 206, 207], що призводить до змін гематологічних параметрів, зростання рівня прозапальних цитокінів, морфологічних проявів запалення та експресії інфламмасоми у тканині легень, але цей підхід може бути непридатним (надмірним) для щурів з метаболічними порушеннями. Раніше у нашому відділі було продемонстровано, що менша доза ЛПС (1 мг/кг ваги тіла) викликає системні та морфологічні ознаки пневмонії у дорослих щурів [208], що супроводжується порушенням термогенезу, лейкоцитозом, анорексією, проявами оксидативного стресу, запального порушення ультраструктури легень з ознаками інтерстиціального набряку, ендотеліальної та мітохондріальної дисфункції, порушень аерогематичного бар'єру, синтезу і секреції сурфактанту та відповідними порушеннями газообміну і патерну дихання. Однак в умовах коморбідного перебігу запалення і ЦД2, враховуючи клінічні свідчення [209], вплив такої дози ЛПС також може бути надмірним і негативно впливати на виживання тварин в експерименті. Це припущення підтвердилося при розробці моделі коморбідного перебігу ЛПС-індукованого запалення і ЦД2, коли введення дози ЛПС 1 мг/кг призвело до 100% летальності тварин, що не спостерігалось при введенні ЛПС тваринам з інсулінорезистентністю, але без ЦД2. Тому для моделювання коморбідного перебігу ЛПС-індукованого запалення і ЦД2 було використано дозу ЛПС 0,5 мг/кг.

На підтвердження наших результатів, нещодавні дослідження на іншій моделі у щурів продемонстрували прозапальну дію малої дози ЛПС (0,4 мг/кг) при моделюванні метаболічного синдрому за допомогою 60-денного вживання 20%-го розчину фруктози, а також синергічні ефекти цих чинників на порушення метаболізму і патологічні зміни у м'язових тканинах [210].

Морфологічні прояви мітохондріальної дисфункції при ЛПС-індукованому запаленні в легенях на тлі інсулінорезистентності та ЦД2

При дослідженні ультраструктури тканин нами було виявлено особливості коморбідного патологічного процесу (див. розділ 3.2). ЛПС-індуковане запалення супроводжувалось запальними проявами у легенях, ознаками порушень аерогематичного бар'єру, мітохондріальної дисфункції, значним зростанням кількості вільних і прикріплених рибосом, що вказує на порушення енергетичного метаболізму і розвиток компенсаторно-приспосувальних реакцій у вигляді інтенсифікації синтезу білка, репаративних процесів у мітохондріях та їх взаємодії з ЕПР.

При моделюванні ЛПС-індукованого запального процесу на тлі цукрового діабету 2 типу у щурів у легенях були ознаки ліпідної інфільтрації, запальні прояви посилювалися, зростала гіпергідратація аерогематичного бар'єру, ендотеліальна і мітохондріальна дисфункція, компенсаторно зростав синтез білка, що може свідчити про інтенсифікацію процесів альтерації і репарації, погіршення енергетичного та ліпідного метаболізму у щурів з коморбідною патологією.

При моделюванні ЛПС-індукованого запального процесу на тлі інсулінорезистентності без ЦД2 патологічні прояви в легенях були менш виражені, мітохондріальна дисфункція не спостерігалася, але були прояви ліпідної інфільтрації. Відомо, що внутріклітинні ліпідні краплі, або олеосоми, депонують і постачають необхідні ліпіди для виробництва сигнальних молекул, мембран і метаболічної енергії, необхідної для виживання в періоди нестачі поживних речовин. Надходження ліпідів з цих депо або з аліментарних тригліцеридів є важливими субстратами енергетичного метаболізму, вони також інгібують гліколіз і забезпечують зсув енергетичного метаболізму на ліпідні субстрати в разі нестачі вуглеводів, тобто «метаболічну гнучкість мітохондрій» [211, 212, 213]. Зміни динаміки мітохондрій, збільшення їх кількості або покращення їх функції при метаболічних порушеннях також могли досягатися за рахунок зростання синтезу білків та їх посттрансляційних модифікацій [214], ознаки чого ми спостерігали у досліджених тканинах.

Отже, в умовах інсулінорезистентності активувалися компенсаторні механізми для запобігання мітохондріальної дисфункції та підтримання енергетичного метаболізму, тому слід зауважити лише часткову роль інсулінорезистентності у несприятливому перебігу коморбідної патології, тоді як значне обтяження відбувалося в умовах декомпенсації вуглеводного і енергетичного метаболізму при ЦД2. Таке обтяження могло бути наслідком нестачі АТФ для репаративних процесів у легенях, підтримання метаболізму і забезпечення функції дихальної системи.

Дисфункція легень при діабеті є відомою проблемою, яка зараз набула нового значення [215, 216]. Встановлено, що патогенетичні механізми цукрового діабету 2 типу (ЦД2) задіяні у несприятливому коморбідному розвитку ряду серцево-судинних та легеневих захворювань [209, 217-219]. Епідемія COVID-19 виявила, що наявність ЦД2 у пацієнтів значно погіршує прояви гострого респіраторного дистрес-синдрому і прогноз коронавірусної пневмонії [209, 218, 2019]. Ця актуальна медична проблема підкреслює необхідність встановлення механізмів коморбідного перебігу запального процесу і метаболічних порушень, насамперед, інсулінорезистентності і ЦД2.

Відомо, що пацієнти з ЦД2 не тільки схильні до захворювань легень, в тому числі, інфекційних, але й мають більш тяжкий перебіг захворювання в порівнянні з пацієнтами без діабету [155, 209, 218-221]. Встановлено, що хронічний запальний процес та порушення метаболізму глюкози при ЦД2 порушують регуляцію функції Т-клітин, макрофагів та хемотаксис нейтрофілів [215, 218, 220]. Резистентність до інсуліну та зростання рівня цитокінів призводять до запальної реакції і зростання окисного стресу в легенях. Це може знижувати силу дихальних м'язів і викликати функціональні порушення в легенях [154, 155, 216]. Гістопатологічні зміни в легенях хворих на ЦД2 включають потовщення альвеолярної, епітеліальної та легеневої капілярної базальної мембрани [154, 155], що погіршує газообмін в легенях. Гіперглікемія спричинює глікозилювання білків, мікроангіопатію альвеолярних капілярів та протеоліз сполучної тканини, що призводить до втрати еластичності легеневої тканини і колапсу дрібних дихальних шляхів під час видиху. Неферментативне глікозилювання робить колаген менш сприйнятливим до

протеолізу, що призводить до його накопичення у сполучній тканині легень та викликає рестриктивне захворювання. Гіперглікемія також знижує мукоциліарний кліренс, що може призвести до посилення легеневої інфекції [154, 155, 202]. На відміну від морфофункціональних порушень, енергетичні розлади у цих пацієнтів значно менше досліджені [222]. Однак на тлі метаболічних порушень такі розлади можуть сприяти несприятливому перебігу запального процесу в легенях [209, 218].

Запалення та набряк слизової оболонки дихальних шляхів, обструкція бронхів секретом бронхіальних залоз, підвищення транссудації, заповнення рідиною альвеол є найбільш суттєвими проявами пневмонії і причиною порушень зовнішнього дихання [223]. В легенях своєрідність запального процесу полягає у наступному: спостерігається порушення функції клітин респіраторного відділу, а, відповідно, порушення вентиляції, газообміну, проникності легневих капілярів, пошкодження як цитоплазматичних мембран ендотеліальних та епітеліальних клітин, так і всього АГБ з десквамацією епітелію, ділянками некрозу і абсцедування тканин, в результаті чого розвивається спочатку набряк тканин, а потім і внутрішньоальвеолярний набряк. Подібні прояви, виявлені нами та іншими дослідниками, характерні і для запального пошкодження легень при введенні ЛПС, який є відомим індуктором «цитокінового шторму» [224, 225]. Це дає підстави вважати, що питома частина патогенетичних механізмів при пневмонії пов'язана саме із впливом прозапальних цитокінів, а не лише зі специфічним впливом інфекційного агента [187].

Одержані нами результати підтримують значимість цитокін-залежних ланок у розвитку пневмонії та коморбідного обтяження патологічного процесу на тлі ЦД2. Такі механізми не є специфічними і можуть розвиватися при запальних ураженнях легень різної етіології, але демонструють шкідливий вплив на енергетичний метаболізм, що узагальнює розуміння патогенезу подібних коморбідних патологічних процесів [187].

У печінці тварин з коморбідним перебігом ЛПС-індукованого запалення і цукрового діабету 2 типу виявлено зростання стеатозу, ендотеліальної та мітохондріальної дисфункції, компенсаторне зростання синтезу білка у зв'язаних рибосомах. Виявлені морфологічні зміни свідчать про спрямованість компенсаторних

механізмів в бік підтримання вуглеводного та енергетичного метаболізму на тлі погіршення ліпідного обміну [187].

Потрібно зазначити, що ЛПС також вживається для індукції запального процесу в печінці, але при використанні у значно більших дозах (5-15 мг/кг ваги у щурів) внутрішньочеревинно або внутрішньовенно, і часто в комбінації з іншими гепатотоксичними речовинами [226, 227, 228, 229]. Так, введення 8 мг/кг ЛПС щурам викликало гепатит з некротичним пошкодженням гепатоцитів, значним розширенням синусоїдів та інфільтрацією запальними клітинами [227]. У наших експериментах запальні прояви в печінці були незначними і не супроводжувалися деструкцією гепатоцитів (розділ 3.2). Разом з тим, показано, що ВЖД з 60% вмісту ліпідів у загальній калорійності викликала у мишей гістологічні ознаки запалення, ліпідної інфільтрації та оксидативного стресу у печінці [230]. Подібні прозапальні зміни у печінці виявлено і при моделюванні метаболічного синдрому у щурів комбінованими аліментарними впливами [231]. Тому зростання запальних проявів у печінці при відтворенні коморбідної патології в наших експериментах можна вважати ефектом сумарної дії ВЖД та малої дози ЛПС, які разом не спричинювали маніфестації гепатиту. Разом з тим, зростання продукції цитокінів, зокрема, TNF- α , IL-6, IL-1 β , яке спостерігається при впливі як ВЖД, так і ЛПС на печінку та інші тканини [226, 228, 231], може бути важливим фактором обтяження коморбідної патології, в тому числі, запального процесу в легенях. Отже, продукцію прозапальних цитокінів, яка викликається обома діючими факторами, можна вважати ланкою патогенетичних механізмів обтяження коморбідного перебігу досліджених патологічних процесів. Іншим чинником пошкодження при ліпідному навантаженні може бути оксидативний і нітрозативний стрес [231].

Результати багатьох експериментальних та клінічних досліджень вказують на важливу роль мітохондріальної дисфункції у патогенезі захворювань. При порушенні структури і функції цих органел розвивається енергетичний дисбаланс, що призводить до тканинної гіпоксії [232, 233]. В патологічних умовах мітохондрії можуть генерувати надлишок активних метаболітів кисню (АМК), які викликають окисний стрес і альтерацію тканин. Пошкодження мітохондрій порушує

енергетичний гомеостаз, терморегуляцію, біосинтез метаболітів, внутрішньоклітинну регуляцію кальцію, викликає індукцію інфламмасоми NLRP3, яка в свою чергу, потенціює цитокіновий «шторм» [225, 233-235]. При коронавірусній пневмонії було показано, що більшість патогенетичних механізмів, зокрема, цитокіновий «шторм», електролітний дисбаланс, тощо, пов'язані з мітохондріальною дисфункцією [236].

Крім того, при коморбідній патології пневмонія може супроводжуватися респіраторною гіпоксією, а ЦД2 – призводити до нестачі вуглеводних метаболічних субстратів, що поглиблює тканинну гіпоксію внаслідок мітохондріального пошкодження. З огляду на ці відомості, одержані нами дані щодо посилення мітохондріальної дисфункції при коморбідному перебігу ЦД2 і ЛПС-індукованої пневмонії засвідчують один з механізмів обтяження перебігу обох патологічних процесів, як за рахунок погіршення енергетичного забезпечення організму, що спричинює декомпенсацію діабету, так і через посилення генерації АМК та інші прозапальні механізми. Однак, згідно з одержаними нами результатами, мітохондріальна дисфункція не була пов'язана з інсулінорезистентністю при вживанні ВЖД, а спостерігалася лише при ЦД2 [187]. Механізми компенсації мітохондріального апарату при інсулінорезистентності були найбільш виразними і, крім переходу на вживання ліпідних субстратів, могли забезпечуватися інтенсифікацією мітоаутофагії, яка відома як механізм, що контролює динаміку та функцію мітохондрій [233]. Разом з тим, структурно-функціональна перебудова мітохондріального апарату може бути задіяна у виникненні і підтриманні інсулінорезистентності [237, 238].

Порушення морфофункціонального стану клітин та клітинних елементів запускають механізми компенсації та репарації, до яких безпосередньо належить зростання білкового синтезу. Виявлені нами ознаки зростання синтезу білка у клітинах свідчать про включення компенсаторно-приспосувальних реакцій у відповідь на запалення, в тому числі, для забезпечення клітинної репарації і перебудови енергетичного метаболізму [187]. Прикріплені до мембран гранулярної ендоплазматичної сітки полісоми синтезують білок для виведення його за межі клітини, що особливо властиво для клітин печінки [239]. Отже, синтез білків у

гепатоцитах при ЛПС-індукованому запаленні, ознаки якого ми спостерігали, може відрізнятися переважною спрямованістю на експорт і потреби інших органів (зокрема, легень), а у пневмоцитах – більшою мірою на компенсацію власних порушень. Одержані результати свідчать, що при коморбідній патології ці процеси інтенсифікувалися, однак слід зауважити, що синтез білка є енергозатратним і, таким чином, обмежується резервами системи доставки кисню і синтезу АТФ, які страждають як при пневмонії, так і при метаболічних розладах [187].

Лептинзалежні механізми регуляції енергетичного метаболізму при коморбідному перебігу запального процесу в легенях та метаболічних порушень

Результати досліджень вітчизняних та зарубіжних авторів вказують, що і метаболічні порушення, і порушення респіраторної функції зростають у хворих на легеневі захворювання на тлі метаболічних розладів, а коморбідність цих патологій негативно впливає на перебіг, прогноз обох захворювань та суттєво ускладнює їх лікування [240]. У пацієнтів з хронічними захворюваннями легень зростає рівень лептину, який був залучений до розвитку запалення [241]. У пацієнтів із гіперлептинемією фактична життєва місткість легень була значно нижчою, ніж у групі пацієнтів з нормальним рівнем лептину, що супроводжувалось обструктивними та рестриктивними змінами. Зі збільшенням рівня лептину прогресивно зменшувалися всі параметри функції зовнішнього дихання [242]. Дослідження у пацієнтів з гіперглікемією, інсуліновою та лептиновою резистентністю показало погіршення дихальної функції та обтяження перебігу ХОЗЛ [243]. У хворих на ХОЗЛ при наявності стеатозу печінки виявляли гіперлептинемію і подальший розвиток коморбідної патології, зокрема, стеатогепатит-асоційованої кардіоміопатії, спричиненої порушеннями метаболізму, запаленням та ендогенною інтоксикацією [244].

Дані щодо рівня лептину у плазмі крові хворих з ЦД2 неоднозначні і свідчать, що із зростанням тривалості захворювання цей рівень зростає і є найвищим при тривалості від 5 до 10 років [245]. Потрібно також враховувати, що концентрація лептину, у плазмі залежить не тільки від інтенсивності його синтезу, а й від кліренсу та зв'язування з рецепторами. Ряд досліджень вказує на те, що ключовими маркерами

в діагностиці ЛР можуть служити концентрація лептинових рецепторів та їх мРНК, тому що реалізація основних метаболічних ефектів лептину залежить не так від його рівня, скільки від кількості рецепторів до нього [246, 247].

Відомо, що ЛПС підвищує рівень лептину в крові. На мишах, дефіцитних за лептином (ob/ob), показано, що введення лептину відміняло підвищену у них летальність після впливу ЛПС [248], що вказує на важливу протективну роль лептину при запаленні. Зокрема, лептин стимулює окиснення жирних кислот і поглинання глюкози [249], а в сукупності з нашими даними про гальмівний вплив лептину на швидкість окисного фосфорилування в мітохондріях результат його дії призводить до зростання загального метаболізму на користь термогенезу, що є важливою ланкою перебігу запальних процесів та протиінфекційного імунітету.

На жаль, в умовах коморбідної патології ми констатували повну редукцію лептинзалежної регуляції мітохондріального дихання як через власні рецептори мітохондрій, так і через клітинні рецептори гепатоцитів (див. розділ 3.3), що свідчить про неспроможність функціонування вищезазначеного протективного механізму та метаболічного забезпечення імунозапальних реакцій.

Аналізуючи одержані нами результати, можна відмітити, що зростання летальності у щурів з коморбідною патологією супроводжувалося вірогідно нижчою у них експресією лептину у тканинах порівняно з групою ЛПС, що підтверджує протективний вплив лептину. Механізми такого впливу можуть бути пов'язані зі змінами цитокинового профілю. Так, дефіцит лептину у мишей (ob/ob) супроводжувався нестачею протизапальних цитокинів IL-10 та антагоніста рецептора IL-1 (IL-1Ra) після введення ЛПС, а рівень прозапальних TNF α та IL-1 β не відрізнявся від мишей дикого типу [248]. Разом з тим, дані про вплив лептину на макрофаги свідчать про його участь у клітинноопосередкованих прозапальних механізмах [250].

Аналіз сучасних досліджень свідчить, що детальне з'ясування механізму дії лептину є ключовим чинником для розуміння патогенезу і розробки нових терапевтичних підходів для лікування метаболічного синдрому, ожиріння та діабету 2 типу [251]. Це завдання набуває ще більшого значення при коморбідному перебігу

вказаних метаболічних розладів з іншими захворюваннями, коли лептинзалежна регуляція може різним чином змінюватися, і це надзвичайно мало вивчено.

В результаті досліджень нами вперше встановлено, що дія лептину на мітохондрії печінки є рецепторзалежною і має гальмівний характер щодо активного окиснення ФАД- і НАД- залежних субстратів. При інсулінорезистентності, викликаній вживанням високожирової дієти, зростає гальмівний регуляторний внесок лептину у швидкість окиснення НАД-залежних субстратів. Запальні процеси, індуковані бактеріальним ендотоксином, призводять до значного зменшення лептинзалежної регуляції окиснення НАД-залежних субстратів, тоді як його регуляторний вплив на метаболізм ФАД-залежних субстратів зберігається. При моделюванні запалення на тлі метаболічних розладів спостерігається порушення лептинзалежної регуляції функції мітохондрій при окисненні як НАД-, так і ФАД-залежних субстратів, що свідчить про тяжке порушення енергетичного метаболізму і може бути причиною несприятливого перебігу метаболічного синдрому.

Незважаючи на те, що центральні шляхи впливу лептину на регуляцію енергетичного гомеостазу детально вивчені [252], пряма периферична регуляція метаболізму лептином досліджена лише фрагментарно. Про тісну взаємодію мітохондрій, лептинової та інсулінової сигналізації в ЦНС свідчать спостереження, що резистентність до лептину викликає інсулінорезистентність і мітохондріальну дисфункцію у мозку [253]. За останніми даними, у нейронах ЦНС лептин активує JAK2-STAT3-, AMPK-, PI3K-AKT-mTOR/FOXO1-, PI3K-PDE3B-cAMP-, SHP2-ERK- опосередковані сигнальні шляхи і таким чином модулює множинні механізми центральної регуляції функції органів та систем [252]. В той же час, у клітинах периферичних органів лептин може діяти подібним же чином. Так, пряма активація AMPK лептином у скелетних м'язах сприяє ліполізу та окисненню жирних кислот, а в печінці - пригнічує вироблення глюкози [249]. Встановлено також, що рання активація AMPK відбувається шляхом дії лептину безпосередньо на м'язи, тоді як більш пізня активація залежить від впливу лептину через вісь гіпоталамо-симпатичної нервової системи [249]. Ці спостереження підтримують ідею, що на ранніх стадіях розвитку патологічного процесу, які досліджувалися в наших

експериментах, важливішу роль може відігравати периферична лептинова регуляція та її порушення, тоді як зміни центральної лептинової регуляції можуть бути більш вагомою ланкою патогенезу на наступних стадіях захворювання.

Периферичним метаболічним органом, на який впливає лептин, є печінка з відносно низькою експресією *LepRb*. Виявлено, що печінково-специфічна гіперекспресія *LepRb* у мишей стимулювала печінкову AMPK при ВЖД, тоді як у тварин з дефіцитом *LepRb* цієї відповіді не було. Водночас печінковий AMP-активованій протеїнкіназний шлях полегшив гіперліпідемію, гепатостеатоз та резистентність до інсуліну шляхом зниження експресії ліпогенних генів та стимулювання експресії генів «спалювання» ліпідів у печінці [254].

Одержані нами результати вказують, що на початкових стадіях метаболічного синдрому в печінці відбувається переважно структурна і метаболічна перебудова, спрямована на пристосування до змінених метаболічних умов, без значних порушень лептин- і кальційзалежних клітинних процесів.

В умовах приєднання запального процесу, що є характерним для метаболічного синдрому, відбувається розлад кальцієвого гомеостазу, в тому числі, мітохондріального, що негативно відбивається на підтриманні лептинової регуляції енергетичного і ліпідного метаболізму і сприяє розвитку патологічного процесу.

Відомо, що порушення мітохондріального кальцієвого гомеостазу пов'язане з метаболічними захворюваннями, зокрема, ожирінням, та легеневою гіпертензією. Ca^{2+} регулює функції мітохондрій, тоді як мітохондрії формують динаміку Ca^{2+} . Дерегуляція Ca^{2+} або мітохондріальної сигналізації призводить до дисфункції, пошкодження клітин або їх загибелі [255].

Показано, що перевантаження мітохондрій кальцієм призводило до мітохондріальної дисфункції в підшлунковій залозі мишей, деполяризації та фрагментації мітохондрій. Мітохондріальна дисфункція викликала стрес ЕПР, порушення аутофагії та дерегуляцію ліпідного обміну. Тканини пацієнтів з панкреатитом також мали маркери пошкодження мітохондрій і порушення аутофагії. На цих та інших моделях виявлено центральну роль мітохондріальної дисфункції та

порушення аутофагії як її головного ефектора в розвитку панкреатиту [256], що може бути патогенетичною ланкою прогресування метаболічних порушень у ЦД2.

Рецептор лептину є членом суперсімейства рецепторів цитокінів класу I [257, 258, 259]. Рецептори цього класу не мають власної тирозинкіназної активності і активуються гомо- або гетеродимеризацією рецепторів, індукованої лігандом, що супроводжується активацією рецептор-асоційованих кіназ родини Janus. Після зв'язування лептину з рецептором димеризуються два позаклітинних ланцюга рецепторів, що призводить до агрегації двох внутрішньоклітинних рецепторних доменів і ініціює подальше сигналювання [260]. Дослідження [261] продемонстрували, що зв'язування лептинових рецепторів призводить до швидкої активації аденілілциклази через Ca^{2+} /кальмодулін-залежні шляхи, що вказує на рецепторзалежну роль лептину у зростанні внутріклітинної концентрації кальцію, яке є відомим патогенетичним механізмом мітохондріальної дисфункції [255, 256, 262].

Одержані нами результати можуть свідчити, що зв'язування лептинових рецепторів може бути однією з важливих ланок порушень внутріклітинного кальцієвого сигналювання при метаболічному синдромі, особливо в умовах поєднання інсулінорезистентності, ліпідного навантаження та активації запального синдрому, що призводить до тяжких розладів енергетичного гомеостазу, загибелі клітин і обтяження перебігу патологічного процесу.

Периферичний вплив лептину на мітохондрії досліджено *in vitro* в поодиноких роботах. На культивованих кардіоміоцитах показано, що екзогенний лептин підвищував здатність кальцію викликати набряк мітохондрій, викликав Stat3-опосередковане відкривання мітохондріальної пори і апоптоз, а також незалежно від цього стимулював гіпертрофію клітин [13, 108].

При перфузії ізольованого серця лептином розвивалася мітохондріальна дисфункція у вигляді зниження мембранного потенціалу, здатності до транспортування та утримування кальцію, прискорення набряку та погіршенні дихального контролю (V3/V4) [263].

Оригінальні дослідження на фрагментах жирової тканини мишей було проведено в умовах зв'язування *in vitro* лептинових рецепторів специфічними

антитілами (нейтралізація) та наступної дії лептину, що дозволило засвідчити рецепторзалежні ефекти лептину, в тому числі його участь в $\text{Ca}(2)^+$ /кальмодулін-залежних сигнальних механізмах [264]. Ми відтворили цей підхід у вперше виконаних дослідженнях на ізольованих мітохондріях і гомогенаті печінки, застосувавши інкубацію з аналогічними антитілами і вплив лептину в аналогічних дозах. Одержані нами ефекти лептину на функцію ізольованих мітохондрій та їх повна відміна при застосуванні антитіл до лептинових рецепторів засвідчують наявність функціональних рецепторів на мітохондріях печінки, аналогічно до їх наявності та функції в інших периферичних органах [108], а також можливість їх прямої регуляції позаклітинним або внутріклітинним лептином, експресію якого ми виявили як в легенях, так і в печінці. Деяка відмінність цих ефектів у гомогенаті печінки вказує на додаткову регуляцію функції мітохондрій клітинними рецепторами гепатоцитів, а саме, підтримання лептинзалежної регуляції окисного фосфорилування при ЛПС-індукованому запаленні у щурів без метаболічних порушень, тоді як рецептори мітохондрій вже не були активними.

Дані про відсутність ефектів лептину ні *in vivo*, ні *in vitro* на острівці підшлункової залози щурів Zucker з мутаціями рецепторів лептину [265] також підтверджують, що периферична дія лептину здійснюється виключно через рецептори, що підвищує роль змін експресії лептинових рецепторів у тканинах у патогенезі патологічного процесу.

Відомо, що нестача лептинових рецепторів призводить до акумуляції жиру в печінці, а інфузія лептину в периферичний кровоток знижує рівень тригліцеридів у печінці та плазмі крові у щурів та мишей [266]. Мутація рецепторів лептину призводить до діабету у щурів Zucker [265]. В сукупності з нашими даними це вказує на безпосередню роль нестачі лептинових рецепторів у прогресії порушень вуглеводного метаболізму в умовах коморбідного запалення на тлі інсулінорезистентності або ЦД2.

Одержані результати можна узагальнити у вигляді схеми участі лептинзалежних механізмів регуляції енергетичного обміну у патогенезі коморбідного перебігу запального процесу і метаболічних розладів (рис. 4.1).

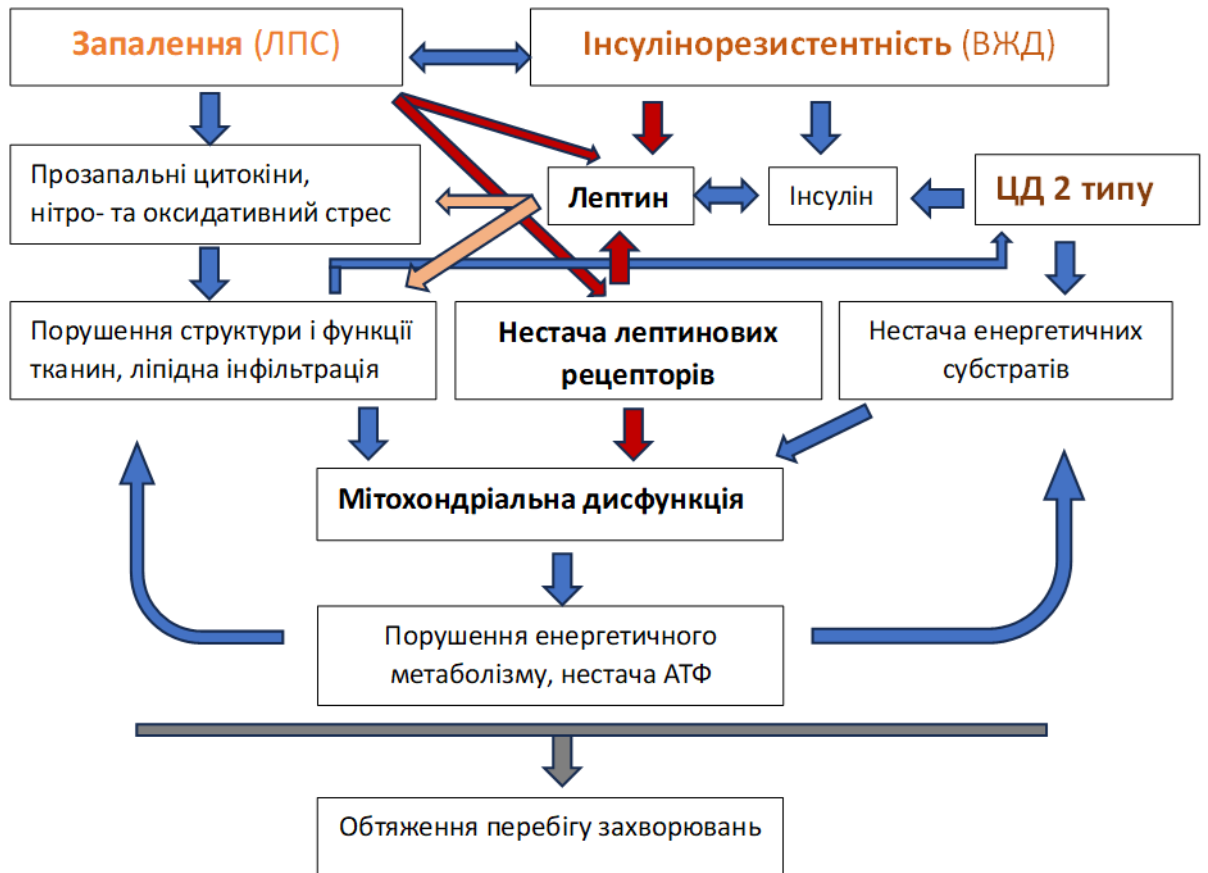


Рис. 4.1. Схема участі лептинзалежних механізмів регуляції енергетичного обміну у патогенезі коморбідного перебігу запального процесу і метаболічних розладів.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі представлено теоретичне узагальнення та нове вирішення наукового завдання встановлення ролі лептинзалежної регуляції у мітохондріальній дисфункції при коморбідному перебігу запалення та метаболічних розладів, яке проведено на основі визначення особливостей морфологічних, метаболічних та молекулярних проявів ЛПС-індукованого запального процесу в легенях на тлі інсулінорезистентності або діабету 2 типу у щурів, а також визначення лептинзалежних механізмів регуляції функції мітохондрій та їх порушень за цих умов.

1. Розроблена експериментальна модель коморбідного перебігу запального процесу в легенях і діабету 2 типу, викликаного вживанням високожирової дієти, введенням малих доз стрептозотоцину (25 мг/кг) і бактеріального ліпополісахариду (0,5 мг/кг), яка характеризувалася підтриманням стабільної інсулінорезистентності від 2-го тижня ліпідного навантаження, гіперглікемією, зниженням газообміну в легенях, зростанням експресії інфламмасоми NLRP3 (у 26,5 разів) та була ефективною щодо відтворення коморбідного запалення в легенях, попередження значного пошкодження тканин при потенціації прозапальних механізмів коморбідних патологічних процесів і значної летальності тварин в експерименті.

2. Відтворення ЛПС-індукованого запального процесу в легенях у щурів з діабетом 2 типу порівняно таким у тварин без метаболічних розладів характеризувалося посиленням запальних проявів у легенях на тлі ліпідної інфільтрації, зростанням гіпергідратації аерогематичного бар'єру (зі збільшенням його товщини у 2,5 рази), ендотеліальної та мітохондріальної дисфункції, компенсаторним зростанням синтезу білка, що може вказувати про інтенсифікацію процесів альтерації, погіршення енергетичного та ліпідного метаболізму у щурів з коморбідною патологією. При ЛПС-індукованому запальному процесу в легенях на тлі інсулінорезистентності, але без діабету 2 типу, патологічні прояви були менш виражені, мітохондріальна дисфункція не спостерігалася, що вказує на підтримання енергетичного метаболізму в цих умовах і лише часткову роль інсулінорезистентності

у несприятливому перебігу коморбідної патології.

3. При дослідженні ультраструктури клітин печінки у тварин з коморбідним перебігом ЛПС-індукованого запального процесу в легенях і цукрового діабету 2 типу спостерігалось зростання стеатозу, ендотеліальної та мітохондріальної дисфункції, компенсаторне зростання синтезу білка у зв'язаних рибосомах, утворення асоційованих з мітохондріями мембран ендоплазматичного ретикулуму. Перебудова ультраструктури тканин вказує на напруженість компенсаторних процесів щодо порушень вуглеводного та енергетичного метаболізму на тлі погіршення ліпідного обміну і прогресії ожиріння.

4. Зміни енергетичного метаболізму у щурів при запаленні або ліпідному навантаженні односпрямовано викликали зниження вмісту тригліцеридів у крові (на 47-60%), що при коморбідному їх перебігу обтяжувалося зниженням вмісту загального холестерину та його фракцій ЛПВЩ і ЛПДНЩ (на 34, 59 і 64% від контролю, відповідно), яке сприяло декомпенсації ліпідного обміну та, вторинно, – енергетичного обміну. При запаленні на тлі діабету 2 типу спостерігали більш високий рівень тригліцеридів та зниження вмісту холестерину та його фракцій, пов'язаної з ЛПВЩ, що вказує на поглиблення порушень енергетичного метаболізму.

5. ЛПС-індуковане запалення супроводжувалось порушеннями енергетичного метаболізму, пов'язаними із пригніченням мітохондріального дихання (зменшення V_3 на 33% при окисненні сукцинату, 52% - глутамату, 61% - пірувату і 57% - пальмітоїлу), а також зменшенням спряження окиснення і фосфорилування (вірогідне зниження АДФ/О при окисненні всіх метаболічних субстратів). При запаленні на тлі інсулінорезистентності спостерігалася компенсаторна стимуляція енергетичного метаболізму, особливо окиснення пальмітоїлу та пірувату (з відновленням V_3/V_4 до рівня контролю). При коморбідному перебігу з ЦД2 запальний процес супроводжувався поглибленням розладу енергетичного метаболізму, зокрема, подальшим зниженням V_3/V_4 на 19-33% при окисненні сукцинату, глутамату і пірувату.

6. При впливі на ізольовані мітохондрії лептин частково (на 32,4-44%) зменшував швидкість окисного фосфорилування (V_3), більшою мірою – НАД-

залежних субстратів на комплексі I ЕТЛ. Зв'язування лептинових рецепторів попереджувало ефекти лептину при окисненні всіх метаболічних субстратів. Ліпідне навантаження призводило до зменшення гальмівного впливу лептину на V3 (до 17,8-22,8%) на комплексах I і II ЕТЛ мітохондрій. ЛПС-індуковане запалення в умовах інсулінорезистентності або без неї характеризувалося відсутністю впливу лептину на V3 при окисненні всіх субстратів, тобто редукцією лептинзалежної регуляції окисного фосфорилування.

7. ЛПС-індуковане запалення супроводжувалось максимальним зростанням експресії лептину у тканинах легень та печінки. У щурів з інсулінорезистентністю рівень лептину в легенях був меншим на 45,5%, а в печінці – на 47,6%, але зростав при коморбідному запаленні, залишаючись нижчим на 59,8 і 63,8%, відповідно, від такого у щурів з запаленням без метаболічних порушень. Експресія лептинових рецепторів зростала в легенях в 1,6 рази при впливі ВЖД і в 5,4 рази – при ЦД2. У тварин без метаболічних порушень ЛПС не впливав на експресію лептинових рецепторів, але при введенні ЛПС щурам з інсулінорезистентністю або ЦД2 експресія цих рецепторів у легенях редукувалася нижче рівня контролю. Ці зміни обумовлюють порушення лептинзалежної регуляції у легенях і меншою мірою, у печінці, при коморбідному перебігу запального процесу і метаболічних розладів.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Carey IM, Critchley JA, DeWilde S, Harris T, Hosking FJ, Cook DG. Risk of infection in type 1 and type 2 diabetes compared with the general population: a matched cohort study. *Diabetes Care*. 2018;41(3):513-521.
2. Karamanou M, Protogerou A, Tsoucalas G, Androutsos G, Poulakou-Rebelakou E (2016) Milestones in the history of diabetes mellitus: the main contributors. *World J Diabetes* 7:1–7. <https://doi.org/10.4239/wjd.v7.i1.1>
3. Koskela HO, Salonen PH, Romppanen J, Niskanen L. Long-term mortality after community-acquired pneumonia—impacts of diabetes and newly discovered hyperglycaemia: a prospective, observational cohort study. *BMJ Open*. 2014;4(8):e005715.
4. Popovic M, Blum CA, Nigro N, Mueller B, Schuetz P, Christ-Crain M. Benefit of adjunct corticosteroids for community-acquired pneumonia in diabetic patients. *Diabetologia*. 2016;59(12):2552-2560. doi: 10.1007/s00125-016-4091-4
5. Arias Fernández L, Pardo Seco J, Cebej-López M, et al. Differences between diabetic and non-diabetic patients with community-acquired pneumonia in primary care in Spain. *BMC Infect Dis*. 2019;19(1):973. doi: 10.1186/s12879-019-4534-x;
6. Wang S, Ma P, Zhang S, et al. Fasting blood glucose at admission is an independent predictor for 28-day mortality in patients with COVID-19 without previous diagnosis of diabetes: a multi-centre retrospective study. *Diabetologia*. 2020;63(10):2102-2111. doi: 10.1007/s00125-020-05209-1
7. Luo L, Liu M. Adipose tissue in control of metabolism. *The Journal of endocrinology*. 2016;231(3):77-99. <https://doi.org/10.1530/JOE-16-0211>;
8. Booth A, Magnuson A, Fouts J, Foster M. Adipose tissue, obesity and adipokines: role in cancer promotion. *Hormone molecular biology and clinical investigation*. 2015;21(1):57-74. <https://doi.org/10.1515/hmbci-2014-0037> ;
9. Gonzalez-Carter D, Goode AE, Fiammengo R, et al. Inhibition of leptin-ObR interaction does not prevent leptin translocation across a human blood-brain Barrier model. *Journal of Neuroendocrinology*. 2016;28(6). doi: 10.1111/jne.12392
10. Flier JS. Starvation in the midst of plenty: reflections on the history and biology of

- insulin and leptin. *Endocr Rev.* 2019;40(1):1-16. doi: 10.1210/er.2018-00179.
11. Gupta, A.; Beg, M.; Kumar, D.; Shankar, K.; Varshney, S.; Rajan, S.; Srivastava, A.; Singh, K.; Sonkar, S.; Mahdi, A.A.; et al. Chronic hyper-leptinemia induces insulin signaling disruption in adipocytes: Implications of NOS2. *Free Radic. Biol. Med.* 2017, 112, 93–108. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2017.07.016;
 12. D'Souza, A.M.; Asadi, A.; Johnson, J.D.; Covey, S.D.; Kieffer, T.J. Leptin Deficiency in Rats Results in Hyperinsulinemia and Impaired Glucose Homeostasis. *Endocrinology* 2014, 155, 1268–1279. DOI: 10.1210/en.2013-1523
 13. Martinez-Abundis E, Rajapurohitam V, Haist JV, Gan XT, Karmazyn M. The obesity-related peptide leptin sensitizes cardiac mitochondria to calcium-induced permeability transition pore opening and apoptosis. *PLoS One.* 2012;7(7):e41612. doi: 10.1371/journal.pone.0041612
 14. Chwalba A, Machura E, Ziora K, Ziora D. The role of adipokines in the pathogenesis and course of selected respiratory diseases. *Endokrynol Pol.* 2019;70(6):504-510. doi: 10.5603/EP.a2019.0051.
 15. Monteiro LB, Prodonoff JS, Favero de Aguiar C, Correa-da-Silva F, Castoldi A, Bakker NVT, Davanzo GG, Castelucci B, Pereira JADS, Curtis J, Büscher J, Reis LMD, Castro G, Ribeiro G, Virgílio-da-Silva JV, Adamoski D, Dias SMG, Consonni SR, Donato J, Pearce EJ, Câmara NOS, Moraes-Vieira PM. Leptin Signaling Suppression in Macrophages Improves Immunometabolic Outcomes in Obesity. *Diabetes.* 2022 Jul 1;71(7):1546-1561. doi: 10.2337/db21-0842.
 16. Pan HY, Lu XZ, Wang DX, Zeng Y, Zhong HB. [The investigation of the relationship between Leptin-insulin resistance and pulmonary function in patients with chronic obstructive pulmonary disease with acute exacerbation]. *Zhongguo Wei Zhong Bing Ji Jiu Yi Xue.* 2007 Sep;19(9):519-21.
 17. Alberti KG, Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ, Cleeman JI, Donato KA, et al. Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the international diabetes federation task force on epidemiology and prevention; National heart, lung, and blood institute; American heart association; World heart federation; International atherosclerosis society; And international association for the study of obesity.

- Circulation*. 2009 Oct 20;120(16):1640-5. PMID: 19805654. doi: [10.1161/CIRCULATIONAHA.109.192644](https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.109.192644)
18. Camus JP. Goutte, diabete, hyperlipemie: un trisyndrome metabolique [Gout, diabetes, hyperlipemia: a metabolic trisyndrome]. *Rev Rhum Mal Osteoartic*. 1966 Jan-Feb;33(1):10-4. [French].
 19. Mehnert H, Kuhlmann H. Hypertonie und Diabetes mellitus [Hypertension and diabetes mellitus]. *Deutsch Med J*. 1968 Aug 20;19(16):567-71.
 20. Reaven GM. Banting lecture: Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes*. 1988;37:1595-1607. doi: [10.2337/diab.37.12.1595](https://doi.org/10.2337/diab.37.12.1595)
 21. Kaplan NM. The deadly quartet: upper-body obesity, glucose intolerance, hypertriglyceridemia and hypertension. *Arch Intern Med*. 1989;149:1514-1520. PMID: 2662932. doi: [10.1001/archinte.149.7.1514](https://doi.org/10.1001/archinte.149.7.1514)
 22. Alberti KGMM, Zimmet P, Shaw J. Metabolic Syndrome- A New World-Wide Definition. A Consensus Statement from the International Diabetes Federation. *Diabetic Med*. 2006;23:469-480. PMID: 16681555. doi: [10.1111/j.1464-5491.2006.01858.x](https://doi.org/10.1111/j.1464-5491.2006.01858.x)
 23. Cameron AJ, Shaw JE, Zimmet PZ. The metabolic syndrome: prevalence in worldwide populations. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2004 Jun;33(2):351-75, table of contents. PMID: 15158523. doi: [10.1016/j.ecl.2004.03.005](https://doi.org/10.1016/j.ecl.2004.03.005)
 24. Алієв Р.Б. Епідеміологія метаболічного синдрому та концепції механізмів його розвитку. Український журнал медицини, біології та спорту – 2022 – Том 7, № 5 (39), с. 8-14. DOI: [10.26693/jmbs07.05.008](https://doi.org/10.26693/jmbs07.05.008)
 25. Chazova YE, Mychka VB. Osnovnye pryntsypy dyahnostyky y lechenyya metabolycheskoho syndroma [Basic principles of diagnosis and treatment of metabolic syndrome]. *Serditse*. 2005;4(5):232-235.
 26. Rosen ED, Spiegelman BM. Adipocytes as regulators of energy balance and glucose homeostasis. *Nature*. 2006;444(7121):847-853. PMID: 17167472. PMCID: PMC3212857. doi: [10.1038/nature05483](https://doi.org/10.1038/nature05483)
 27. Wajchenberg BL, Giannella-Neto D, da Silva ME, Santos RF. Depot-specific hormonal characteristics of subcutaneous and visceral adipose tissue and their relation to the metabolic syndrome. *Horm Metab Res*. 2002;34:616-621. PMID: 12660870. doi: [10.1007/s001250200000](https://doi.org/10.1007/s001250200000)

10.1055/s-2002-38256

28. Drapkina OM, Korneeva ON, Palatkina LO. Adipokiny i serdechno-sosudistye zablevaniya: patoheneticheskie paralleli i terapevticheskie perspektivy [Adipokines and cardiovascular diseases: pathogenic parallels and therapeutic perspectives]. *Arterialnaya Gipertenziya*. 2011;17(3):203-208.
29. Apovian CM, Gokce N. Obesity and cardiovascular disease. *Circulation*. 2012;125(9):1178-1182. PMID: 22392865. PMCID: PMC3693443. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.111.022541
30. International Diabetes Federation. Diabetes is spiralling out of control. Available from: <http://www.IDF.org>
31. Nemtsova VD. Sakharnyi diabet i vnezapnaya smert: reshennye i nereshennye voprosy [Diabetes mellitus and sudden death: resolved and unresolved issues]. *Svit meditsini ta biolohiyi*. 2015;2(50):206-211.
32. Meier M, Hummel M. Cardiovascular disease and intensive glucose control in type 2 diabetes mellitus: moving practice toward evidence-based strategies. *Vasc Health Risk Manag*. 2009;5:859-871. PMID: 19898642. PMCID: PMC2773745. doi: 10.2147/VHRM.S4808
33. Ceriello A, Esposito K, Piconi L, Ihnat MA, Thorpe JE, Testa R, et al. Oscillating glucose is more deleterious to endothelial function and oxidative stress than mean glucose in normal and type 2 diabetic patients. *Diabetes*. 2008 May;57(5):1349-54. PMID: 18299315. doi: 10.2337/db08-0063
34. Wallis RH, Wang K, Marandi L, Hsieh E, Ning T, Chao GY, et al. Type 1 diabetes in the BB rat: a polygenic disease. *Diabetes*. 2009 Apr;58(4):1007-17. PMID: 19168599. PMCID: PMC2661594. doi: 10.2337/db08-1215
35. American Diabetes Association. Classification and Diagnosis of Diabetes. *Diabetes Care*. 2017;40(Suppl 1):S11-S24. PMID: 27979889. doi: 10.2337/dc17-S005
36. Yun JE, Won S, Sung J, Jee SH. Impact of Metabolic Syndrome Independent of Insulin Resistance on the Development of Cardiovascular Disease. *Circ J*. 2012;76(10):2443-8. PMID: 22813750. doi: 10.1253/circj.CJ-12-0125
37. Ye J. Mechanisms of insulin resistance in obesity. *Front Med*. 2013;7(1):14-24.

- PMID: 23471659. PMCID: PMC3936017. doi: [10.1007/s11684-013-0262-6](https://doi.org/10.1007/s11684-013-0262-6)
38. Tkachuk VA, Vorotnikov AV. Molekulyarnye mekhanizmy razvitiya rezistentnosti k insulinu [Molecular Mechanisms of Insulin Resistance Development]. *Sakharnyi diabet.* 2014;17(2):29-40. [Russian]. doi: [10.14341/DM2014229-40](https://doi.org/10.14341/DM2014229-40)
 39. Mayorov AYu. Insulinorezistentnost v patoheneze sakharnoho diabeta 2 tipa. Voprosy patoheneza [Insulin resistance in the pathogenesis of type 2 diabetes]. *Sakharnyi diabet.* 2011;1: 35-43.
 40. Saini V. Molecular mechanisms of insulin resistance in type 2 diabetes mellitus. *World J Diabetes.* 2010;1(3):68-75. PMID: 21537430. PMCID: PMC3083885. doi: [10.4239/wjd.v1.i3.68](https://doi.org/10.4239/wjd.v1.i3.68)
 41. Youngren JF. Regulation of insulin receptor function. *Cell Mol Life Sci.* 2007;64(7-8):873-891. PMID: 17347799. doi: [10.1007/s00018-007-6359-9](https://doi.org/10.1007/s00018-007-6359-9)
 42. Jensen MD, Haymond MW, Rizza RA, Cryer PE, Miles JM. Influence of body fat distribution on free fatty acid metabolism in obesity. *J Clin Invest.* 1989 Apr;83(4):1168-73. PMID: 2649512. PMCID: PMC303803. doi: [10.1172/JCI113997](https://doi.org/10.1172/JCI113997)
 43. Reaven GM, Laws A. *Insulin Resistance: The Metabolic Syndrome X.* Springer Science & Business Media; 1999. p. 51-58.
 44. Bodnar PM, Kononenko LO, Kyriyenko DV, Kobylyak NM. Tsukrovyyi diabet iz monohennym typom uspadkuvannya: klinika, diahnostryka ta likuvannya (chastyna 2) [Diabetes mellitus with monogenic type of inheritance: clinic, diagnosis and treatment (part 2)]. *Endokrynologia.* 2015;20(2):533 -544. [Ukrainian]
 45. Wood IS, Trayhurn P. Glucose transporters (GLUT and SGLT): expanded families of sugar transport proteins. *Br J Nutr.* 2003;89:3-9. PMID: 12568659. doi: [10.1079/BJN2002763](https://doi.org/10.1079/BJN2002763)
 46. Watson RT, Pessin JE. Intracellular organization of insulin signaling and GLUT-4 translocation. *Recent Prog Horm Res.* 2001;56:175-193. PMID: 11237212. doi: [10.1210/rp.56.1.175](https://doi.org/10.1210/rp.56.1.175)
 47. Bae SS, Cho H, Mu J, Birnbaum MJ. Isoform-specific regulation of insulin-dependent glucose uptake by Akt / protein kinase B. *J Biol Chem.* 2003;278: 49530-49536. PMID: 14522993. doi: [10.1074/jbc.M306782200](https://doi.org/10.1074/jbc.M306782200)

48. Taylor SI, Moller DE. Mutations of the insulin receptor gene. In: *Insulin resistance*. Ed by DE. NY: Wiley; 1993. p. 83-123.
49. Cannon B, Nedergaard J. Brown Adipose Tissue: Function and Physiological Significance. *Physiol Rev*. 2004;84:277-359. doi: [10.1152/physrev.00015.2003](https://doi.org/10.1152/physrev.00015.2003)
50. Coppack SW. Pro-inflammatory cytokines and adipose tissue. *Proc Nutr Soc*. 2001 Aug;60(3):349-56. PMID: 11681809. doi: [10.1079/PNS2001110](https://doi.org/10.1079/PNS2001110)
51. Reilly MP, Rohatgi A, McMahon K, Wolfe ML, Pinto SC, Rhodes T, Girman C, et al. Plasma cytokines, metabolic syndrome, and atherosclerosis in humans. *J Investig Med*. 2007 Jan;55(1):26-35. PMID: 17441409. doi: [10.2310/6650.2007.06013](https://doi.org/10.2310/6650.2007.06013)
52. Winkler G, Cseh K. Molecular mechanisms and correlations of insulin resistance, obesity, and type 2 diabetes mellitus. *Orv Hetil*. 2009;150(17):771-780. PMID: 19362933. doi: [10.1556/oh.2009.28608](https://doi.org/10.1556/oh.2009.28608)
53. Cawthorn WP, Sethi JK. TNF-alpha and adipocyte biology. *FEBS Lett*. 2008;582(1):117-131. PMID: 18037376. PMCID: PMC4304634. doi: [10.1016/j.febslet.2007.11.051](https://doi.org/10.1016/j.febslet.2007.11.051)
54. Hansel B, P. Giral P, Nobecourt E, Chantepie S, Bruckert E, Chapman MJ, et al. Metabolic Syndrome Is Associated with Elevated Oxidative Stress and Dysfunctional Dense High-Density Lipoprotein Particles Displaying Impaired Antioxidative Activity. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004 Oct;89(10):4963-71. PMID: 15472192. doi: [10.1210/jc.2004-0305](https://doi.org/10.1210/jc.2004-0305)
55. Hotamisligil GS. Inflammation and metabolic disorders. *Nature*. 2006;444(7121):860-867. PMID: 17167474. doi: [10.1038/nature05485](https://doi.org/10.1038/nature05485)
56. Bastard JP, Maachi M, Van Nhieu JT, Jardel C, Bruckert E, Grimaldi A, et al. Epididymal adipose tissue IL-6 content correlates with resistance to insulin activation of glucose uptake both in vivo and in vitro. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002 May;87(5):2084-9. PMID: 11994345. doi: [10.1210/jcem.87.5.8450](https://doi.org/10.1210/jcem.87.5.8450)
57. Bays H, Mandarino L, DeFronzo RA. Role of adipocytes, FFA, and ectopic fat in the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus: PPAR agonists provide a rational therapeutic approach. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004 Feb;89(2):463-78. PMID: 14764748. doi: [10.1210/jc.2003-030723](https://doi.org/10.1210/jc.2003-030723)

58. Stephens JM, Lee J, Pilch PF. Tumor Necrosis Factor- α -induced Insulin Resistance in 3T3-L1 Adipocytes Is Accompanied by a Loss of Insulin Receptor Substrate-1 and GLUT4 Expression without a Loss of Insulin Receptor-mediated Signal Transduction. *J Biol Chem*. 1997;272(2):971-976. PMID: 8995390. doi: [10.1074/jbc.272.2.971](https://doi.org/10.1074/jbc.272.2.971)
59. Noronha IL, Niemir Z, Stein H, Waldherr R. Cytokines and growth factors in renal disease. *Nephrol Dial Transplant*. 1995;10(6):775-786.
60. Ruan H, Lodisch HF. Insulin resistance in adipose tissue: direct and indirect effects of tumor necrosis factor- α . *Cytokine Growth Factor Rev*. 2003;14(5):447-455. doi: [10.1016/S1359-6101\(03\)00052-2](https://doi.org/10.1016/S1359-6101(03)00052-2)
61. De Alvaro C, Teruel T, Hernandez R, Lorenzo M. Tumor necrosis factor α produced insulin resistance in skeletal muscle by activation of inhibitor κ B-kinase in a p38 MARK dependent manner. *J Biol Chem*. 2004;279(17):17070-17078. PMID: 14764603. doi: [10.1074/jbc.M312021200](https://doi.org/10.1074/jbc.M312021200)
62. Moller DE. Potential role of TNF- α in the pathogenesis of insulin resistance and type 2 diabetes. *Trends Endocrinol Metab*. 2000;11(6):212-217. doi: [10.1016/S1043-2760\(00\)00272-1](https://doi.org/10.1016/S1043-2760(00)00272-1)
63. Lo J, Bernstein LE, Canavan B, Torriani M, Jackson MB, Ahima RS, et al. Effects of TNF- α neutralization on adipocytokines and skeletal muscle adiposity in the metabolic syndrome. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2007 Jul;293(1):E102-9. PMID: 17374698. PMCID: PMC3196534. doi: [10.1152/ajpendo.00089.2007](https://doi.org/10.1152/ajpendo.00089.2007)
64. Monroy A, Kamath S, Chavez AO, Centonze VE, Veerasamy M, Barrentine A, et al. Impaired regulation of the TNF- α converting enzyme/tissue inhibitor of metalloproteinase 3 proteolytic system in skeletal muscle of obese type 2 diabetic patients: a new mechanism of insulin resistance in humans. *Diabetologia*. 2009;52(10):2169-2181. PMID: 19633828. PMCID: PMC2845986. doi: [10.1007/s00125-009-1451-3](https://doi.org/10.1007/s00125-009-1451-3)
65. Belousova ON, Sirotina SS, Yakunchenko TI, Zhernakova NI. Molekulyarnye i geneticheskie mekhanizmy patogeneza sakharnoho diabeta 2 tipa [Molecular and genetic mechanisms of the pathogenesis of type 2 diabetes]. *Nauchnye vedomosti Belhorodskoho gosudarstvennogo universiteta*. 2015;16(213):12-19.

66. Formoso G, Taraborrelli M, Guagnano MT, D'Adamo M, Di Pietro N, Tartaro A, et al. Magnetic resonance imaging determined visceral fat reduction associates with enhanced Il-10 plasma levels in calorie restricted obese subjects. *PLoS One*. 2012;7(12):52. PMID: 23300769. PMCID: PMC3530499. doi: [10.1371/journal.pone.0052774](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0052774)
67. Al-Dokhi LM. Adipokines and etiopathology of metabolic disorders. *Saudi Med J*. 2009; 30(9):1123-32.
68. Pedersen BK, Febbraio MA. Interleukin-6 does have a beneficial role in insulin sensitivity and glucose homeostasis. *J Appl Physiol*. 2007;102(2):814-819. doi: [10.1152/jappphysiol.01208.2006](https://doi.org/10.1152/jappphysiol.01208.2006)
69. Choi K.M. The Impact of Organokines on Insulin Resistance, Inflammation, and Atherosclerosis // *Endocrinol. Metab.* (Seoul). 2016;31(1):1-6. doi: [10.3803/EnM.2016.31.1.1](https://doi.org/10.3803/EnM.2016.31.1.1)
70. Hsieh C.J., Wang P.W., Chen T.Y. The relationship between regional abdominal fat distribution and both insulin resistance and subclinical chronic inflammation in non-diabetic adults // *Diabetol. Metab. Syndr*. 2014;6(1):49. doi: [10.1186/1758-5996-6-49](https://doi.org/10.1186/1758-5996-6-49)
71. Seven E. Overweight, hypertension and cardiovascular disease: focus on adipocytokines, insulin, weight changes and natriuretic peptides // *Dan. Med. J*. 2015;62(11):5163.
72. Giralt M, Cereijo R, Villarroya F. Adipokines and the endocrine role of adipose tissues. *Handbook of Experimental Pharmacology*. 2016;233:265-82. doi: [10.1007/164_2015_6](https://doi.org/10.1007/164_2015_6)
73. Parimisetty A, Dorsemans AC, Awada R, Ravanan P, Diotel N, Lefebvre d'Hellencourt C. Secret talk between adipose tissue and central nervous system via secreted factors-an emerging frontier in the neurodegenerative research. *Journal of Neuroinflammation*. 2016;13(1):67. doi:[10.1186/s12974-016-0530-x](https://doi.org/10.1186/s12974-016-0530-x)
74. Fasshauer M, Bluher M. Adipokines in health and disease. *Trends in Pharmacological Sciences*. 2015 36(7):461-470. doi: [10.1016/j.tips.2015.04.014](https://doi.org/10.1016/j.tips.2015.04.014)
75. Bostrom P, Wu J, Jedrychowski MP, Korde A, Ye L, Lo JC, Rasbach KA, Bostrom EA, Choi JH, Long JZ, et al. A PGC1-alpha-dependent myokine that drives brown-fat-

- like development of white fat and thermogenesis. *Nature*. 2012;481(7382):463-468. doi: 10.1038/nature10777
76. Harms M, Seale P. Brown and beige fat: development, function and therapeutic potential. *Nat Med*. 2013;19(10):1252-1263. doi: 10.1038/nm.3361. Epub 2013 Sep 29.
77. Hotamisligil GS. Inflammation, metaflammation and immunometabolic disorders. *Nature*. 2017;542(7640):177-185. doi:10.1038/nature21363
78. Li P, Liu S, Lu M, Bandyopadhyay G, Oh D, Imamura T, Johnson AM, Sears D, Shen Z, Cui B, et al. Hematopoietic-derived galectin-3 causes cellular and systemic insulin resistance. *Cell*. 2016; 167(4):973-984.e12
doi:10.1016/j.cell.2016.10.025
79. Ying W, Riopel M, Bandyopadhyay G, Dong Y, Birmingham A, Seo JB, Ofrecio JM, Wollam J, Hernandez-Carretero A, Fu W, et al. Adipose tissue macrophage-derived exosomal miRNAs can modulate in vivo and in vitro insulin sensitivity. *Cell*. 2017; 171(2):372-384.e12. doi:10.1016/j.cell.2017.08.035
80. Jakubzick CV, Randolph GJ, Henson PM. Monocyte differentiation and antigen-presenting functions. *Nat Rev Immunol*. 2017;17:349–362. doi:10.1038/nri.2017.28
81. Koelwyn GJ, Corr EM, Erbay E, Moore KJ. Regulation of macrophage immunometabolism in atherosclerosis. *Nat Immunol*. 2018;19:526–537. doi:10.1038/s41590-018-0113-3
82. Li P, Oh DY, Bandyopadhyay G, Lagakos WS, Talukdar S, Osborn O, Johnson A, Chung H, Maris M, Ofrecio JM, et al. LTB4 promotes insulin resistance in obese mice by acting on macrophages, hepatocytes and myocytes. *Nat Med*. 2015; 21:239–247. doi:10.1038/nm.3800
83. Amano SU, Cohen JL, Vangala P, Tencerova M, Nicoloro SM, Yawe JC, Shen Y, Czech MP, Aouadi M. Local proliferation of macrophages contributes to obesity-associated adipose tissue inflammation. *Cell Metab*.2014;19:162-171. doi: 10.1016/j.cmet.2013.11.017
84. Алієв Р.Б. Особливості ендокринної активності адипозної тканини при метаболічних розладах. Вісник медичних і біологічних досліджень – 2023 - №1(15), с. 26-32. DOI:10.11603/bmbr.2706-6290.2023.1.13323

85. Zhao W, Wu C, Li S, Chen X. Adiponectin protects palmitic acid induced endothelial inflammation and insulin resistance via regulating ROS/IKK β pathways. *Cytokine*. 2016; 88:167–176. doi: [10.1016/j.cyto.2016.09.005](https://doi.org/10.1016/j.cyto.2016.09.005)
86. El Husseny MW, Mamdouh M, Shaban S, et al. Adipokines: potential therapeutic targets for vascular dysfunction in type II diabetes mellitus and obesity. *J. Diabetes Res*. 2017(6):1-11 doi: [10.1155/2017/8095926](https://doi.org/10.1155/2017/8095926)
87. Ramanjaneya M, Chen J, Brown JE, et al. Identification of nesfatin-1 in human and murine adipose tissue: a novel depot-specific adipokine with increased levels in obesity. *Endocrinology*. 2014;15(7):3169–80. doi: [10.1210/en.2009-1358](https://doi.org/10.1210/en.2009-1358)
88. Marques-Vidal P, Schmid R, Bochud M, Bastardot F, Känel R, Paccaud F, Glaus J. et al. Adipocytokines, hepatic and inflammatory biomarkers and incidence of type 2 diabetes. The CoLaus study. *PLoS One*. 2012;7(12):e51768. doi: [10.1371/journal.pone.0051768](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0051768)
89. Daniele G, Guardaro Mendoza R, Winner D, Fiorentino T, Pengou Z, Cornell J, Andreozzi F, et al. The inflammatory status score including IL-6, TNF- α , osteopontin, fractalkine, MCP-1 and adiponectin underlies wholebody insulin resistance and hyperglycemia in type 2 diabetes mellitus. *Acta Diabetol*. 2014; 51(1):123-31. doi: [10.1007/s00592-013-0543-1](https://doi.org/10.1007/s00592-013-0543-1)
90. Tateya S, Kim F, Tamori Y. Recent advances in obesity-induced inflammation and insulin resistance. *Frontiers in endocrinology*. 2013; 4:1-14. doi: [10.3389/fendo.2013.00093](https://doi.org/10.3389/fendo.2013.00093)
91. Mu ZP, Wang YG, Li CQ, et al. Association between Tumor Necrosis Factor- α and diabetic peripheral neuropathy in patients with type 2 diabetes: a meta-analysis. *Neurobiol*. 2016;54(2):983-996. doi: [10.1007/s12035-016-9702-z](https://doi.org/10.1007/s12035-016-9702-z)
92. Liu C, Feng X, Li Q, et al. Adiponectin, TNF- α and inflammatory cytokines and risk of type 2 diabetes: A systematic review and meta-analysis. *Cytokine*. 2016; 86:100-109. doi: [10.1016/j.cyto.2016.06.028](https://doi.org/10.1016/j.cyto.2016.06.028)
93. Oh KJ, Lee DS, Kim WK, Han BS, Lee SC, Bae KH. Metabolic adaptation in obesity and type II diabetes: myokines, adipokines and hepatokines. *Int. J. Mol. Sci*. 2016; 18(1):8. doi: [10.3390/ijms18010008](https://doi.org/10.3390/ijms18010008)

94. Дедов И.И. Ожирение и нарушения липидного обмена: монография. М.: МИА, 2011. С. 53–57.
95. Tsai M, Asakawa A, Amitani H, Inui A. Stimulation of Leptin Secretion by Insulin. *Indian J Endocrinol Metab.* 2012;16:543–548.
doi: 10.4103/2230-8210.105570
96. Banks WA. Role of the blood-brain barrier in the evolution of feeding and cognition. *Annals of the New York Academy of Sciences.* 2012; 1264:13–19. doi: 10.1111/j.1749-6632.2012.06568.x
97. Peelman F, Zabeau L, Moharana K, et al. 20 years of leptin: Insights into signaling assemblies of the leptin receptor. *Journal of Endocrinology.* 2014;223(1): 9-23. doi: <https://doi.org/10.1530/JOE-14-0264>
98. Мунцберг Х., Моррисон К.Д. Структура, производство и передача сигналов лептина. *Метаболизм.* 2015; 64(1):13-23. doi: 10.1016/j.metabol.2014.09.010.
99. Ahima, R. S., Prabakaran, D., Mantzoros, C., Qu, D., Lowell, B., Maratos-Flier, E., & Flier, J. S. Role of leptin in the neuroendocrine response to fasting. *Nature.* 1996;382(6588):250-2. doi: 10.1038/382250a0
100. Baranowska-Bik A, Bik W, Styczynska M, Chodakowska-Zebrowska M, Barcikowska M, Wolinska-Witort E, Kalisz M, Martynska L. Plasma leptin levels and free leptin index in women with Alzheimer's disease. *Neuropeptides.* 2015;52:73-78. doi: 10.1016/j.npep.2015.05.006
101. Dornbush S, Aeddula NR. Physiology, Leptin. In: StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. 2021
102. Romanova IV, Derkach KV, Mikhrina AL, Sukhov IB, Mikhailova EV, Shpakov AO. The leptin, dopamine and serotonin receptors in hypothalamic POMC-neurons of normal and obese rodents. *Neurochemical Research.* 2018;43(4):821-837. <https://doi.org/10.1007/s11064-018-2485-z>.
103. Munzberg H, Morrison C. Structure, production and signaling of leptin. *Metabolism: Clinical and Experimental.* 2015;64(1):13-23. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2014.09.010>

104. Shpakov AO. The brain leptin signaling system and its functional state in metabolic syndrome and type 2 diabetes mellitus. *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*. 2016;52(3):161-176. <https://doi.org/10.1134/S0022093016030017>
105. Lau WB, Ohashi K, Wang Y, Ogawa H, Murohara T, Ma XL, Ouchi N. Role of adipokines in cardiovascular disease. *Circulation Journal: Official Journal of the Japanese Circulation Society*. 2017;81(7):920-928. <https://doi.org/10.1253/circj.CJ-17-0458>
106. Wauman J, Zabeau L, Tavernier J. The leptin receptor complex: heavier than expected? *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2017; 8:30. doi: 10.3389/fendo.2017.00030
107. Farr OM, Gavrieli A, Mantzoros CS. Leptin Applications in 2015: What Have We Learned About Leptin and Obesity? *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*. 2015;22:353–9. doi: 10.1097/MED.0000000000000184
108. Martinez-Abundis E, Rajapurohitam V, Gertler A, Karmazyn M. Identification of functional leptin receptors expressed in ventricular mitochondria. *Mol Cell Biochem*. 2015 Oct;408(1-2):155-62. doi: 10.1007/s11010-015-2491-2.
109. McClelland GB, Kraft CS, Michaud D, Russell JC, Mueller CR, Moyes CD. Leptin and the control of respiratory gene expression in muscle. *Biochim Biophys Acta*. 2004 Jan 20;1688(1):86-93. doi: 10.1016/j.bbadis.2003.10.006.
110. Geloneze B, De Lima-Junior JC, Velloso LA. Glucagon-like peptide-1 receptor agonists (GLP-1ras) in the brain-adipocyte axis. *Drugs*. 2017;77(5):493-503. doi:10.1007/s40265-017-0706-4
111. Zhang Z. Y., Dodd G. T., & Tiganis T. Protein tyrosine phosphatases in hypothalamic insulin and leptin signaling. *Trends in pharmacological sciences*. 2015 36(10):661-674. doi: 10.1016/j.tips.2015.07.003
112. Fruhwürth S, Vogel H, Schürmann A, Williams KJ. Novel Insights Into How Overnutrition Disrupts the Hypothalamic Actions of Leptin. *Front Endocrinol*. 2018; 9:89. doi: 10.3389/fendo.2018.00089
113. Frank S, Heni M, Moss A, et al. Long-term stabilization effects of leptin on brain functions in a leptin-deficient patient. *PloS One*. 2013;8(6):e65893. doi: 10.1371/journal.pone.0065893

114. Matarese G, La Rocca C, Moon HS, et al. Selective capacity of metreleptin administration to reconstitute CD4⁺ T-cell number in females with acquired hypoleptinemia. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2013;110:E818-827. doi: 10.1073/pnas.1214554110
115. Thomas S, Kratzsch D, Schaab M, Scholz M, Grunewald S, Thiery J, Paasch U, Kratzsch J. Seminal plasma adipokine levels are correlated with functional characteristics of spermatozoa. *Fertility and Sterility*. 2013;99(5):1256-1263. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2012.12.022>
116. Ahrens K, Mumford SL, Schliep KC, Kissell KA, Perkins NJ, Wactawski-Wende J, Schisterman EF. Serum leptin levels and reproductive function during the menstrual cycle. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 2014;210(3):248.e1-9. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2013.11.009>
117. Bilbao MG, Di Yorio MP, Faletti AG. Different levels of leptin regulate different target enzymes involved in progesterone synthesis. *Fertility and Sterility*. 2013;99(5):1460-1466. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2012.12.014>
118. Di Yorio MP, Bilbao MG, Biagini-Majorel AM, Faletti AG. Ovarian signalling pathways regulated by leptin during the ovulatory process. *Reproduction*. 2013;146(6):647-658. <https://doi.org/10.1530/REP-13-0257>
119. Myers MG, Cowley MA, Münzberg H. Mechanisms of Leptin Action and Leptin Resistance. *Annual Review of Physiology*. 2008; 70(1):537-556. doi: 10.1146/annurev.physiol.70.113006.100707
120. Боева, Л. Н. Лептин и адипонектин натощак и после глюкозной нагрузки у женщин с гипертиреозом / Л. Н. Боева, М. В. Екимова, С. А. Догадин // Сибирское медицинское обозрение. – 2012. – № 1 (73). – С. 11.
121. Campbell JE, Drucker DJ. Islet α cells and glucagon–critical regulators of energy homeostasis. *Nat Rev Endocrinol*. 2015;11(6):329-338. doi: 10.1038/nrendo.2015.51
122. Guo K, McMinn JE, Ludwig T, et al. Disruption of peripheral leptin signaling in mice results in hyperleptinemia without associated metabolic abnormalities. *Endocrinology*. 2007;148(8):3987-3997. doi: 10.1210/en.2007-0261
123. Metlakunta A, Huang W, Stefanovic-Racic M, Dedousis N, Sipula I, O’Doherty

- RM. Kupffer cells facilitate the acute effects of leptin on hepatic lipid metabolism. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2017;312(1):11-18. doi: [10.1152/ajpendo.00250.2016](https://doi.org/10.1152/ajpendo.00250.2016)
124. Denroche HC, Kwon MM, Quong WL, et al. Leptin induces fasting hypoglycaemia in a mouse model of diabetes through the depletion of glycerol. *Diabetologia.* 2015;58(5):1100-1108.
doi: [10.1007/s00125-015-3529-4](https://doi.org/10.1007/s00125-015-3529-4)
125. Bolze F, Bast A, Mocek S, et al. Treatment of diet-induced lipodystrophic C57BL/6J mice with long-acting PASylated leptin normalises insulin sensitivity and hepatic steatosis by promoting lipid utilization. *Diabetologia.* 2016;59(9):2005-2012. doi: [10.1007/s00125-016-4004-6](https://doi.org/10.1007/s00125-016-4004-6)
126. La Cava A. Proinflammatory activities of leptin in non-autoimmune conditions. *Inflamm Allergy Drug Targets.* 2012; 11:298–302. doi: [10.2174/187152812800959031](https://doi.org/10.2174/187152812800959031)
127. Kiernan K, MacIver NJ. The Role of the Adipokine Leptin in Immune Cell Function in Health and Disease. *Front Immunol.* 2021; 11:622468 doi: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.622468>
128. Amarilyo G, Iikuni N, Shi FD, Liu A, Matarese G, La Cava A. Leptin promotes lupus T-cell autoimmunity. *Clin Immunol.* 2013; 149:530–533. doi: [10.1016/j.clim.2013.09.002](https://doi.org/10.1016/j.clim.2013.09.002)
129. Aliiev R. (2022) Current concepts of leptin-mediated regulation of metabolism. *Bulletin of problems in biology and medicine.* 2022 – Issue 4 (167), p. 9-15. DOI: [10.29254/2077-4214-2022-4-167-9-15](https://doi.org/10.29254/2077-4214-2022-4-167-9-15)
130. Tahergorabi Z, Khazaei M. Leptin and its cardiovascular effects: Focus on angiogenesis. *Adv Biomed Res.* 2015;4:79. doi: <https://doi.org/10.4103/2277-9175.156526>
131. Hutcheson J. Adipokines influence the inflammatory balance in autoimmunity. *Cytokine.* 2015; 75:272–279. doi:[10.1016/j.cyto.2015.04.004](https://doi.org/10.1016/j.cyto.2015.04.004)
132. Iacobellis G, Diaz S, Mendez A, Goldberg R. Increased epicardial fat and plasma leptin in type 1 diabetes independently of obesity. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2014; 24:72572–9. doi: [10.1016/j.numecd.2013.11.001](https://doi.org/10.1016/j.numecd.2013.11.001)
133. Вербовой А.Ф., Митрошина Е.В. Адипокины и сердечно-сосудистая система.

- Эндокринология. Новости, мнения, обучение. 2014;2; 5-7 [In Russ.]
<http://dx.doi.org/10.18821/0023-2149-2017-95-1-31-35>
134. Kengne AP, Limen SN, Sobngwi E, et al. Metabolic syndrome in type 2 diabetes: comparative prevalence according to two sets of diagnostic criteria in sub-Saharan Africans. *Diabetol Metab Syndr*. 2012;4(1):22. doi: 10.1186/1758-5996-4-22
135. Santolero D, Titchenell PM. Resolving the paradox of hepatic insulin resistance. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*. 2019;7(22):447–456. doi: 10.1016/j.jcmgh.2018.10.016
136. Moonishaa TM, Nanda SK, Shamraj M, et al. Evaluation of leptin as a marker of insulin resistance in type 2 diabetes mellitus. *Int J Appl Basic Med Res*. 2017;7(3):176-180. doi: [10.4103/ijabmr.IJABMR_278_16](https://doi.org/10.4103/ijabmr.IJABMR_278_16)
137. Kumar R, Mal K, Razaq MK, et al. Association of leptin with obesity and insulin resistance. *Cureus*. 2020;12(12):e12178. doi: [10.7759/cureus.12178](https://doi.org/10.7759/cureus.12178)
138. Farooqi IS, O’Rahilly S. 20 years of leptin: human disorders of leptin action. *Journal of Endocrinology*. 2014;223(1):63-70. doi: [10.1530/JOE-14-0480](https://doi.org/10.1530/JOE-14-0480)
139. Fischer-Posovszky P, Funcke JB, Wabitsch M. Biologically inactive leptin and early-onset extreme obesity. *New England Journal of Medicine*. 2015;372(1):48-54. doi: [10.1056/NEJMoa1406653](https://doi.org/10.1056/NEJMoa1406653)
140. Mainardi M, Pizzorusso T, Maffei M. Environment, leptin sensitivity, and hypothalamic plasticity. *Neural plasticity*. 2013;8. doi: [10.1155/2013/438072](https://doi.org/10.1155/2013/438072)
141. Zhang Y, Ren J. Leptin and Obesity. *Obesity*. 2016;45-58. doi: [10.1007/978-3-319-19821-7_4](https://doi.org/10.1007/978-3-319-19821-7_4)
142. Philbrick KA, Wong CP, Branscum AJ, et al. Leptin stimulates bone formation in ob/ob mice at doses having minimal impact on energy metabolism. *Journal of Endocrinology*. 2017;232(3):461- 474. doi: 10.1530/JOE-16-0484
143. Ravussin Y, LeDuc CA, Watanabe K, et al. Effects of chronic leptin infusion on subsequent body weight and composition in mice: Can body weight set point be reset? *Molecular metabolism*. 2014;3(4):432-440. doi: 10.1016/j.molmet.2014.02.003
144. Schaab M, Kratzsch J. The soluble leptin receptor. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2015;29(5):661-670. doi: 10.1016/j.beem.2015.08.002

145. Das P, Bhattacharjee D, Bandyopadhyay SK, Bhattacharya G, Singh R. Association of obesity and leptin with insulin resistance in type 2 diabetes mellitus in Indian population. *Indian J Physiol Pharmacol* 2013;57:45-50.
146. McNeely MJ, Boyko EJ, Weigle DS, Shofer JB, Chessler SD, Leonetti DL, et al. Association between baseline plasma leptin levels and subsequent development of diabetes in Japanese Americans. *Diabetes Care* 1999; 22:65-70. doi: 10.2337/diacare.22.1.65.
147. Weipeng D., Haixia W., Man X. Characteristics of pathogens of pulmonary infection and its correlation with inflammatory factors and pulmonary function in patients with type 2 diabetes mellitus. *Chinese Journal of Pathogenic Biology* . 2021;16(1):90–93. <https://doi.org/10.1155/2023/9808563>
148. Ting L., Z. Yayang, and W. Jiangang, “Effects of different inhaled oxygen concentrations on perioperative pulmonary function in patients with diabetes mellitus complicated with microangiopathy,” *Chinese Journal of Modern Surgery*, 2020;24(6): 447–452. doi: [10.1155/2022/4492574](https://doi.org/10.1155/2022/4492574)
149. Rubino F, Amiel SA, Zimmet P, Alberti G, Bornstein S, Eckel RH, Mingrone G, Boehm B, Cooper ME, Chai Z. Newonset diabetes in Covid-19. *N Engl J Med*. 2020; 383(8):789–790. doi: 10.1056/NEJMc2018688
150. Mahrooz A, Muscogiuri G, Buzzetti R, Maddaloni E. The complex combination of COVID-19 and diabetes: pleiotropic changes in glucose metabolism. *Endocrine*. 2021;72(2):317–325. doi: 10.1007/s12020-021-02729-7
151. Montefusco L, Nasr MB, D’Addio F, Loretelli C, Rossi A, Pastore I, Daniele G, Abdelsalam A, Maestroni A, Dell’Acqua M. Acute and long-term disruption of glycometabolic control after SARS-CoV-2 infection. *Nat Metab*. 2021(6):774-785. doi: 10.1038/s42255-021-00407-6
152. Li H, Tian S, Chen T, Cui Z, Shi N, Zhong X, et al. Newly diagnosed diabetes is associated with a higher risk of mortality than known diabetes in hospitalized patients with COVID-19. *Diabetes Obes Metab* (2020) 22(10):1897–906. doi: 10.1111/dom.14099
153. Kumar A, Arora A, Sharma P, Anikhindi SA, Bansal N, Singla V, et al. Is diabetes

- mellitus associated with mortality and severity of COVID-19? a metaanalysis. *Diabetes Metab Syndr* (2020) 14(4):535–45. doi: 10.1016/j.dsx.2020.04.044
154. Kolahian S, Leiss V, Nürnberg B. Diabetic lung disease: fact or fiction? *Rev Endocr Metab Disord*. 2019;20(3):303–319. doi: 10.1007/s11154-019-09516-w
155. Khateeb J, Fuchs E, Khamaisi M. Diabetes and lung disease: a neglected relationship. *Rev Diabet Stud*. 2019;15:1-15. doi: 10.1900/RDS.2019.15.1
156. Brufsky A. Hyperglycemia, hydroxychloroquine, and the COVID-19 pandemic. *J Med Virol*. 2020;92:770-775. doi: 10.1002/jmv.25887
157. Prestes, T.R.R.; Rocha, N.P.; Miranda, A.S.; Teixeira, A.L.; Simoes-E-Silva, A.C. The Anti-Inflammatory Potential of ACE2/Angiotensin-(1-7)/Mas Receptor Axis: Evidence from Basic and Clinical Research. *Curr. Drug Targets* 2017, 18, 1301–1313 doi: 10.2174/1389450117666160727142401
158. Hayden, M.R. Endothelial activation and dysfunction in metabolic syndrome, type 2 diabetes and coronavirus disease 2019. *J. Int. Med. Res.* 2020, 48 doi: 10.1177/0300060520939746
159. Reiterer M, Rajan M, Gomez-Banoy N, Lau JD, Gomez-Escobar LG, Gilani A, Alvarez-Mullet S, Sholle ET, Chandar V, Bram Y (2021) Hyperglycemia in acute COVID-19 is characterized by adipose tissue dysfunction and insulin resistance. medRxiv. doi: 10.1101/2021.03.21.21254072
160. Shanmugasundaram K, Bade G, Sampath M, Talwar A. Effect of Obesity on Airway Mechanics. *Indian J Endocrinol Metab*. 2023 Mar-Apr;27(2):161-166. doi: 10.4103/ijem.ijem_363_22.
161. Qi Y, Wu Z, Chen D, Zhu L, Yang Y. A role of STING signaling in obesity-induced lung inflammation. *Int J Obes (Lond)*. 2023 Apr;47(4):325-334. doi: 10.1038/s41366-023-01272-x.
162. Mancuso P. Obesity and lung inflammation. *J Appl Physiol* (1985). 2010 Mar;108(3):722-8. doi: 10.1152/jappphysiol.00781.2009.
163. Percie du Sert N, Hurst V, Ahluwalia A, Alam S, Avey MT, Baker M, Browne WJ, Clark A, Cuthill IC, Dirnagl U, Emerson M, Garner P, Holgate ST, Howells DW, Karp NA, Lazic SE, Lidster K, MacCallum CJ, Macleod M, Pearl EJ, Petersen OH, Rawle F,

- Reynolds P, Rooney K, Sena ES, Silberberg SD, Steckler T, Würbel H. The ARRIVE guidelines 2.0: Updated guidelines for reporting animal research. *PLoS Biol.* 2020 Jul 14;18(7):e3000410. doi: 10.1371/journal.pbio.3000410.
164. American Diabetes Association. 2. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes-2020. *Diabetes Care.* 2020 Jan;43(Suppl 1):S14-S31. doi: 10.2337/dc20-S002.
165. Mansor LS, Gonzalez ER, Cole MA, Tyler DJ, Beeson JH, Clarke K, Carr CA, Heather LC. Cardiac metabolism in a new rat model of type 2 diabetes using high-fat diet with low dose streptozotocin. *Cardiovasc Diabetol.* 2013 Sep 24;12:136.
166. Furuya DT, Binsack R, Machado UF. Low ethanol consumption increases insulin sensitivity in Wistar rats. *Braz J Med Biol Res.* 2003 Jan;36(1):125-30.
167. Sacks DB, Arnold M, Bakris GL, Bruns DE, Horvath AR, Kirkman MS, Lernmark A, Metzger BE, Nathan DM; National Academy of Clinical Biochemistry; Evidence-Based Laboratory Medicine Committee of the American Association for Clinical Chemistry. Guidelines and recommendations for laboratory analysis in the diagnosis and management of diabetes mellitus. *Diabetes Care.* 2011 Jun;34(6):e61-99. doi: 10.2337/dc11-9998.
168. Philis-Tsimikas A, Chang A, Miller L. Precision, accuracy, and user acceptance of the OneTouch SelectSimple blood glucose monitoring system. *J Diabetes Sci Technol.* 2011 Nov 1;5(6):1602-9. doi: 10.1177/193229681100500638.
169. International Organization for Standardization. *In vitro* diagnostic test systems—requirements for blood-glucose monitoring systems for self-testing in managing diabetes mellitus. ISO International Standard 15197:2003(E)
170. Portnychenko AG, Vasylenko MI, Aliiev RB, Kozlovska MG, Zavorodnii MO, Tsapenko PK, Rozova KV, Portnichenko VI. The prerequisites for the development of type 2 diabetes or prediabetes in rats fed a high-fat diet. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 2023, 14(1), 16-22. <https://doi.org/10.15421/022303>
171. Philis-Tsimikas A, Chang A, Miller L. Precision, accuracy, and user acceptance of the OneTouch SelectSimple blood glucose monitoring system. *J Diabetes Sci Technol.* 2011 Nov 1;5(6):1602-9. doi: 10.1177/193229681100500638.

172. Blaurock MG, Kallner A, Menzel S, Masuch A, Nauck M, Petersmann A. Impact of Glucose Measuring Systems and Sample Type on Diagnosis Rates of Diabetes Mellitus. *Diabetes Ther.* 2018 Oct;9(5):2029-2041. doi: 10.1007/s13300-018-0495-0.
173. Саакян І.Р., Саакян С.Г., Кондрашова М.Н. Активація та інгібування сукцинатзалежного транспорту кальцію в мітохондріях печінки при розвитку адаптаційних реакцій. *Біохімія*, 2001; 66(7):976-984.
174. Buege J., Aust S. Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol.* 1978. 52:302-308.
175. Chance B, Williams GR. Respiratory enzymes in oxidative phosphorylation. I. Kinetics of oxygen utilization. *J Biol Chem.* 1955 Nov;217(1):383-93.
176. Estabrook R.W. Mitochondrial respiratory control and the polarographic measurement of ADP:O ratios *Methods Enzymol.* 1967; 10:41-47.
177. Kawaji N, Yoshida A, Motoyashiki T, Morita T, Ueki H. Anti-leptin receptor antibody mimics the stimulation of lipolysis induced by leptin in isolated mouse fat pads. *J Lipid Res.* 2001 Oct;42(10):1671-7.
178. Карупу В.Я. Електронна мікроскопія / В.Я. Карупу. – К.: Вища школа, 1984. – 208 с.
179. Reynolds ES. THE USE OF LEAD CITRATE AT HIGH pH AS AN ELECTRON-OPAQUE STAIN IN ELECTRON MICROSCOPY . *J Cell Biol* 1 April 1963; 17 (1): 208–212. doi: <https://doi.org/10.1083/jcb.17.1.208>
180. Tașcă C. Introducere în morfologia cantitativă cito-histologică. Editura Academiei Române, București, 1976.
181. American Diabetes Association. 2. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes-2020. *Diabetes Care.* 2020 Jan;43(Suppl 1):S14-S31. doi: 10.2337/dc20-S002.
182. Цапенко П. К., Василенко М. І., Алієв Р. Б., Завгородній М. О., Козловська М. Г., Топчанюк Л. Я., Сидоренко А. М. Братусь Л. В., Бакуновський О. М., Портніченко В. І., Портніченко А. Г. Вплив високожирової дієти на розвиток інсулінорезистентності та метаболічного синдрому у щурів *Укр. журн. мед. біол. спорт.* – 2020 – Том 5, № 3 (25) 441-444. DOI: 10.26693/jmbs05.03.441

183. Aliiev R.B., Kozlovska M.G., Tsapenko P.K., Zavgorodnii M.O., Shapovalova A.S., Vasylenko M.I., Rozova K.V., Portnychenko A.G. Respiratory and metabolic peculiarities of LPS-induced inflammation on background of type 2 diabetes. IV scientific and practical conference of students and young scientists with international participation «FROM EXPERIMENTAL AND CLINICAL PATHOPHYSIOLOGY TO THE ACHIEVEMENTS OF MODERN MEDICINE AND PHARMACY» May 19, 2022 KHARKIV. – X.: Вид-во НФаУ, 2022. С.19.
184. Алієв Р, Формування інсулінорезистентності у перебігу запалення при метаболічних розладах. 83-й Всеукраїнський науковий медичний конгрес студентів та молодих вчених «Медицина ХХІ сторіччя» (з міжнародною участю) присвяченого 91-й річниці Донецького національного медичного університету та 91-й річниці студентського наукового товариства імені професора М. Д. Довгялло. Лиман, Україна, 18-19 листопада 2021 сторінки
185. Алієв Р.Б., Василенко М.І., Носар В.І., Портніченко В.І., Цапенко П.К., Шаповалова А.С., Розова К.В., Портниченко А.Г. Особливості перебігу ЛПС-індукованого запалення на тлі діабету 2 типу. Перші читання, присвячені Д.О.Альперну «Актуальні питання патологічної фізіології»: матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції (до 150-річчя кафедри загальної та клінічної патофізіології ім. Д.О.Альперна). Харків, 26 березня 2021 р. Харків: ХНМУ, 2021. С. 33-34.
186. Цапенко П.К., Портніченко В.І., Василенко М.І., Носар В.І., Гончар О.О., Розова К.В., Сидоренко А.М., Завгородній М.О., Бабічева В.В., Алієв Р.Б., Портниченко А.Г. Порухення зовнішнього дихання та енергетичного обміну при ЛПС-індукованому запаленні у щурів. Матер. ХХ-го з'їзду Укр. фізіол. товариства ім. П.Г. Костюка з міжнар. участю, присв. 95-річчю з дня нар. акад. П.Г. Костюка. Київ, 27-30 травня 2019 р. Фізіол. журн. 2019; 65, №3 (дод):106.
187. Алієв Р.Б., Розова К.В., Козловська М.Г., Василенко М.І., Дубова М.Г., Шаповалова А.С., Портниченко А.Г. Морфологічні передумови метаболічних порушень при коморбідному перебігу запального процесу в легенях та цукрового діабету 2 типу у щурів. Туберкульоз, легеневі хвороби, ВІЛ-інфекція, 2023, №4,

26-36. DOI: 10.30978/TB-2023-4-26.

188. Алієв Р.Б., Носар В.І., Розова К.В., Портниченко А.Г. Структурні та метаболічні порушення при коморбідному перебігу запального процесу в легенях на тлі інсулінорезистентності та цукрового діабету 2 типу Всеукраїнська науково-практична конференція молодих учених «Медична наука – 2023» Полтава 1 грудня 2023 р.
189. Portnychenko A., Aliiev R., Abuwatfa S., Kozlovska M., Shapovalova A., Topchanyuk L., Gonchar O., Vasylenko M., Nosar V., Rozova K., Zhukovska A. Mechanisms of the comorbid course of the inflammatory process and type 2 diabetes and possibilities of hypoxic correction. XXII–і читання ім. В. В. Підвисоцького: Бюл. матер. наук. конф. (18-19 травня 2023 року). Одеса: УкрНДІ медицини транспорту, 2023. С.15-16.
190. Portnychenko A., Aliiev R., A. Zhukovska, M. Zavorodnii, M. Kozlovska, L. Topchanyuk, A. Shapovalova, M. Vasylenko, V. Nosar, K. Rozova, V. Portnichenko. Features and mechanisms of acute lung injury development on the background of type 2 diabetes: the role of hypoxia 16th International Conference “Advances in Pneumology”. Berlin, Germany, December 8-10, 2022, ab4743_1.
191. Портниченко А.Г., Василенко М.І., Гончар О.О., Жуковська А.С., Портніченко В.І., Розова К.В., Цапенко П.К., Алієв Р.Б., Завгородній М.О., Козловська М.Г., Топчанюк Л.Я. Нові механізми патогенезу метаболічних розладів та їх особливості при коморбідному перебігу з запальним процесом у легенях. Матер. Пленуму Укр. наук. тов. патофізіологів “Особливості науково-педагогічного процесу в період пандемії COVID-19”. Тернопіль, 15–17 вересня 2022 р. Тернопіль, 2022. С. 67-68.
192. Алієв Р.Б., Василенко М.І., Носар В.І., Портніченко В.І., Цапенко П.К., Шаповалова А.С., Розова К.В., Портниченко А.Г. Особливості перебігу ЛПС-індукованого запалення на тлі діабету 2 типу. Перші читання, присвячені Д.О.Альперну «Актуальні питання патологічної фізіології»: матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції (до 150-річчя кафедри загальної та клінічної патофізіології ім. Д.О.Альперна). Харків, 26 березня 2021 р. Харків:

- ХНМУ, 2021. С. 33-34.
193. Portnychenko A., **Aliiev R.**, M. Kozlovska, L. Topchanyuk, S. Abuwatfa, M. Zavorodnii, A. Zhukovska, M. Vasylenko, V. Nosar, K. Rozova. Pneumonia course on the background of type 2 diabetes associates with disorders of energy metabolism and leptin regulation 17th International Conference “Advances in Pneumology”. Vienna, Austria, 3-5 November 2023. Ab5027_1.
194. Aliiev R, Kozlovska M, Vasylenko MI, Rozova KV, Nosar VI, Portnychenko AG. Type 2 Diabetes Aggravates Metabolic and Regulatory Disturbances under Comorbid LPS-Induced Acute Lung Injury 8th Annual Summit on Cardiovascular, Renal and Glycemic Outcomes - The Virtual CVOT Summit 2022, Munich, Germany, 10-11 Nov 2022. P 30 Diabetes, Metabolism, and the Heart 2022; 31:26-27. https://www.researchgate.net/publication/368464213_CVOT_Summit_2022_abstracts
195. Алієв Р.Б., Василенко М.І., Завгородній М.О., Козловська М.Г., Носар В.І., Портниченко А.Г. Лептинзалежна регуляція функції мітохондрій при цукровому діабеті 2 типу та запаленні. Матер. XIII наук.-практ. конф. «Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм», Тернопіль, 26-28 жовтня 2022 р. С.2.
196. Алієв Р.Б., Носар В.І., Розова К.В., Василенко М.І., Цапенко П.К., Сидоренко А.М., Завгородній М.О., Братусь Л.В., Портниченко А.Г. Енергетичний метаболізм при ЛПС-індукованому запаленні на тлі діабету 2 типу. Матер. наук.-практ. конф. з міжнар. участю «Галицькі читання: Сучасні уявлення щодо патогенезу запалення: місцеві та системні механізми». Івано-Франківськ, 19-20 вересня 2019 р. С.3.
197. Портниченко А.Г., Гончар О.О., Розова К.В., Василенко М.І., Цапенко П.К., Алієв Р.Б., Сидоренко А.М., Завгородній М.О. Оксидативні та метаболічні порушення при пошкодженні легень щурів ендотоксином та їх корекція. Матер. наук.-практ. конф. з міжнар. участю «Галицькі читання: Сучасні уявлення щодо патогенезу запалення: місцеві та системні механізми». Івано-Франківськ, 19-20 вересня 2019 р. С. 49-50.
198. Алієв Р.Б., Козловська М.Г., Василенко М.І., Портниченко А.Г. Зміни експресії

- лептинових рецепторів при коморбідному перебігу запального процесу і цукрового діабету 2 типу. Матер. V наук.-практ. конф. студентів та молодих вчених з міжнар. участю «Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації», Харків, 18 травня 2023 р. Х. : НФаУ, 2023. С. 60-61.
199. Reed MJ, Meszaros K, Entes LJ, Claypool MD, Pinkett JG, Gadbois TM, Reaven GM. A new rat model of type 2 diabetes: the fat-fed, streptozotocin-treated rat. *Metabolism*. 2000 Nov;49(11):1390-4.
200. Srinivasan K, Viswanad B, Asrat L, Kaul CL, Ramarao P. Combination of high-fat diet-fed and low-dose streptozotocin-treated rat: a model for type 2 diabetes and pharmacological screening. *Pharmacol Res*. 2005 Oct;52(4):313-20.
201. Kolesnyk Yu.M., Ivanenko T.V., Abramov .V., Kuzo N.V. Current methods of the modeling of experimental diabetes mellitus type 2: a literature review. *Патологія*. 2016;36(1):10–4.
202. Wang B, Li Y, Liu X, et al. Effect of the duration of high-fat diet and the dosage of streptozotocin on establishing experimental animal model of type 2 diabetes mellitus. *Wei Sheng Yan Jiu*. 2011 Jan;40(1):99-102, 106.
203. Chen H, Bai C, Wang X. The value of the lipopolysaccharide-induced acute lung injury model in respiratory medicine. *Expert Rev Respir Med*. 2010 Dec;4(6):773-83.
204. Weipeng D., Haixia W., Man X. Characteristics of pathogens of pulmonary infection and its correlation with inflammatory factors and pulmonary function in patients with type 2 diabetes mellitus. *Chinese Journal of Pathogenic Biology* . 2021;16(1):90–93. <https://doi.org/10.1155/2023/9808563>
205. Liu Y, Zhou J, Luo Y, Li J, Shang L, Zhou F, Yang S. Honokiol alleviates LPS-induced acute lung injury by inhibiting NLRP3 inflammasome-mediated pyroptosis via Nrf2 activation in vitro and in vivo. *Chin Med*. 2021 Nov 29;16(1):127.
206. Tian Z, Wu E, You J, et al. Dynamic alterations in the lung microbiota in a rat model of lipopolysaccharide-induced acute lung injury. *Sci Rep*. 2022 Mar 21;12(1):4791.
207. Liu MM, Zhou J, Ji D, et al. Diammonium glycyrrhizinate lipid ligand ameliorates lipopolysaccharide-induced acute lung injury by modulating vascular endothelial barrier

- function. *Exp Ther Med*. 2021 Apr;21(4):303.
208. Цапенко П.К., Василенко М.І., Гончар О.О., Розова К.В., Сидоренко А.М., Завгородній М.О., Портніченко В.І., Портніченко А.Г. Антитоксичний та гіпоглікемічний ефекти субстанції Палигорськиту у щурів. *Патологія, реабілітація, адаптація*. 2018, 16(4): 73-81.
209. Rajpal A, Rahimi L, Ismail-Beigi F. Factors leading to high morbidity and mortality of COVID-19 in patients with type 2 diabetes. *J Diabetes*. 2020 Dec;12(12):895-908
210. Akimov, O. Y., Mykytenko, A. O., Mischenko, A. V., Kostenko, V. O. Influence of bacterial lipopolysaccharide on the degradation of the components of the extracellular matrix of rat biceps femoris muscle during high fructose diet-induced metabolic syndrome. *Fiziologichnyi Zhurnal*, 2023;. 69(3): 99-106.
211. Bosch M, Parton RG, Pol A. Lipid droplets, bioenergetic fluxes, and metabolic flexibility. *Semin Cell Dev Biol*. 2020 Dec;108:33-46. doi: 10.1016/j.semcdb.2020.02.010.
212. Schönfeld P, Wojtczak L. Short- and medium-chain fatty acids in energy metabolism: the cellular perspective. *J Lipid Res*. 2016 Jun;57(6):943-54. doi: 10.1194/jlr.R067629.
213. Adeva-Andany MM, Carneiro-Freire N, Seco-Filgueira M, Fernández-Fernández C, Mouriño-Bayolo D. Mitochondrial β -oxidation of saturated fatty acids in humans. *Mitochondrion*. 2019 May;46:73-90. doi: 10.1016/j.mito.2018.02.009.
214. Kleinridders A, Ferris HA, Tovar S. Editorial: Crosstalk of Mitochondria With Brain Insulin and Leptin Signaling. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2018 Dec 14;9:761. doi: 10.3389/fendo.2018.00761.
215. Kantroo V, Atreja A, Bhattacharya S, Shaikh S, Kalra S. The diabetic lung. *J Pak Med Assoc*. 2023 Jan;73(1):191-192. doi: [10.47391/JPMA.03-23](https://doi.org/10.47391/JPMA.03-23)
216. Tiengo A, Fadini GP, Avogaro A. The metabolic syndrome, diabetes and lung dysfunction. *Diabetes Metab*. 2008 Nov;34(5):447-54. doi: [10.1016/j.diabet.2008.08.001](https://doi.org/10.1016/j.diabet.2008.08.001)
217. Fan W. Epidemiology in diabetes mellitus and cardiovascular disease. *Cardiovasc Endocrinol*. 2017;6(1):8–16. doi: [10.1097/XCE.0000000000000116](https://doi.org/10.1097/XCE.0000000000000116)

218. Ferguson M, Vel J, Phan V, Ali R, Mabe L, Cherner A, Doan T, Manakatt B, Jose M, Powell AR, McKinney K, Serag H, Sallam HS. Coronavirus Disease 2019, Diabetes, and Inflammation: A Systemic Review. *Metab Syndr Relat Disord*. 2023 May;21(4):177-187. doi: [10.1089/met.2022.0090](https://doi.org/10.1089/met.2022.0090)
219. Lim S, Bae JH, Kwon HS, Nauck MA. COVID-19 and diabetes mellitus: from pathophysiology to clinical management. *Nat Rev Endocrinol*. 2021 Jan;17(1):11-30. doi: [10.1038/s41574-020-00435-4](https://doi.org/10.1038/s41574-020-00435-4)
220. Mahrooz A, Muscogiuri G, Buzzetti R, Maddaloni E. The complex combination of COVID-19 and diabetes: pleiotropic changes in glucose metabolism. *Endocrine* (2021) 72(2):317–25. doi: [10.1007/s12020-021-02729-7](https://doi.org/10.1007/s12020-021-02729-7)
221. Pugliese G, Vitale M, Resi V, Orsi E. Is diabetes mellitus a risk factor for COroNaVirus disease 19 (COVID-19)? *Acta Diabetol* (2020) 57(11):1275–85. doi: [10.1007/s00592-020-01586-6](https://doi.org/10.1007/s00592-020-01586-6)
222. Burslem R, Gottesman K, Newkirk M, Ziegler J. Energy requirements for critically ill patients with COVID-19. *Nutr Clin Pract*. 2022 Jun;37(3):594-604. doi: [10.1002/ncp.10852](https://doi.org/10.1002/ncp.10852)
223. Мохорт МА, Серединська НМ, Киричок ЛМ, Тюпка ТІ, Розова КВ, Портниченко ВІ, Назаренко АІ, Маньковська ІМ, Середенко ММ. Фармакологічна корекція зовнішнього дихання в умовах експериментальної пневмонії. *Український пульмонологічний журнал*. 2008, № 1. С. 61-65.
224. Ribeiro A, Almeida VI, Costola-de-Souza C, Ferraz-de-Paula V, Pinheiro ML, Vitoretti LB, Gimenes-Junior JA, Akamine AT, Crippa JA, Tavares-de-Lima W, Palermo-Neto J. Cannabidiol improves lung function and inflammation in mice submitted to LPS-induced acute lung injury. *Immunopharmacol Immunotoxicol*. 2015;37(1):35-41.
225. Suryavanshi SV, Zaiachuk M, Pryimak N, Kovalchuk I, Kovalchuk O. Cannabinoids Alleviate the LPS-Induced Cytokine Storm via Attenuating NLRP3 Inflammasome Signaling and TYK2-Mediated STAT3 Signaling Pathways In Vitro. *Cells*. 2022 Apr 20;11(9):1391. doi: [10.3390/cells11091391](https://doi.org/10.3390/cells11091391)
226. Farghali H, Kemelo MK, Canová NK. SIRT1 Modulators in Experimentally Induced

- Liver Injury. *Oxid Med Cell Longev*. 2019 Jun 2;2019:8765954. doi: 10.1155/2019/8765954.
227. Kara A, Ozkanlar S. Blockade of P2X7 receptor-mediated purinergic signaling with A438079 protects against LPS-induced liver injury in rats. *J Biochem Mol Toxicol*. 2023 Oct;37(10):e23443. doi: 10.1002/jbt.23443.
228. Khan HU, Aamir K, Jusuf PR, Sethi G, Sisinthy SP, Ghildyal R, Arya A. Lauric acid ameliorates lipopolysaccharide (LPS)-induced liver inflammation by mediating TLR4/MyD88 pathway in Sprague Dawley (SD) rats. *Life Sci*. 2021 Jan 15;265:118750. doi: 10.1016/j.lfs.2020.118750.
229. Liu J, Du S, Kong Q, Zhang X, Jiang S, Cao X, Li Y, Li C, Chen H, Ding Z, Liu L. HSPA12A attenuates lipopolysaccharide-induced liver injury through inhibiting caspase-11-mediated hepatocyte pyroptosis via PGC-1 α -dependent acyl-coylase expression. *Cell Death Differ*. 2020 Sep;27(9):2651-2667. doi: 10.1038/s41418-020-0536-x.
230. Piao L, Choi J, Kwon G, Ha H. Endogenous catalase delays high-fat diet-induced liver injury in mice. *Korean J Physiol Pharmacol*. 2017 May;21(3):317-325. doi: 10.4196/kjpp.2017.21.3.317.
231. Frenkel Yu. D., V. S. Chernov, V. O. Zyuzin, V. V. Pshychenko, I. I. Starchenko, V. O. Kostenko, A. P. Stepanchuk. Pathomorphological state of liver tissues in rats with experimental metabolic syndrome with quercetin correction . *Світ медицини та біології*. 2023. № 1 (83). P. 243–247.
232. Armstrong JS. Measurement of reactive oxygen species in cells and mitochondria J.S. Armstrong, M. Whiteman. *Methods Cell. Biol*. 2007. V. 80, N 3. P. 355-377.
233. Mohsin M, Tabassum G, Ahmad S, Ali S, Ali Syed M. The role of mitophagy in pulmonary sepsis. *Mitochondrion*. 2021 Jul;59:63-75. doi: [10.1016/j.mito.2021.04.009](https://doi.org/10.1016/j.mito.2021.04.009)
234. Jo EK, Kim JK, Shin DM, Sasakawa C. Molecular mechanisms regulating NLRP3 inflammasome activation. *Cell Mol Immunol* (2016) 13(2):148–59. doi: [10.1038/cmi.2015.95](https://doi.org/10.1038/cmi.2015.95)
235. Belaidi E, Tubbs E, Chauvin MA, et al. Disruption of calcium transfer from ER to mitochondria links alterations of mitochondria-associated ER membrane integrity to

- hepatic insulin resistance. *Diabetologia* (2016) 59(3):614–23. doi: [10.1007/s00125-015-3829-8](https://doi.org/10.1007/s00125-015-3829-8)
236. Alfarouk KO, Alhoufie STS, Hifny A, Schwartz L, Alqahtani AS, Ahmed SBM, Alqahtani AM, Alqahtani SS, Muddathir AK, Ali H, Bashir AHH, Ibrahim ME, Greco MR, Cardone RA, Harguindey S, Reshkin SJ. Of mitochondrion and COVID-19. *J Enzyme Inhib Med Chem*. 2021 Dec;36(1):1258-1267. doi: [10.1080/14756366.2021.2017911](https://doi.org/10.1080/14756366.2021.2017911)
237. Cheng H, Gang X, He G, Liu Y, Wang Y, Zhao X, Wang G. The Molecular Mechanisms Underlying Mitochondria-Associated Endoplasmic Reticulum Membrane-Induced Insulin Resistance. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2020 Nov 23;11:592129. doi: [10.3389/fendo.2020.592129](https://doi.org/10.3389/fendo.2020.592129)
238. Rieusset J, Fauconnier J, Paillard M, Belaidi E, Tubbs E, Chauvin MA, et al. Disruption of calcium transfer from ER to mitochondria links alterations of mitochondria-associated ER membrane integrity to hepatic insulin resistance. *Diabetologia* (2016) 59(3):614–23. doi: [10.1007/s00125-015-3829-8](https://doi.org/10.1007/s00125-015-3829-8)
239. Nissen, P., J. Hansen, N. Ban, P.B. Moore, and T.A. Steitz. 2000. The structural basis of ribosome activity in peptide bond synthesis. *Science*. 11;289(5481):920-30. doi: [10.1126/science.289.5481.920](https://doi.org/10.1126/science.289.5481.920)
240. Bezditko T, Yeryomenko G. Features of carbohydrate metabolism in asthma patients with obesity. *Med. perspekt.* [Internet]. 2022Mar.30 [cited 2023Dec.15];27(1):92-6. <https://doi.org/10.26641/2307-0404.2022.1.254359>
241. Kumor-Kisielewska A, Kierszniewska-Stępień D, Pietras T, Kroczyńska-Bednarek J, Kurmanowska Z, Antczak A, Górski P. Assessment of leptin and resistin levels in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Pol Arch Med Wewn*. 2013;123(5):215-20.
242. Радченко, О. М.; Пилипів, Л. І. Лептин крові та функція зовнішнього дихання у хворих на хронічне обструктивне захворювання легень. *Буковинський медичний вісник*, 2017, 21, № 1: 164-166.
243. Pan HY, Lu XZ, Wang DX, Zeng Y, Zhong HB. [The investigation of the relationship between Leptin-insulin resistance and pulmonary function in patients with chronic

- obstructive pulmonary disease with acute exacerbation]. *Zhongguo Wei Zhong Bing Ji Jiu Yi Xue*. 2007 Sep;19(9):519-21.
244. Komarytsia OYo, Pylypiv LI, Radchenko OM. Peculiarities of Metabolism and Cardiac Electrical Activity in Patients with Chronic Obstructive Pulmonary Disease and Coronary Heart Disease in the Presence of Metabolically-Associated Liver Steatosis. *Туберкульоз, легеневі хвороби, ВІЛ інфекція*. 2023;4:10- 15. doi: 10.30978/TB-2023-4-10.
245. Man'kovs'kyi BM, Urbanovych AM. [The blood leptin and the activity of the system inflammatory response in patients with diabetes mellitus type 2 with different body weight and disease duration]. *Fiziol Zh (1994)*. 2014;60(4):56-60. <https://doi.org/10.15407/fz60.04.056>
246. Ravussin Y, LeDuc CA, Watanabe K, et al. Effects of chronic leptin infusion on subsequent body weight and composition in mice: Can body weight set point be reset? *Molecular metabolism*. 2014;3(4):432-440. doi: 10.1016/j.molmet.2014.02.003
247. Schaab M, Kratzsch J. The soluble leptin receptor. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2015;29(5):661-670. doi: 10.1016/j.beem.2015.08.002
248. Faggioni R, Fantuzzi G, Gabay C, Moser A, Dinarello CA, Feingold KR, Grunfeld C. Leptin deficiency enhances sensitivity to endotoxin-induced lethality. *Am J Physiol*. 1999 Jan;276(1):R136-42. doi: 10.1152/ajpregu.1999.276.1.R136.
249. Minokoshi Y, Kim YB, Peroni OD, Fryer LG, Müller C, Carling D, Kahn BB. Leptin stimulates fatty-acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase. *Nature*. 2002 Jan 17;415(6869):339-43. doi: 10.1038/415339a.
250. Monteiro LB, Prodonoff JS, Favero de Aguiar C, Correa-da-Silva F, Castoldi A, Bakker NVT, Davanzo GG, Castelucci B, Pereira JADS, Curtis J, Büscher J, Reis LMD, Castro G, Ribeiro G, Virgílio-da-Silva JV, Adamoski D, Dias SMG, Consonni SR, Donato J, Pearce EJ, Câmara NOS, Moraes-Vieira PM. Leptin Signaling Suppression in Macrophages Improves Immunometabolic Outcomes in Obesity. *Diabetes*. 2022 Jul 1;71(7):1546-1561. doi: 10.2337/db21-0842.
251. Ghadge AA, Khaire AA. Leptin as a predictive marker for metabolic syndrome. *Cytokine*. 2019 Sep;121:154735. doi: 10.1016/j.cyto.2019.154735.

252. Liu Z, Xiao T, Liu H. Leptin signaling and its central role in energy homeostasis. *Front Neurosci.* 2023 Oct 31;17:1238528. doi: 10.3389/fnins.2023.1238528.
253. Kleinridders A, Ferris HA, Tovar S. Editorial: Crosstalk of Mitochondria With Brain Insulin and Leptin Signaling. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2018 Dec 14;9:761. doi: 10.3389/fendo.2018.00761.
254. Yoshino S, Satoh T, Yamada M, Hashimoto K, Tomaru T, Katano-Toki A, Kakizaki S, Okada S, Shimizu H, Ozawa A, Tuchiya T, Ikota H, Nakazato Y, Mori M, Matozaki T, Sasaki T, Kitamura T, Mori M. Protection against high-fat diet-induced obesity in *Helz2*-deficient male mice due to enhanced expression of hepatic leptin receptor. *Endocrinology.* 2014 Sep;155(9):3459-72. doi: 10.1210/en.2013-2160.
255. Bravo-Sagua R, Parra V, López-Crisosto C, Díaz P, Quest AF, Lavandero S. Calcium Transport and Signaling in Mitochondria. *Compr Physiol.* 2017 Mar 16;7(2):623-634. doi: 10.1002/cphy.c160013.
256. Biczko G, Vegh ET, Shalbueva N, Mareninova OA, Elperin J, Lotshaw E, Gretler S, Lugea A, Malla SR, Dawson D, Ruchala P, Whitelegge J, French SW, Wen L, Husain SZ, Gorelick FS, Hegyi P, Rakonczay Z Jr, Gukovsky I, Gukovskaya AS. Mitochondrial Dysfunction, Through Impaired Autophagy, Leads to Endoplasmic Reticulum Stress, Deregulated Lipid Metabolism, and Pancreatitis in Animal Models. *Gastroenterology.* 2018 Feb;154(3):689-703. doi: 10.1053/j.gastro.2017.10.012.
257. Saini V. Molecular mechanisms of insulin resistance in type 2 diabetes mellitus. *World J Diabetes.* 2010;1(3):68-75. PMID: 21537430. PMCID: PMC3083885. doi: [10.4239/wjd.v1.i3.68](https://doi.org/10.4239/wjd.v1.i3.68)
258. Youngren JF. Regulation of insulin receptor function. *Cell Mol Life Sci.* 2007;64(7-8):873-891. PMID: 17347799. doi: [10.1007/s00018-007-6359-9](https://doi.org/10.1007/s00018-007-6359-9)
259. Jensen MD, Haymond MW, Rizza RA, Cryer PE, Miles JM. Influence of body fat distribution on free fatty acid metabolism in obesity. *J Clin Invest.* 1989 Apr;83(4):1168-73. PMID: 2649512. PMCID: PMC303803. doi: [10.1172/JCI113997](https://doi.org/10.1172/JCI113997)
260. Chen NG, Swick AG, Romsos DR. Leptin constrains acetylcholine-induced insulin secretion from pancreatic islets of *ob/ob* mice. *J Clin Invest.* 1997 Sep 1;100(5):1174-9. doi: 10.1172/JCI119629.

261. White DW, Kuropatwinski KK, Devos R, Baumann H, Tartaglia LA. Leptin receptor (OB-R) signaling. Cytoplasmic domain mutational analysis and evidence for receptor homo-oligomerization. *J Biol Chem.* 1997 Feb 14;272(7):4065-71. doi: 10.1074/jbc.272.7.4065. 6
262. Bhatti JS, Bhatti GK, Reddy PH. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in metabolic disorders - A step towards mitochondria based therapeutic strategies. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis.* 2017 May;1863(5):1066-1077. doi: 10.1016/j.bbadis.2016.11.010.
263. Berzabá-Evoli E, Zazueta C, Cruz Hernández JH, Gómez-Crisóstomo NP, Juárez-Rojop IE, De la Cruz-Hernández EN, Martínez-Abundis E. Leptin Modifies the Rat Heart Performance Associated with Mitochondrial Dysfunction Independently of Its Prohypertrophic Effects. *Int J Endocrinol.* 2018 Aug 1;2018:6081415. doi: 10.1155/2018/6081415.
264. Kawaji N, Yoshida A, Motoyashiki T, Morita T, Ueki H. Anti-leptin receptor antibody mimics the stimulation of lipolysis induced by leptin in isolated mouse fat pads. *J Lipid Res.* 2001 Oct;42(10):1671-7
265. Shimabukuro M, Koyama K, Chen G, Wang MY, Trieu F, Lee Y, Newgard CB, Unger RH. Direct antidiabetic effect of leptin through triglyceride depletion of tissues. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1997 Apr 29;94(9):4637-41. doi: 10.1073/pnas.94.9.4637.
266. Nason SR, Kim T, Antipenko JP, Finan B, DiMarchi R, Hunter CS, Habegger KM. Glucagon-Receptor Signaling Reverses Hepatic Steatosis Independent of Leptin Receptor Expression. *Endocrinology.* 2020 Jan 1;161(1):bqz013. doi: 10.1210/endocr/bqz013.

ДОДАТКИ

ДОДАТОК А

Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації

1. Цапенко П, Василенко М, **Алієв Р**, Завгородній М, Козловська М, Топчанюк Л, Сидоренко А, Братусь Л, Бакуновський О, Портніченко В, Портниченко А, (2020) *Вплив високожирової дієти на розвиток інсулінорезистентності та метаболічного синдрому у щурів*. Український журнал медицини, біології та спорту. 2020 – Том 5, № 3 (25), с. 441-444. DOI: [10.26693/jmbs05.03.441](https://doi.org/10.26693/jmbs05.03.441)
2. **Aliiev R.** (2022) *Current concepts of leptin-mediated regulation of metabolism*. Bulletin of problems in biology and medicine. 2022 – Issue 4 (167), p. 9-15. DOI: [10.29254/2077-4214-2022-4-167-9-15](https://doi.org/10.29254/2077-4214-2022-4-167-9-15)
3. Portnychenko A, Vasylenko M, **Aliiev R**, Kozlovska M, Zavhorodnii M, Tsapenko P, Rozova K, Portnichenko V. (2023) *The prerequisites for the development of type 2 diabetes or prediabetes in rats fed a high-fat diet*. Regulatory Mechanisms in Biosystems. 2023, 14 (1), pp. 16–22. DOI: [10.15421/022303](https://doi.org/10.15421/022303) (Web of Science, Scopus)
4. **Алієв РБ**, Розова КВ, Козловська МГ, Василенко МІ, Дубова МГ, Шаповалова АС, Портниченко АГ. (2023) *Морфологічні передумови метаболічних порушень при коморбідному перебігу запального процесу в легенях та цукрового діабету 2 типу у щурів*. Туберкульоз, легеневі хвороби, ВІЛ-інфекція. 2023, № 4 (55): 54-64. DOI: [10.30978/TB-2023-4-26](https://doi.org/10.30978/TB-2023-4-26) (Scopus)

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

5. **Алієв Р**, Носар В, Розова К, Василенко М, Цапенко П, Сидоренко А, Завгородній М, Братусь Л, Портниченко А. *Енергетичний метаболізм при ЛПС-індукованному запаленні на тлі діабету 2 типу*. Науково-практична конференція з міжнародною участю Галицькі читання «Сучасні уявлення щодо патогенезу запалення: місцеві та системні механізми» Івано-Франківськ, 19-20 вересня 2019 р. С. 3.
6. Портниченко А, Гончар О, Розова К, Василенко М, Цапенко П, **Алієв Р**,

Сидоренко А, Завгородній М. *Оксидативні та метаболічні порушення при пошкодженні легень щурів бактеріальним ендотоксином та їх корекція*. Науково-практична конференція з міжнародною участю Галицькі читання «Сучасні уявлення щодо патогенезу запалення: місцеві та системні механізми» Івано-Франківськ, 19-20 вересня 2019 р. С. 49-50.

7. Цапенко П, Портніченко В, Василенко М, Носар В, Гончар О, Розова К, Сидоренко А, Завгородній М, Бабічева В, **Алієв Р**, Портніченко А. *Порушення зовнішнього дихання та енергетичного обміну при ЛПС-індукованому запаленні у щурів*. Матеріали XX-го з'їзду Українського фізіологічного товариства ім. П.Г. Костюка з міжнародною участю, присвяченого 95-річчю з дня народження академіка П.Г. Костюка. Київ, 27-30 травня 2019 р. Фізіологічний журнал. 2019; 65, №3 (дод). С. 108.

8. **Алієв Р**. *Формування інсулінорезистентності у перебігу запалення при метаболічних розладах*. 83-ій Всеукраїнський науковий медичний конгрес студентів та молодих вчених «Медицина XXI сторіччя» (з міжнародною участю) присвячений 91-й річниці Донецького національного медичного університету та 91-й річниці студентського наукового товариства імені професора М. Д. Довгялло. Лиман, Україна, 18-19 листопада 2021. С.22-23.

9. **Алієв Р**, Василенко М, Носар В, Портніченко В, Цапенко П, Шаповалова А, Розова К, Портніченко А. *Особливості перебігу ЛПС-індукованого запалення на тлі цукрового діабету 2 типу*. Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції: «Актуальні питання патологічної фізіології» (до 150-річчя кафедри загальної та клінічної патофізіології імені Д.О.Альперна) Харків, 26 березня 2021 р. Харків: ХНМУ, 2021. С. 33-34.

10. **Aliiev R**, Kozlovska M, Tsapenko P, Zavgorodnii M, Shapovalova A, Vasylenko M, Rozova K, Portnychenko A. *Respiratory and metabolic peculiarities of LPS-induced inflammation on background of type 2 diabetes*. IV scientific and practical conference of students and young scientists with international participation «From experimental and clinical pathophysiology to the achievements of modern medicine and pharmacy» Kharkiv, Ukraine, May 19, 2022. Харків: Вид-во НФаУ, 2022. С.19.

11. **Алієв Р**, Василенко М, Завгородній М, Козловська М, Носар В, Портниченко А. *Лептинзалежна регуляція функції мітохондрій при цукровому діабеті 2 типу та запаленні*. Матеріали XIII Всеукраїнської науково-практичної конференції «Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм» Тернопіль, Україна, 26-28 жовтня 2022 р. Тернопіль, 2022. С.2.
12. **Aliiev R**, Kozlovska M, Vasylenko M, Rozova K, Nosar V, Portnychenko A. *Type 2 Diabetes Aggravates Metabolic and Regulatory Disturbances under Comorbid LPS-Induced Acute Lung Injury*. 8th Annual Summit on Cardiovascular, Renal and Glycemic Outcomes – The Virtual CVOT Summit 2022, Munich, Germany, 10-11 Nov 2022. P. 30 *Diabetes, Metabolism, and the Heart* 2022; 31:26-27.
13. Portnychenko A, **Aliiev R**, Zhukovska A, Zavorodnii M, Kozlovska M, Topchanyuk L, Shapovalova A, Vasylenko M, Nosar V, Rozova K, Portnichenko V. *Features and mechanisms of acute lung injury development on the background of type 2 diabetes: the role of hypoxia*. 16th International Conference “Advances in Pneumology”. Berlin, Germany, December 8-10, 2022, ab4743_1.
14. Портниченко А, Василенко М, Гончар О, Жуковська А, Портніченко В, Розова К, Цапенко П, **Алієв Р**, Завгородній М, Козловська М, Топчанюк Л. *Нові механізми патогенезу метаболічних розладів та їх особливості при коморбідному перебігу з запальним процесом у легенях*. Матеріали Пленуму українського наукового товариства патофізіологів. Тернопіль, 15–17 вересня 2022 р. Тернопіль, 2022. С. 67-68.
15. **Алієв Р.Б.**, Козловська М.Г., Василенко М.І., Портниченко А.Г. *Зміни експресії лептинових рецепторів при коморбідному перебігу запального процесу і цукрового діабету 2 типу*. Матеріали V науково-практичної конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю «Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації», Харків, 18 травня 2023 р. Харків: НФаУ, 2023. С. 60-61.
16. Portnychenko A., **Aliiev R.**, Abuwatfa S., Kozlovska M., Shapovalova A., Topchanyuk L., Gonchar O., Vasylenko M., Nosar V., Rozova K., Zhukovska A. *Mechanisms of the comorbid course of the inflammatory process and type 2 diabetes and*

possibilities of hypoxic correction. XXII–і читання ім. В. В. Підвисоцького: Бюлетень матеріалів наукової конференції (18-19 травня 2023 року). Одеса: УкрНДІ медицини транспорту, 2023. С.15-16.

17. Portnychenko A, **R. Aliiev**, M. Kozlovskaya, L. Topchanyuk, S. Abuwatfa, M. Zavorodnii, A. Zhukovska, M. Vasilenko, V. Nosar, K. Rozova. *Pneumonia course on the background of type 2 diabetes associates with disorders of energy metabolism and leptin regulation* 17th International Conference “Advances in Pneumology”. Vienna, Austria, 3-5 November 2023. Ab5027_1.

18. **Алієв Р**, Носар В, Розова К, Портниченко А. *Структурні та метаболічні порушення при коморбідному перебігу запального процесу в легенях на тлі інсулінорезистентності та цукрового діабету 2 типу*. Всеукраїнська науково-практична конференція молодих вчених «Медична наука-2023», Полтава, 2023.

Апробація результатів дисертації

Основні положення та результати дисертаційної роботи доповідалися та обговорювалися на:

1. 20-му з’їзді Українського фізіологічного товариства з міжнародною участю, присвяченому 95-річчю від дня народження академіка П.Г. Костюка (Київ, 27-30 травня 2019 р.);
2. науково-практичній конференції з міжнародною участю «Галицькі читання: Сучасні уявлення щодо патогенезу запалення: місцеві та системні механізми» (Івано-Франківськ, 19-20 вересня 2019 р.);
3. VIII Національному конгресі патофізіологів України з міжнародною участю «Патологічна фізіологія – охороні здоров’я України», присвяченого 120-річчю Одеської патофізіологічної школи (Одеса, 13-15 травня 2020 р.);
4. Перших читаннях, присвячених Д.О. Альперну «Актуальні питання патологічної фізіології» (до 150-річчя кафедри загальної та клінічної патофізіології імені Д.О. Альперна) (Харків, 26 березня 2021 р.);
5. IV науково-практичній конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю «Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної

- медицини і фармації» (Харків, 19 травня 2022 р.);
6. Пленумі Українського наукового товариства патофізіологів (Тернопіль, 15–17 вересня 2022 р.);
 7. XIII науково-практичній конференції «Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм» (Тернопіль, 26-28 жовтня 2022 р.);
 8. 8th Annual Summit on Cardiovascular, Renal and Glycemic Outcomes - The Virtual CVOT Summit 2022 (Munich, Germany, 10-11 Nov 2022);
 9. 16th International Conference “Advances in Pneumology” (Berlin, Germany, December 8-10, 2022);
 10. V науково-практичній конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю (м. Харків, 18 травня 2023 р.);
 11. XXII читаннях ім. В. В. Підвисоцького (Одеса, 18-19 травня 2023 р.);
 12. 17th International Conference “Advances in Pneumology” (Vienna, Austria, 3-5 November 2023);
 13. Всеукраїнській науково-практичній конференції молодих учених «Медична наука – 2023» (Полтава, 1 грудня 2023 р.);
 14. семінарах відділу гіпоксії Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України.

ДОДАТОК Б
Акти впроваджень
ДОДАТОК Б1

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

В.о. ректора

Донецького національного

медичного університету

д.мед.н., професорка



Майя ЄРМОЛАЄВА

« 4 » грудня 2023 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

- 1. Назва пропозиції до впровадження:** Передумови та механізми розвитку цукрового діабету 2 типу або предіабету при аліментарному ліпідному навантаженні
- 2. Заклад, що розробив, його поштова адреса:** Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, 01024, вулиця Богомольця 4, м.Київ, Україна.
- 3. Прізвище, ім'я по батькові автора:** Алієв Руфат Бахтіяр огли
- 4. Джерело інформації:** Portnychenko AG, Vasylenko MI, Aliiev RB, Kozlovska MG, Zavhorodnii MO, Tsapenko PK, Rozova KV, Portnichenko VI. The prerequisites for the development of type 2 diabetes or prediabetes in rats fed a high-fat diet. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 2023, 14(1), 16-22. <https://doi.org/10.15421/022303> <https://www.scopus.com/sourceid/21101097081> IF=0,6 Web of Science, Scopus, Q4; фахове видання, категорія А
- 5. Назва установи, що проводить впровадження:** Донецький національний медичний університет
- 6. Впроваджено:** в навчальний процес кафедри внутрішньої медицини №1
- 7. Термін впровадження:** вересень – грудень 2023.
- 8. Результат впровадження:** стало відомим, що переваження ліпідами в раціоні протягом 2 тижнів є достатнім для розвитку інсулінорезистентності та проявів предіабету.
- 9. Ефективність впровадження:** поглиблення знань про передумови для розвитку діабету 2 типу або переддіабету при аліментарному ліпідному навантаженні.
- 10. Зауваження та пропозиції організації, що впровадила розробку:** не має.

Відповідальна за впровадження

завідувачка кафедри

внутрішньої медицини №1

д.мед.н., професорка

Майя ЄРМОЛАЄВА

ДОДАТОК Б2

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

В.о.ректора

Донецького національного
медичного університету

д.мед.н., професорка

Майя ЄРМОЛАЄВА

« 11 » грудня 2023 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Назва пропозиції до впровадження: Лептинзалежні механізми обтяження патологічного процесу при коморбідному перебігу запалення в легенях та цукрового діабету 2 типу.

2. Заклад, що розробив, його поштова адреса: Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, 01024, вулиця Богомольця 4, м.Київ, Україна.

3. Прізвище, ім'я по батькові автора: Алієв Руфат Бахтіяр огли

4. Джерело інформації:

Алієв Р.Б. Сучасні відомості про лептинзалежну регуляцію метаболізму. Вісник проблем біології і медицини, 2022. Вип. 4(167), С.9-15. DOI: 10.29254/2077-4214-2022-4-167-9-15 Aliiev R. (2022) Current concepts of leptin-mediated regulation of metabolism. Bulletin of problems in biology and medicine. 2022 – Issue 4 (167), p. 9-15. DOI: 10.29254/2077-4214-2022-4-167-9-15 фахове видання, категорія Б

Алієв Р.Б., Розова К.В., Козловська М.Г., Василенко М.І., Дубова М.Г., Шаповалова А.С., Портниченко А.Г. Морфологічні передумови метаболічних порушень при коморбідному перебігу запального процесу в легенях та цукрового діабету 2 типу у щурів. Туберкульоз, легеневі хвороби, ВІЛ-інфекція, 2023, 4(55):54-64. DOI: <http://doi.org/10.30978/TB2023-4-54> Scopus фахове видання, категорія А

Portnychenko A., Aliiev R., Kozlovska M., Topchanyuk L., Abuwatfa S., Zavhorodnii M., Zhukovska A., Vasylenko M., Nosar V., Rozova K. Pneumonia course on the background of type 2 diabetes associates with disorders of energy metabolism and leptin regulation 17th International Conference “Advances in Pneumology”. Vienna, Austria, 3-5 November 2023. Ab5027_1. https://pneumology.eu/archive/wien2023/pdf/ab5027_1.pdf

5. Назва установи, що проводить впровадження: Донецький національний медичний університет

6. Впроваджено: в навчальний процес кафедри внутрішньої медицини №1

7. Термін впровадження: грудень 2023.

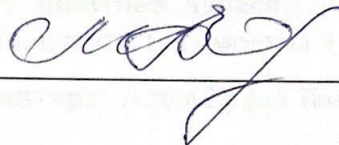
8. Результат впровадження: стало відомим, що запальний процес в легенях на тлі цукрового діабету 2 типу супроводжується значною нестачею лептинових рецепторів, порушенням лептинзалежної регуляції функції мітохондрій та їх структури, що призводить до тяжких розладів енергетичного метаболізму, прозапального впливу та обумовлює погіршення прогнозу у хворих з коморбідною патологією.

9. Ефективність впровадження: поглиблення знань про роль лептинових рецепторів у мітохондріальній дисфункції та обтяженні патологічного процесу при коморбідному перебігу запалення в легенях та цукрового діабету 2 типу.

10. Зауваження та пропозиції організації, що впровадила розробку: не має.

Відповідальна за впровадження

завідувачка кафедри
внутрішньої медицини №1
д.мед.н., професорка



Майя ЄРМОЛАЄВА