

*Петрик І.А.*

**МОНИТОРИНГ КАРДИОПРОТЕКТОРНЫХ ЭФФЕКТОВ ПРОИЗВОДНОГО 3,2'-СПИРО-ПИРРОЛО-2-ОКСИНДОЛА СОЕДИНЕНИЯ R-86 ПРИ МОДЕЛЬНОЙ КАРДИАЛЬНОЙ ИШЕМИИ**

**Резюме.** В опытах на крысах установлено, что производному 3,2'-спиро-пирроло-2-оксидола соединению R-86 (10 мг/кг внутривенно) присуще кардиопротекторное действие, которое проявилось достоверным снижением амплитуды сегмента ST относительно группы контрольной патологии, как при фармакопрофилактическом, так и при лечебном введении на двух разных за генезом моделях миокардиальной ишемии - диатермокоагуляционном некрозе миокарда и питуитрин-изадриновом инфаркте миокарда. По величине кардиопротекторного эффекта при превентивном введении соединение R-86 в условиях диатермокоагуляционного некроза миокарда не уступало кордарону, мексидолу и тиотриазолину, достоверно превышая корвитин при терапии крыс с питуитрин-изадриновым ИМ. Исследуемое производное 3,2'-спиро-пирроло-2-оксидола является перспективным биологически активным соединением для дальнейшего углубленного изучения ее кардиопротекторных свойств.

**Ключевые слова:** производное 3,2'-спиро-пирроло-2-оксидола, кардиальная ишемия, кардиопротекторное действие.

*Petryk I. O.*

**MONITORING OF CARDIOPROTECTIVE EFFECT OF DERIVATIVE 3,2'-SPIRO-PYRRHOL-2-OXINDOLE, COMPOUND R-86 IN THE COURSE OF MODEL CARDIAL ISCHEMIA WHEN DIFFERENT DRUG ADMINISTRATION IS USED**

**Summary.** During experiments on rats it has been found that Derivative 3,2'-Spiro-Pyrrhol-2-Oxindole Compound R-86 (10 mg/kg intragastric administration) has cardioprotective action that manifested itself as probable reduction of segment ST magnitude concerning a control pathology group not only by pharmacoprophylactic administration, but also by therapeutic one on two different as for genesis models of myocardial ischemia - diathermocoagulation myocardium necrosis and pituitrin-isadrine myocardial infarction. As for degree of cardioprotective effect Compound R-86 injected preventively in conditions of diathermocoagulation myocardium necrosis was as good as Cordarone, Mexidolum and Thiotriazolin, probably better than Corvitin in the course of rats' pituitrin-isadrine myocardial infarction treatment. Investigated Derivative 3,2'-Spiro-Pyrrhol-2-Oxindole is a perspective biologically active substance for the further in-depth study of its cardioprotective characteristics.

**Key words:** Derivative 3,2'-Spiro-Pyrrhol-2-Oxindole, acute cardiac ischemia, cardioprotective effect.

Стаття надійшла до редакції 15.05.2014 р.

Петрик Ирина Олександрівна - лікар-нарколог Вінницького обласного наркологічного диспансеру "Соціотерапія"; +38 098 791-05-33

© Путілін Д.А., Камишний О.М., Коновалова О.О., Камишна В.А.

УДК: 616.37-031.64-018.1:616-097]:616.379-008.64]-092.9

*Путілін Д.А., Камишний О.М., Коновалова О.О., Камишна В.А.*

Запорізький державний медичний університет, кафедра мікробіології, вірусології та імунології (проспект Маяковського, 26, м. Запоріжжя, Україна, 69035)

**ОСОБЛИВОСТІ ЕКСПРЕСІЇ TLR2 І TLR4 АДИПОЦИТАМИ ПАРАПАНКРЕАТИЧНОЇ КЛІТКОВИНИ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ЦУКРОВОМУ ДІАБЕТИ**

**Резюме.** Досліджено вплив експериментального цукрового діабету на експресію TLR2 і TLR4 адипоцитами парапанкреатичної клітковини у щурів лінії Вістар. Встановлено, що розвиток ЕЦД збільшував кількість TLR2<sup>+</sup> - та TLR4<sup>+</sup> - адипоцитів та переважно підвищував щільність TLR2<sup>+</sup> - і TLR4<sup>+</sup> -рецепторів на їх мембрані. Введенням метформіну діабетичним щурам знижали загальну кількість TLR2<sup>+</sup> - адипоцитів на 16% (ЕЦД1) - 22% (ЕЦД2), TLR4<sup>+</sup> - адипоцитів на 36% (ЕЦД1), супроводжувалися зменшенням щільності TLR2<sup>+</sup> - і TLR4<sup>+</sup> - рецепторів на поверхні жирових клітин.

**Ключові слова:** експериментальний цукровий діабет, адипоцит, TLR2, TLR4.

**Вступ**

Картина патогенезу ЦД як першого, так і другого типу свідчить про активну участь імунних механізмів в порушенні ендокринної функції панкреатичних острівців [Jin, 2013; Culina, 2013]. В свою чергу, в останні роки з'являється все більше даних про роль жирової тканини в організмі як одного з регуляторів активності функціонування імунної системи [Schiffner, Schilmerich, 2010]. Жирова тканина є не тільки важливим метаболічним регулятором і ендокринним органом, що синтезує більше 30 білків - "адипокінів", але і органом імун-

ної системи [Kaminski, Randall, 2010; Kopp et al., 2009], дисрегуляція якого призводить до морфологічної перестройки - "ремоделювання" адипоцитів, розвитку запалення жирової тканини, та є невід'ємним компонентом в прогресуванні багатьох захворювань, в тому числі і ЦД [Matarese et al., 2012; Procaccini et al., 2011]. Відомо, що жирова тканина може містити цілі кластери клітин вродженої та адаптивної імунної системи, такі як макрофаги, дендритні клітини, NK- і NKT-лімфоцити, цитотоксичні лімфоцити, T-регуляторні Treg, різноманітні

субпопуляції Т-хелперів -Th1, Th2, Th17, які інфільтрують адипоцити [Feuerer et al., 2009]. Від балансу цих клітин залежить рівень прозапальної сигналізації в жировій тканині та продукція таких цитокінів як IL1 $\beta$ , IL6, IL17, IL18, TNF $\alpha$ , IFN $\gamma$ , здатних безпосередньо впливати на прогресію інсуліту [Caspar-Bauguil et al., 2009]. Проте, включення адаптивної імунної системи залежить від рівня сигналізації через паттерн-розпізнаючі рецептори (PRR - pattern-recognition receptors) спадкової, одними з важливих представників яких є толл-подібні рецептори TLR2 і TLR4 [Jialal et al., 2014]. Лігандами TLR2 є ліпопротеїди, ліпотейхоєві кислоти, пептидоглікан, ліпоарабіноманнан, зімозан, хітин практично всіх мікроорганізмів, TLR4 - ліпополісахариди (LPS) грам-негативних бактерій. Крім того, діабет супроводжується цілим рядом метаболічних порушень, а природніми лігандами TLR-4, здатними їх активувати, є насичені жирні кислоти [Yin et al., 2014]. Тому, мета цієї роботи полягала в з'ясуванні особливостей експресії TLR2 і TLR4 адипоцитами паранкреатичної клітковини у щурів лінії Вістар з експериментальним цукровим діабетом (ЕЦД).

### Матеріали та методи

Дослідження проведені на 60 самцях щурів лінії Вістар вагою 115 - 135 грам, отриманих з розплідника Об'єднання ветеринарної медицини ПП "Біомодель-сервіс" (Київ). Тварини були розділені на 5 експериментальних груп по 12 щурів: контрольні щури, яким одноразово внутрішньочеревно вводили 0,5 мл 0,1 М цитратного буферу (рН=4,5) (група 1); щури з 3-тижневим експериментальним стрептозотозин-індукованим діабетом (ЕЦД1) (група 2); щури з 3-тижневим експериментальним стрептозотозин-нікотинамід-індукованим діабетом (ЕЦД2) (група 3); щури з 3-тижневим ЕЦД1 (група 4) та ЕЦД2 (група 5), яким в/ш щоденно на протязі 3 тижнів вводили *метформін* в дозі 50 мг/кг починаючи з 1 дня індукції діабету. Для індукції ЕЦД1 стрептозотозин (STZ) (SIGMA Chemical, США) вводили щурам внутрішньочеревно в дозі 50 мг/кг, розчиненого в 0,5 мл 0,1 М цитратному буфері (рН 4,5) перед самим моментом введення. Індукцію ЕЦД2 здійснювали STZ в дозі 65 мг/кг з попереднім (за 15 хв.) введенням нікотинаміду (внутрішньочеревно - 230 мг/кг) [Masiello et al., 1998; Szkudelski, 2012]. Час, що минув з дня введення препарату, в подальшому викладенні матеріалу інтерпретувався як тривалість перебігу діабету. Визначення концентрації глюкози в крові, яку брали з хвостової вени, проводили глюкозооксидазним методом із застосуванням приладу "BIONIMERigh test™GM 110" (Швейцарія) через 12 годин і на 1, 2, 3, 5, 7, 14 і 21 добу після ін'єкції стрептозотозину. Вимірювання рівня глікемії здійснювали через 6 годин з моменту останнього прийому їжі. На 21 добу після введення STZ тварин виводили з експерименту декапітуванням під ефірним наркозом. Вилучали ділянки паранкреатичної клітковини (ППК), які на 20 годин занурювали в фіксатор Буена і після

промивки заливали в парапласт.

Структуру популяції TLR2<sup>+</sup> та TLR4<sup>+</sup> адипоцитів вивчали на підставі аналізу серійних гістологічних зрізів і даних їх морфометричних та денситометричних характеристик. Для проведення даного дослідження на ротацийному мікротомі MICROM HR-360 (Microm, Німеччина) робили 5-мікронні серійні зрізи ППК, які потім депарафінізували в ксилолі, проводили регідратацію в низхідних концентраціях етанолу (100%, 96%, 70%), відмивали у 0,1 М фосфатному буфері (рН=7,4) і фарбували з первинними кролячими поліклональними антитілами (ПКАТ) до TLR2 та TLR4 (Santa Cruz Biotechnology, США) протягом 18 годин у вологій камері при Т=4°C. Після відмивання надлишку первинних антитіл в 0,1 М фосфатному буфері, зрізи інкубували 60 хвилин (Т=37°C) з вторинними антитілами до повної молекули IgG кролика (Santa Cruz Biotechnology, США), кон'югованими з FITC. Після інкубації всі зрізи промивали 0,1 М фосфатним буфером і розміщували в суміші гліцерину та фосфатного буфера (1 : 9) для подальшої люмінесцентної мікроскопії. Оброблені гістологічні зрізи вивчали за допомогою комп'ютерної програми Image J (NIH, США). Зображення, що отримується на мікроскопі Primo Star (ZEISS, Німеччина) в ультрафіолетовому спектрі збудження 390 нм (FITC) за допомогою високочутливої камери Axio Cam 5c (ZEISS, Німеччина) і пакета програм для отримання, архівування та підготовки зображень до публікації Axio Vision 4.7.2 (ZEISS, Німеччина) негайно вводили в комп'ютер. При цьому в автоматичному режимі визначалися області зі статистично значущою флуоресценцією, характерною для адипоцитів, експресуючих TLR. Обчислювалися морфометричні та денситометричні характеристики імунопозитивних клітин. Щільність TLR на поверхні адипоцитів визначали враховуючи інтенсивність флуоресценції ідентифікованих імунопозитивних клітин і неспецифічну флуоресценцію препарату (так званий "фон"). На підставі цих показників обчислювалася коректована клітинна флуоресценція (в умовних одиницях інтенсивності флуоресценції УОІФ): Integrated Density (інтегрована щільність) - (площа виділених клітин \* середню флуоресценцію фона).

### Результати. Обговорення

Розвиток експериментального стрептозотозин-індукованого діабету (ЕЦД1) супроводжувався збільшенням загальної кількості TLR2<sup>+</sup> адипоцитів у 2,5 рази (р<0,05) в порівнянні з контролем, в той час як цей же показник при експериментальному стрептозотозин-нікотинамід-індукованому діабеті (ЕЦД2) зростав на 83% (р<0,05) (рис. 1 А). Індукція ЕЦД1 призводила до зростання щільності TLR2<sup>+</sup> рецепторів на поверхні адипоцитів всіх класів на 9 - 23% (р<0,05) відносно контролю, а при ЕЦД2 цей показник зростав у великих адипоцитів в 9,4 рази (р<0,05) і зменшувався у середніх та малих адипоцитів на 8% (р<0,05) та на 13% (р<0,05), відповідно.

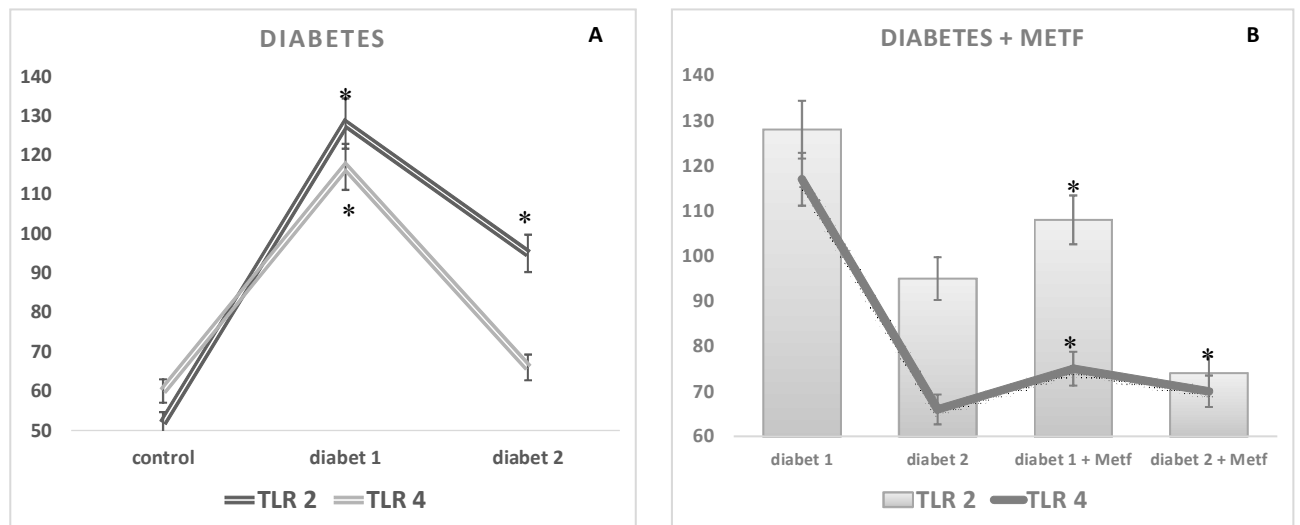


Рис. 1. Сумарна щільність (на 10мм<sup>2</sup>) TLR2<sup>+</sup> - і TLR4<sup>+</sup> - адипоцитів у ППК при розвитку діабету (А) і введенні метформіну (Metf) діабетичним тваринам, \* -  $p < 0,05$ .

Вивчення розподілу TLR4<sup>+</sup> адипоцитів показало, що в умовах індукції ЕЦД1 спостерігається збільшення їх сумарної щільності на 95 % ( $p < 0,05$ ) у порівнянні з контролем, тоді як в умовах ЕЦД2 достовірних змін не виявлено. Розвиток ЕЦД1 призводив до зниження щільності TLR4<sup>+</sup> рецепторів на поверхні великих адипоцитів на 12% ( $p < 0,05$ ) відносно контролю. В той час як цей же показник серед великих адипоцитів при ЕЦД2, навпаки, зріс на 33% ( $p < 0,05$ ).

Після введення метформіну сумарна щільність TLR2<sup>+</sup> адипоцитів знизилася на 16% (ЕЦД1) ( $p < 0,05$ ) та на 22% (ЕЦД2) ( $p < 0,05$ ) у порівнянні з діабетичними щурами, тоді як загальна кількість TLR4<sup>+</sup> адипоцитів зменшувалася на 36% ( $p < 0,05$ ) тільки у випадку ЕЦД1 (рис. 1 В). Введення в умовах ЕЦД1 метформіну знайшло відображення у зниженні щільності TLR2<sup>+</sup> рецепторів на 21% ( $p < 0,05$ ) у середніх адипоцитів та на 12% ( $p < 0,05$ ) у малих, в порівнянні з діабетичними тваринами. Схожі зміни спостерігались і у випадку ЕЦД2 - введення метформіну викликало зниження щільності TLR2<sup>+</sup> рецепторів на поверхні великих адипоцитів на 92% ( $p < 0,05$ ) та на поверхні середніх - на 7% ( $p < 0,05$ ). Щільність TLR4<sup>+</sup> рецепторів в умовах введення метформіну односпрямовано знижувалась як при ЕЦД1 (на поверхні великих адипоцитів на 10 % ( $p < 0,05$ ), середніх - на 14% ( $p < 0,05$ ), малих - на 13% ( $p < 0,05$ )), так і при ЕЦД2 (на 14% ( $p < 0,05$ ) у великих адипоцитів в порівнянні з діабетичними тваринами).

У ряді інших досліджень також була показана здатність адипоцитів людини та гризунів експресувати практично весь спектр відомих Toll-подібних рецепторів, від TLR-1 до TLR-9 [Schliffner, Schillmerich, 2010; Kopp et al., 2009]. Із них найбільш детально досліджені TLR-2 і TLR-4, представлені в жировій тканині в суттєво більших кількостях в порівнянні з іншими TLRs [Watanabe et al., 2013]. Характерно, що наші результати

показують активне залучення рецепторів вродженої імунної системи у розвиток не тільки ЦД 2 типу, а і ЕЦД1, а також участь в цьому процесі TLR-2. Між тим, існуючі експериментальні роботи стосуються в основному ролі TLR-4 в патогенезі ЦД2. Так, отримано цілий ряд доказів того, що TLR4 є привабливим кандидатом для зв'язку вроджених імунних реакцій та резистентності до інсуліну: по-перше, експресія TLR4 підвищується в адипоцитах при ожирінні [Shi et al., 2006], по-друге, TLR4 - нокаутні миші захищені від визваної ожирінням інсулінорезистентності [Tsukumo et al., 2007], по-третє, делеція TLR4 в гематопоетичних клітинах покращує індуковану високожировою дієтою резистентність жирової тканини до інсуліну [Saber et al., 2009]; по-четверте, насичені жирні кислоти активують NF- $\kappa$ B в макрофагах жирової тканини TLR4-залежним шляхом [Watanabe et al., 2013]. У діабетичних мишей рівень TLR-4 підвищений, а стимуляція ЛПС веде до надмірної активації секреції запальних цитокінів і зниження утворення протизапального цитокіна ІЛ-10 [Watanabe et al., 2013]. У хворих на ЦД 2 типу на 76% підвищений рівень циркулюючих ЛПС, жирова тканина достовірно більше експресує TLR-2, MyD88, NF- $\kappa$ B, а ЛПС в ізольованих адипоцитах, отриманих із підшкірно-жирової клітковини людей з ЦД 2 типу, в більшій мірі стимулювала експресію TLR-2, TRAF6, NF- $\kappa$ B в порівнянні з адипоцитами здорових людей [Shvarts, 2010]. Одноразове введення інсуліну хворим ЦД-2 знижувало експресію мРНК TLR-1, -2, -4, -7 і -9 [Shvarts, 2010] в мононуклеарних клітинах крові.

Koenen T. et al. (2011) показали, що вісцеральна жирова тканина (ВЖТ) володіє більш вираженим про-запальним потенціалом в порівнянні з підшкірною (ПЖТ) [Koenen et al., 2011]. Зокрема, процент CD8<sup>+</sup>-Т-лімфоцитів у ВЖТ був значно вище, ніж в ПЖТ (41,6 проти 30,4%,  $p < 0,05$ ). Адипоцити ВЖТ характеризува-

лися більш високою продукцією IL-1 $\beta$  (у 10 раз,  $p < 0,05$ ), IL-18 (у 3 рази,  $p < 0,05$ ), IL-6 і IL-8 (у 3 і у 4 рази відповідно,  $p < 0,05$ ) у порівнянні з ПЖТ [Koenen et al. 2011]. І нарешті, активність каспази-1 в адипоцитах ВЖТ була у 3 рази вище, що створює умови для активації інфламасоми та пояснює більш високу "схильність" ВЖТ до розвитку запалення [Koenen et al., 2011]. В свою чергу, контроль рівня глікемії у хворих на ЦД 1 типу призводить до зміни співвідношення ВЖТ до ПЖТ [Jacob et al., 2006]. Так, якщо без лікування це співвідношення складало  $0,29 \pm 0,15$  ( $p < 0,05$ ), то нормалізація рівня глюкози призводила до зміни даного індексу до  $0,36 \pm 0,18$  ( $p < 0,05$ ) [Jacob et al., 2006].

Важливим стратегічним завданням є пошук ефективних шляхів корекції імунних порушень, що розвиваються при ЦД та підтримують його прогресію. В зв'язку з цим ми зупинили свій вибір на метформіні, що здатний знижувати концентрацію глюкози в крові через АМФ-активуюему протеїнкіназу (АМФК) [Russo et al. 2013]. Проте, значно більший інтерес представляє нещодавно відкрита здатність метформіну через АМФК впливати на активність ключового регулятора клітинного метаболізму, росту, проліферації та виживання клітин mTOR (mammalian target of rapamycin) [Hardie, 2013]. mTOR-протеїнкіназасерин - треонінової специфічності, яка в клітині існує як субодинаця внутрішньоклітинних мультимолекулярних сигнальних комплексів mTORC1 і mTORC2. mTOR-сигналізація є однією із основних детермінант Т-клітинного диференціювання [Xu et al., 2013; Yang, Chi, 2012]. При високій активності mTOR відбувається диференціювання наївних CD4<sup>+</sup>-клітин в ефекторні прозапальні субпопуляції Th1, Th2, Th17, а також активація цитотоксичних CD8<sup>+</sup>-клітин [Waickman, Powell, 2012]. І навпаки, якщо активність mTOR в CD4<sup>+</sup> клітинах низька, то вони диференціюються в Treg клітини, які блокують розвиток інсуліну і прогресію діабету [Chi, 2012; Powell et al. 2012]. Метформін, як і рапаміцин, але більш м'яко,

без розвитку імуносупресії, пригнічує активність mTOR, і зменшує інтенсивність запалення в жировій тканині [Hardie, 2013]. Отримані нами дані свідчать про здатність метформіну зменшувати щільність TLR2<sup>+</sup>- і TLR4<sup>+</sup>-рецепторів на поверхні жирових клітин. Одержані результати побічно підтверджуються і для інших типів клітин. Так, Н. Soraya et al. [2012] показали здатність метформіну пригнічувати експресію TLR4 та його адаптерного білка MyD88 в кардіоміоцитах, знижувати продукцію TLR-залежних прозапальних цитокінів TNF $\alpha$  і IL-6. Була встановлена здатність метформіну пригнічувати активність NF- $\kappa$ B і продукцію IL-1 $\beta$ , IL-6 і IL-8 ендотеліальними клітинами людини [Isoda et al. 2006]. М. Andrews et al. [2012] продемонстрували здатність метформіну знижувати рівні мРНК TNF- $\alpha$  і TLR 2/4 в моноцитах периферичної крові у хворих з ЦД2 типу.

### Висновки та перспективи подальших розробок

1. Розвиток ЕЦД1 збільшував кількість TLR2<sup>+</sup>- та TLR4<sup>+</sup>- адипоцитів у 2,5 рази і на 95% відповідно, підвищував щільність TLR2<sup>+</sup>-рецепторів на поверхні адипоцитів всіх класів на 9 - 23%, різноспрямовано впливав на щільність TLR4<sup>+</sup>- рецепторів.

2. Індукція ЕЦД2 призводила до зростання кількості TLR2<sup>+</sup>-адипоцитів на 83%, не впливала на чисельність TLR4<sup>+</sup>-жирових клітин, збільшувала щільність TLR2<sup>+</sup>- і TLR4<sup>+</sup>- рецепторів на мембрані у великих адипоцитах.

3. Введенням метформіну діабетичним щурам знижували загальну кількість TLR2<sup>+</sup>- адипоцитів на 16% (ЕЦД1)-22% (ЕЦД2), TLR4<sup>+</sup>- адипоцитів - на 36% (ЕЦД1) і супроводжувалися зменшенням щільності TLR2<sup>+</sup>- і TLR4<sup>+</sup>- рецепторів на поверхні жирових клітин.

Значний інтерес представляє подальше вивчення компонентів вродженого та адаптивного компартментів імунної системи жирової тканини при експериментальному цукровому діабеті.

### Список літератури

- Andrews M. Effect of metformin on the expression of tumor necrosis factor -  $\alpha$ , Toll like receptors 2/4 and C reactive protein in obese type - 2 diabetic patients / M. Andrews, N. Soto, M. Arredondo // Rev. Med. Chil. - 2012. - Vol. 140. - P. 1377 - 1382.
- Caspar - Bauguil S., Cousin B., Bour S. Adipose tissue lymphocytes: types and roles. / S. Caspar - Bauguil, B. Cousin, S. Bour // J. Physiol. Biochem. - 2009. - Vol. 65. - P. 423 - 436.
- Chi H. Regulation and function of mTOR signalling in T cell fate decisions / H. Chi // J. Nat. Rev. Immunol. - 2012. - Vol. 325. - P. 38.
- Culina S. Insulin and type 1 diabetes: immune connections / S. Culina, V. Brezar, R. Mallone // Eur. J. Endocrinol. - 2013. - Vol. 17. - P. 19 - 31.
- Experimental NIDDM: development of a new model in adult rats administered streptozotocin and nicotinamide / P. Masiello, C. Broca, R. Gross [et al.] // J. Diabetes. - 1998. - Feb. - Vol. 224. - P. 9.
- Feuerer M. Fat Treg cells: a liaison between the immune and metabolic systems / M. Feuerer, L. Herrero, D. Cipolletta // J. Nat. Med. - 2009. - V. 15. - P. 930 - 939.
- Hardie D. AMPK: a target for drugs and natural products with effects on both diabetes and cancer / D. Hardie // J. Diabetes. - 2013. - Jul. 62. - Vol. 2164. - P. 72.
- Jacob A. The visceral and subcutaneous fat changes in type 1 diabetes: a pilot study / A. Jacob, B. Adams - Huet, P. Raskin // J. Diabetes Obes. Metab. - 2006. - Sep. 8. - Vol. 524. - P. 30.
- Jialal I. Toll - like receptor status in obesity and metabolic syndrome: a translational perspective / I. Jialal, H. Kaur, S. Devaraj // J. Clin. Endocrinol. Metab. - 2014. - Jan. - Vol. 99. - P. 39 - 48.
- Jin C. Innate immune receptors: key regulators of metabolic disease progression / C. Jin, J. Henao - Mejia, R. Flavell // J. Cell Metab. - 2013. - Jun. - Vol. 873. - P. 82.
- Kaminski D. Adaptive immunity and adipose tissue biology / D. Kaminski, T. Randall // J. Trends Immunol. - 2010. - Octob. 31. - P. 384 - 390.
- Koenen T. The inflammasome and caspase - 1 activation: a new mechanism underlying increased inflammatory activity in human visceral adipose tissue / T. Koenen, R. Stienstra, L. van Tits // J. Endocrinology. - 2011. - Oct. - Vol. 3769. - P. 78.
- Kopp A. Innate immunity and adipocyte function: ligand - specific activation of multiple Toll - like receptors modulates cytokine, adipokine, and chemokine secretion in adipocytes / A. Kopp, C. Buechler, M. Neumeier // J. Obesity. - 2009. - Apr. 17. - Vol. 648. - P. 56.
- Matarese G. At the crossroad of T cells, adipose

- tissue, and diabetes / G. Matarese, C. Procaccini, V. De Rosa // J. Immunol Rev. - 2012. - Sep. - Vol. 116. - P. 34.
- Metformin inhibits proinflammatory responses and nuclear factor - kappaB in human vascular wall cells / K. Isoda, J. L. Young, A. Zirik [et al.] // J. Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. - 2006. - Vol. 611. - P. 7.
- mTOR, linking metabolism and immunity / X. Xu, L. Ye, K. Araki [et al.] // J. Semin. Immunol. - 2012. - Vol. 429. - P. 35.
- Procaccini C. Obesity and susceptibility to autoimmune diseases / C. Procaccini, F. Carbone, M. Galgani // J. Expert Rev. Clin. Immunol. - 2011. - Vol. 287. - P. 94.
- Regulation of immune responses by mTOR / J. D. Powell, K.N. Pollizzi, E. B. Heikamp [et al.] // Annu Rev. Immunol. - 2012. - P. 30, 39 - 68.
- Russo G. L. AMP - activated protein kinase: a target for old drugs against diabetes and cancer / G. L. Russo, M. Russo, P. Ungaro // J. Biochem. Pharmacol. - 2013. - Vol. 339. - P. 50.
- Saberi M. Hematopoietic cell - specific deletion of toll - like receptor 4 ameliorates hepatic and adipose tissue insulin resistance in high - fat - fed mice / M. Saberi, N. Woods, C. de Luca // J. Cell Metab. - 2009. - Nov. - Vol. 419. - P. 29.
- Schiffler A. Innate immunity and adipose tissue biology / A. Schiffler, J. Schilmerich // J. Trends Immunol. - 2010. - Jun. - Vol. 228. - P. 35.
- Short - term treatment with metformin suppresses toll like receptors (TLRs) activity in isoproterenol-induced myocardial infarction in rat: are AMPK and TLRs connected? / H. Soraya, S. Farajnia, S. Khani [et al.] // J. Int. Immuno-pharmacol. - 2012. - Dec. - Vol. 785. - P. 91.
- Shvarts V. Physiological and pathological role of adipose tissue innate immune system receptors / V. Shvarts // J. Patol. Fiziol. Eksp. Ter. - 2010. - 7. - Sep. - P. 45 - 51.
- Szkudelski T. Streptozotocin - nicotinamide - induced diabetes in the rat. Characteristics of the experimental model / T. Szkudelski // J. Exp. Biol. Med. . - 2012. - May. - Vol. 481. - P. 90.
- TLR4 links innate immunity and fatty acid - induced insulin resistance / H. Shi, M. V. Kokoeva, K. Inouye [et al.] // J. Clin. Invest. - 2006. - Nov. - Vol. 3015. - P. 25.
- Toll-like receptor 2/4 links to free fatty acid - induced inflammation and  $\alpha$ -cell dysfunction / J. Yin, Y. Peng, J. Wu [et al.] // J. Leukoc. Biol. - 2014. - V.1 - P. 47-52.
- Tsukumo D. Loss - of - function mutation in Toll - like receptor 4 prevents diet - induced obesity and insulin resistance / D. Tsukumo, M. Carvalho - Filho, J. Carnevali // J. Diabetes. - 2007. - Aug. - Vol. 1986. - P. 98.
- Waickman A. T. mTOR, metabolism, and the regulation of T - cell differentiation and function / A. T. Waickman, J. D. Powell // J. Immunol. Rev. - 2012. - 9. - P. 43-58.
- Watanabe Y. Activation and regulation of the pattern recognition receptors in obesity - induced adipose tissue inflammation and insulin resistance / Y. Watanabe, Y. Nagai, K. Takatsu // J. Nutrients. - 2013. - Sep. - Vol. 3757. - P. 78.
- Yang K. mTOR and metabolic pathways in T cell quiescence and functional activation / K. Yang, H. Chi // J. Semin. Immunol. - 2012. - Vol. 421. - P. 8.

**Путилин Д.А., Камышный А.М., Коновалова О.А., Камышная В.А.**

#### ОСОБЕННОСТИ ЭКСПРЕССИИ TLR2 И TLR4 АДИПОЦИТОВ ПАРАПАНКРЕАТИЧЕСКОЙ КЛЕТЧАТКИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ

**Резюме.** Исследовано влияние экспериментального сахарного диабета на экспрессию TLR2 и TLR4 адипоцитами парапанкреатической клетчатки у крыс линии Вистар. Установлено, что развитие ЕСД увеличивало количество TLR2<sup>+</sup>- и TLR4<sup>+</sup>- адипоцитов и преимущественно повышало плотность TLR2<sup>+</sup>- и TLR4<sup>+</sup>- рецепторов на их мембране. Введением метформина диабетическим крысам снижали общее количество TLR2<sup>+</sup>-адипоцитов на 16% (ЕСД1) - 22% (ЕСД2), TLR4<sup>+</sup>-адипоцитов на 36% (ЕСД1), сопровождалось уменьшением плотности TLR2<sup>+</sup>- и TLR4<sup>+</sup>- рецепторов на поверхности жировых клеток.

**Ключевые слова:** экспериментальный сахарный диабет, адипоцит, TLR2, TLR4.

**Putilin D.A., Kamyshny A.M., Konovalova O.O., Kamyshnaya V.A.**

#### THE PECULIARITIES OF THE EXPRESSION OF TLR2 AND TLR4 ADIPOCYTES OF PARAPANCREATIC CONNECTIVE TISSUE OF EXPERIMENTAL DIABETES MELLITUS

**Summary.** It is researched the influence of experimental diabetes mellitus on the expression of TLR2 and TLR4 by adipocytes of parapancreatic fibrous in the rats of Wistar line. It is detected that the development of EDM increased the number of TLR2<sup>+</sup>- and TLR4<sup>+</sup>- adipocytes and increased the density TLR2<sup>+</sup>- and TLR4<sup>+</sup>-receptors on their membran. The introduction of metformin to the diabetic rats reduced the general number of TLR2<sup>+</sup>- adipocytes in 16% (EDM1)-22% (EDM2), TLR4<sup>+</sup>- adipocytes in 36% (EDM1) accompanied by the decrease of the density TLR2<sup>+</sup>- and TLR4<sup>+</sup>-receptors of the surface of adipose cells.

**Key words:** experimental diabetes mellitus, adipocytes, TLR2, TLR4.

Стаття надійшла до редакції 02.06.2014 р.

Путілін Денис Анатолійович - асистент кафедри нормальної фізіології Запорізького державного медичного університету; +38 067 732-23-12; des.doctor@mail.ru

Камышный Александр Михайлович - д. мед. н., доцент, завідувач кафедри мікробіології, вірусології та імунології Запорізького державного медичного університету; +38 061 234-26-31

Коновалова Ольга Олександрівна - магістр з лабораторної діагностики, ст. лаборант кафедри мікробіології, вірусології та імунології Запорізького державного медичного університету; +38 066 871-49-14; Olya\_konovalova\_81@mail.ru

Камышная Виктория Анатоліївна - к. мед. н., ст. викладач кафедри анатомії людини, оперативної хірургії та топографічної анатомії Запорізького державного медичного університету; +38 0612 34-26-31, +38 066 926-63-08; alexkamyshny@yandex.ru

© Чайка Г.В.

УДК: 613.99:611.65/67:612.62:613.956:572:575.191:576.75

**Чайка Г.В.**

Вінницький національний медичний університет імені М.І. Пирогова, кафедра акушерства та гінекології №1 (вул. Пирогова, 56, м. Вінниця, Україна, 21018)

## ОБҐРУНТУВАННЯ НЕОБХІДНОСТІ РОЗРОБКИ НОРМАТИВНИХ МОРФО-ФУНКЦІОНАЛЬНИХ ПОКАЗНИКІВ РЕПРОДУКТИВНОГО ЗДОРОВ'Я ДІВЧАТ-ПІДЛІТКІВ НА РІЗНИХ ЕТАПАХ СТАТЕВОГО ДОЗРІВАННЯ