

## АНОТАЦІЯ

Боряк Х.Р. Фізіологічна роль балансу ядерних факторів транскрипції STAT1 та STAT6 в M1/M2 поляризації макрофагів за умов формування підвищеної маси тіла. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 222 - Медицина. - Полтавський державний медичний університет МОЗ України, Полтава, 2021.

У дисертації наведено теоретичне узагальнення і розв'язання наукового завдання, яке полягає у з'ясуванні механізмів фізіологічної ролі балансу ядерних факторів транскрипції STAT1 та STAT6 в M1/M2 поляризації макрофагів за умов формування підвищеної маси тіла у осіб молодого віку.

Актуальність обраної теми дослідження зумовлена світовою пандемією підвищення маси тіла та ожиріння, яка визначається порушенням енергетичного балансу, обміну речовин, надмірним відкладенням жиру в тканинах, що призводить до хронічних захворювань і смертності. Накопичення метаболічно активної жирової тканини призводить до хронічного запалення низької інтенсивності та інфільтрації жирової тканини макрофагами. Збільшення кількості макрофагів при підвищенні маси тіла супроводжується змінами їх функціональних властивостей та домінуванням макрофагів субпопуляції M1. В процесі поляризації макрофагів ключову роль відіграють представники родини факторів транскрипції STATs (перетворювачі сигналів та активатори транскрипції). Поляризація макрофагів за M1 фенотипом пов'язана зі STAT1, тоді як STAT6 пов'язана з макрофагами M2. Однак їх роль в процесі поляризації макрофагів у осіб з підвищеною масою тіла достеменно не відома.

У дослідженні взяли участь 84 особи чоловічої та жіночої статі віком 18-25 років. Відповідно до дизайну дослідження було проведено визначення антропометричних показників: маси тіла, зросту, окружності талії (ОТ) та стегон (ОС), співвідношення (ОТ/ОС), розрахований індекс маси тіла (ІМТ), відсоток жирової маси тіла (%ЖМТ). Визначені функціональні показники

серцево-судинної системи: частота серцевих скорочень (ЧСС), систолічний (САТ) та діастолічний артеріальний тиск (ДАТ), вегетативний індекс Кердо в стані спокою і після проби з дозованим фізичним навантаженням.

Проведено визначення якості життя (опитувальник SF-36), харчової поведінки (опитувальник DEBQ), визначення енергетичної цінності харчового раціону (на основі методу 24-годинного (добового) відтворення харчування) та її відповідності потребам в енергії.

В досліджах *in vitro* проведено стимуляцію моноцитів периферичної крові ліпополісахаридом *E. coli* (LPS) і  $\gamma$ -інтерфероном ( $\gamma$ IFN) для індукції поляризації за фенотипом M1 та інтерлейкіном-4 (IL-4) для індукції поляризації за фенотипом M2. Рівень експресії генів *stat1* та *stat6* в моноцитах/макрофагах визначали методом полімеразної ланцюгової реакції в режимі «реального часу», концентрацію інтерлейкіна-6 (IL-6), трансформуючого фактору росту  $\beta$ 1 (TGF $\beta$ 1) та високочутливого C-реактивного білка (вчСРБ) у супернатанті клітин та сироватці крові методом твердофазного імуоферментного аналізу.

Відповідно до отриманих даних на першому етапі дослідження у осіб чоловічої статі з підвищеною масою тіла показники маси тіла на 26,85%, ІМТ на 25,13%, ОТ на 17,52%, ОС на 11,65%, співвідношення ОТ/ОС на 5,0%, %ЖМТ на 93,73% були достовірно вищими у порівнянні з відповідними показниками осіб з нормальною масою. У жінок з підвищеною масою тіла також спостерігалось достовірне підвищення показників маси тіла на 23,53%, ІМТ на 25,66%, ОТ на 16,67%, ОС на 11,60%, %ЖМТ на 37,26% у порівнянні з даними контрольної групи.

У осіб обох статей з підвищеною масою тіла відмічалось достовірне підвищення показників серцево-судинної системи в стані спокою та після дозованого фізичного навантаження, зокрема, після навантаження у чоловіків з підвищеною масою тіла ЧСС на 23,23%, САТ на 15,18%, ДАТ на 13,33% були достовірно більшими у порівнянні з відповідними показниками осіб з нормальною масою тіла. У жінок з підвищеною масою тіла після проби ЧСС на

19,01%, САТ на 10,23% були достовірно більшими у порівнянні з відповідними показниками жінок контрольної групи.

Після проби з дозованим фізичним навантаженням у чоловіків і жінок з підвищеною масою тіла індекс Кердо становив  $\geq +31$ , що свідчить про виражену симпатикотонію. Індекс Кердо у чоловіків з підвищеною масою тіла був більшим на 29,65%, у жінок на 19,01% порівняно з відповідними особами з нормальною масою тіла ( $p < 0,05$ ).

Виявлений негативний вплив підвищення маси тіла на якість життя за даними опитувальника SF-36. У осіб чоловічої статі достовірно знижувались усі показники, які об'єднані у шкали фізичного компоненту здоров'я, а у жінок – психічного компоненту у порівнянні з даними показниками у осіб з нормальною масою тіла ( $p < 0,05$ ). За даними опитувальника DEBQ виявлені зміни харчової поведінки у 79,55% осіб з нормальною масою тіла і у 90% осіб з підвищеною масою. У осіб з нормальною масою тіла переважав обмежувальний тип харчової поведінки, у осіб з підвищеною - екстернальний і емоційний типи.

У осіб обох статей з підвищеною масою тіла відмічено достовірне підвищення енергетичної цінності харчового раціону у робочий і вихідний дні у порівнянні з контрольною групою. У чоловіків з підвищеною масою тіла енергетична цінність харчового раціону перевищувала рекомендоване добове споживання енергії у робочий день на 49,90%, у вихідний на 75,15%, у жінок з підвищеною масою тіла відповідно у робочий день на 11,40%, у вихідний на 49,32%. Підвищення енергетичної цінності супроводжувалось зміною структури нутрієнтів за рахунок підвищеного споживання переважно жирів особами чоловічої статі з підвищеною масою тіла та жирів і вуглеводів особами жіночої статі у порівнянні з контрольною групою ( $p < 0,05$ ).

На другому етапі проведено дослідження експресії STAT1 та STAT6 в моноцитах/макрофагах периферичної крові досліджуваних осіб.

Стимуляція моноцитів периферичної крові *in vitro* LPS та  $\gamma$ IFN, та IL-4 призвела до достовірного підвищення рівня експресії генів stat1 та stat6 у осіб обох груп.

Найбільший приріст рівня експресії обох досліджуваних генів спостерігався за умов стимуляції моноцитів ІЛ-4. В динаміці інкубації формувались відмінності між групами. У осіб з нормальною масою на 7 добу інкубації рівень експресії stat1 був достовірно вищий за умов стимуляції клітин LPS та  $\gamma$ IFN. У осіб з підвищеною масою тіла найбільш високий рівень експресії stat1 зберігався у клітинах, стимульованих ІЛ-4  $(0,1291 \pm 0,031)2^{-\Delta Ct}$  проти  $(0,2579 \pm 0,0523)2^{-\Delta Ct}$ ,  $p = 0,0498$ ) на 7 добу інкубації. Експресія гена stat6 в динаміці інкубації була достовірно вище у макрофагах, стимульованих ІЛ-4 у осіб обох досліджуваних груп у порівнянні з клітинами, стимульованими LPS та  $\gamma$ IFN.

При порівнянні показників експресії між групами достовірно вищий на 99,77% рівень експресії stat1 визначений у макрофагах, стимульованих ІЛ-4 у осіб з підвищеною масою тіла у порівнянні з особами з нормальною масою на 7 добу інкубації. Достовірно вищий рівень експресії stat6 на 56,25% в нестимульованих клітинах, на 58,62% в макрофагах, стимульованих LPS та  $\gamma$ IFN і на 75% в макрофагах, стимульованих ІЛ-4 спостерігався у осіб з підвищеною масою тіла у порівнянні з особами з нормальною масою на 3 добу інкубації.

У осіб з нормальною масою тіла співвідношення експресії stat1/stat6 змінювалось в динаміці інкубації. Показник співвідношення stat1/stat6 був достовірно нижче на 23,91% у макрофагах, стимульованих LPS та  $\gamma$ IFN у порівнянні з нестимульованими клітинами на 3 добу інкубації, достовірно нижче на 43,34% у макрофагах, стимульованих ІЛ-4 у порівнянні з нестимульованими клітинами та на 30,45% у порівнянні з макрофагами, стимульованими LPS та  $\gamma$ IFN на 7 день інкубації.

У осіб з підвищеною масою тіла співвідношення stat1/stat6 в динаміці інкубації достовірно не змінювалось. Також не було визначено достовірних відмінностей співвідношення між групами.

Продукція ІЛ-6 макрофагами переважала за умов стимуляції LPS та  $\gamma$ IFN у клітинах осіб обох груп, але була достовірно вищою у осіб з підвищеною

масою тіла. Результат підтверджений формуванням негативних кореляційних зв'язків між рівнем експресії stat6 та рівнем IL-6 у клітинах, стимульованих IL-4 7 діб у осіб з нормальною масою.

У осіб з нормальною масою тіла визначено достовірне зниження рівня продукції TGF $\beta$ 1 за умов стимуляції клітин LPS та  $\gamma$ IFN та негативні зв'язки між рівнем експресії stat6 та рівнем TGF $\beta$ 1 у супернатанті клітин, стимульованих IL-4. У осіб з підвищеною масою достовірних змін рівня TGF $\beta$ 1 при інкубації не визначено, але виявлені позитивні зв'язки між експресією stat1 у клітинах, стимульованих LPS та  $\gamma$ IFN та IL-4 7 діб та рівень TGF $\beta$ 1 у супернатанті клітин, стимульованих за відповідним фенотипом.

Визначений достовірно вищий на 79,62% рівень вчСРБ у сироватці крові осіб з підвищеною масою тіла у порівнянні з показниками групи з нормальною масою, позитивний зв'язок між рівнем IL-6 у супернатанті клітин, стимульованих LPS та  $\gamma$ IFN та вчСРБ в сироватці осіб з нормальною масою.

Таким чином, за результатами досліджень показано, що за умов надлишкового надходження нутрієнтів та формуванні підвищеної маси тіла відбувається достовірне підвищення рівня експресії генів stat1 і stat6 у клітинах, стимульованих за M2 фенотипом. Активація сигнальних мереж, які опосередковують формування про- та протизапальних фенотипів є можливим відображенням стану прекодиціювання моноцитів периферичної крові на фоні підвищеного надходження нутрієнтів. Подальше формування напряму поляризації залежить від розвитку низькоінтенсивного запалення в жировій тканині, ознаки якого за даними рівня цитокінів та вчСРБ присутні у осіб з підвищеною масою тіла. За змінених умов енергетичного дисбалансу фенотип M2 макрофагів реалізує процеси взаємодії сигнальних мереж, які є відповідальними за формування про- та протизапального фенотипу. Можливий рівень взаємодії знаходиться між PPAR $\gamma$  та фактором транскрипції NF- $\kappa$ B.

### **Наукова новизна отриманих результатів.**

Вперше визначена фізіологічна роль балансу ядерних факторів транскрипції STAT1 та STAT6 в M1/M2 поляризації макрофагів за умов

формування підвищеної маси тіла. Вперше визначений рівень експресії ядерних факторів транскрипції STAT1 та STAT6 в моноцитах/макрофагах периферичної крові, які знаходяться на різних етапах активації в залежності від маси тіла.

Вперше визначено, що стимуляція моноцитів периферичної крові LPS і  $\gamma$ IFN, та IL-4 призводить до достовірного підвищення рівня експресії генів stat1 та stat6 у осіб обох груп. Вперше визначено, що найбільший приріст рівня експресії обох досліджуваних генів відбувається за умов стимуляції моноцитів IL-4.

Вперше показано, що у осіб з нормальною масою на 7 добу інкубації достовірно вищий рівень експресії stat1 спостерігається за умов стимуляції клітин LPS та  $\gamma$ IFN. У осіб з підвищеною масою тіла на 7 добу інкубації найбільш високий рівень експресії stat1 спостерігається у клітинах, стимульованих IL-4  $(0,1291 \pm 0,031)2^{-\Delta Ct}$  проти  $(0,2579 \pm 0,0523)2^{-\Delta Ct}$ ,  $p = 0,0498$ ). Вперше виявлено, що у осіб обох досліджуваних груп експресія гена stat6 на 3 та 7 добу інкубації достовірно вище у макрофагах, стимульованих IL-4 у порівнянні з клітинами, стимульованими LPS та  $\gamma$ IFN.

Вперше з'ясовано, що у осіб з підвищеною масою тіла у порівнянні з особами з нормальною масою визначається достовірно вищий на 99,77% рівень експресії гена stat1 у макрофагах, стимульованих IL-4 на 7 добу інкубації. У осіб з підвищеною масою тіла у порівнянні з особами з нормальною масою спостерігається достовірно вищий рівень експресії гена stat6 на 56,25% в нестимульованих клітинах, на 58,62% в макрофагах, стимульованих LPS та  $\gamma$ IFN і на 75% в макрофагах, стимульованих IL-4 на 3 добу інкубації.

Вперше виявлено зниження показника співвідношення експресії генів stat1/stat6 в динаміці інкубації у осіб з нормальною масою тіла. Показано, що на 3 добу інкубації співвідношення stat1/stat6 достовірно нижче на 23,91% у макрофагах, стимульованих LPS та  $\gamma$ IFN у порівнянні з нестимульованими клітинами, на 7 добу інкубації достовірно нижче на 43,34% у макрофагах, стимульованих IL-4 у порівнянні з нестимульованими клітинами та на 30,45% у порівнянні з макрофагами, стимульованими LPS та  $\gamma$ IFN.

Вперше показано, що продукція ІЛ-6 макрофагами переважає за умов стимуляції LPS та  $\gamma$ IFN у клітинах осіб обох груп, але є достовірно вищою у осіб з підвищеною масою тіла. У осіб з нормальною масою визначено формування негативних кореляційних зв'язків між рівнем експресії stat6 та рівнем ІЛ-6 у клітинах, стимульованих ІЛ-4 7 діб.

Вперше виявлено достовірне зниження рівня продукції TGF $\beta$ 1 за умов стимуляції клітин LPS та  $\gamma$ IFN та негативні зв'язки між рівнем експресії stat6 та рівнем TGF $\beta$ 1 у супернатанті клітин, стимульованих ІЛ-4 у осіб з нормальною масою тіла. У осіб з підвищеною масою виявлені позитивні зв'язки між експресією stat1 у клітинах, стимульованих LPS та  $\gamma$ IFN та ІЛ-4 7 діб та рівня TGF $\beta$ 1 у супернатанті клітин, стимульованих за відповідним фенотипом.

Доповнені дані стосовно достовірно вищого рівня вчСРБ у сироватці крові осіб з підвищеною масою тіла у порівнянні з показниками групи з нормальною масою та формування позитивного зв'язку між рівнем ІЛ-6 у супернатанті клітин, стимульованих LPS та  $\gamma$ IFN та вчСРБ в сироватці осіб з нормальною масою.

Отримані додаткові дані взаємозв'язку реакції серцево-судинної системи та вегетативної регуляції на фізичне навантаження у осіб з підвищеною масою тіла, зокрема, домінування симпатичних впливів вегетативної нервової системи.

Поглиблено розуміння негативного впливу підвищення маси тіла на якість життя, що опосередковано достовірним зниженням усіх показників шкали фізичного компоненту здоров'я у осіб чоловічої статі, та психічного компоненту у осіб жіночої статі з підвищеною масою тіла.

Доповнені дані стосовно змін харчової поведінки у 79,55% осіб з нормальною масою тіла і у 90% осіб з підвищеною масою з переважанням обмежувального типу харчової поведінки у осіб з нормальною масою тіла, екстернального і емоційного типу у осіб з підвищеною масою.

Отримані додаткові дані стосовно формування енергетичного дисбалансу з достовірним підвищенням енергетичної цінності харчового раціону у

порівнянні з рекомендованим добовим споживанням енергії у осіб з підвищеною масою тіла, який характеризується переважним споживанням жирів особами чоловічої статі та жирів і вуглеводів особами жіночої статі з підвищеною масою тіла.

### **Практичне значення отриманих результатів.**

Отримані в роботі результати поглиблюють знання та розширюють розуміння фізіологічної ролі балансу ядерних факторів транскрипції STAT1 та STAT6 в M1/M2 поляризації макрофагів за умов формування підвищеної маси тіла. Новітні дані стосовно залежності рівня експресії ядерних факторів транскрипції STAT1 та STAT6 в моноцитах/макрофагах периферичної крові, які знаходяться на різних етапах активації від маси тіла доповнюють знання стосовно патогенезу розвитку низькоінтенсивного системного запалення при підвищенні маси тіла та ожирінні.

Визначення даних показників є можливим раннім діагностичним критерієм виявлення процесів прекодиціювання моноцитів з формуванням прозапального фенотипу. Подальше дослідження експресії і балансу факторів транскрипції STAT1 та STAT6 в M1/M2 поляризації макрофагів надасть можливість для розробки профілактичних заходів, спрямованих на профілактику захворювань, пов'язаних з підвищенням маси тіла і ожирінням.

**Ключові слова:** індекс маси тіла, підвищена маса тіла, поляризація макрофагів, ядерні фактори транскрипції STAT1 та STAT6, якість життя, харчова поведінка, енергетична цінність харчового раціону.

### **Summary**

Boriak Kh.R. Physiological role of the balance of STAT1 and STAT6 nuclear transcription factors in M1/M2 macrophage polarization under conditions of overweight. – Qualification research work on the manuscript basis.

The dissertation for the academic degree of Doctor of Philosophy in the specialty 222 - Medicine. Poltava State Medical University of the Ministry of Healthcare of Ukraine, Poltava, 2021.



The dissertation presents a theoretical integration and solution of the scientific problem, which is to elucidate the mechanisms of the physiological role of the balance of STAT1 and STAT6 nuclear transcription factors in M1/M2 macrophage polarization under conditions of overweight in young people.

The relevance of the chosen topic of the research is associated with the global epidemic of overweight and obesity, which is determined by the energy imbalance, metabolic disorders, excessive fat deposition in tissues, which leads to chronic diseases, and mortality. Accumulation of metabolically active adipose tissue in overweight and obesity leads to chronic systemic inflammation of low intensity and infiltration of adipose tissue by macrophages. The increase in the number of macrophages in overweight is accompanied by changes in their functional properties and the dominance of macrophages of the M1 subpopulation. Representatives of STATs transcription factors (signal converters and transcription activators) play a key role in the process of macrophage polarization. Polarization of macrophages by M1 phenotype is associated with STAT1, whereas STAT6 is associated with M2 macrophages. However, their role in the process of polarization of macrophages in overweight individuals is not definitely known.

The study enrolled 84 males and females aged from 18 to 25 years. According to the study design, anthropometric indicators were determined: body weight, height, waist circumference (WC) and hip circumference (HC), their ratio (WC/HC), calculated body mass index (BMI), body fat percentage (BFP). Functional indicators of the cardiovascular system were determined: heart rate (HR), systolic blood pressure (SBP) and diastolic blood pressure (DBP), the Kerdo vegetative index at rest and after a test with dosed exercise.

The study determined the quality of life (SF-36 questionnaire), eating behavior (DEBQ questionnaire), the energy value of food intake (based on the method of 24-hour (daily) reproduction of food consumption), and its compliance with energy needs.

*In vitro* experiments stimulated peripheral blood monocytes with lipopolysaccharide of *E. coli* (LPS) and  $\gamma$ -interferon ( $\gamma$ IFN) to induce polarization by

the M1 phenotype and interleukin-4 (IL-4) to induce polarization by the M2 phenotype. The level of expression of stat1 and stat6 genes in monocytes/macrophages was determined by real-time polymerase chain reaction, the concentration of interleukin-6 (IL-6), transforming growth factor  $\beta$ 1 (TGF $\beta$ 1) and high-sensitivity C-reactive protein (hs-CRP) in supernatant cells and blood serum by solid-phase enzyme-linked immunosorbent assay.

According to the data obtained at the first stage of the study in overweight males there was a significant increase in body weight by 26.85%, BMI by 25.13%, WC by 17.52%, HC by 11.65%, the ratio of WC/HC by 5.0%, BFP by 93.73% as compared to the corresponding indicators of people with normal body weight. Likewise, in overweight women, there was a significant increase in body weight by 23.53%, BMI by 25.66%, WC by 16.67%, HC by 11.60%, BFP by 37.26% as compared to data from the control group.

In overweight subjects of both sexes, there was a significant increase in the parameters of the cardiovascular system at rest and after dosed exercise, in particular, after exercise in overweight men there was a significant increase in heart rate by 23.23%, SBP by 15.18%, DBP by 13.33% as compared to the corresponding indicators of people with normal body weight. In overweight women there was a significant increase in heart rate by 19.01% and SBP by 10.23% as compared to the corresponding indicators of women in the control group.

After the test with dosed exercise in overweight men and women, the Kerdo index was  $\geq + 31$ , indicating severe sympathicotonia. The Kerdo index in overweight men was 29.65% higher, and in women 19.01% higher compared to those with normal body weight ( $p < 0.05$ ).

The negative impact of being overweight on the quality of life was revealed according to the SF-36 questionnaire. In males, all indicators combined in the scales of the physical component of health were significantly reduced, whereas in women, the mental component was reduced as compared to those with normal body weight ( $p < 0.05$ ).

According to the DEBQ questionnaire, changes in eating behavior were found in 79.55% of people with normal body weight and in 90% of overweight subjects. In people with normal body weight, the restrictive type of eating behavior prevailed, whereas in overweight subjects – the external and emotional types dominated.

In overweight subjects of both sexes, there was a significant increase in the energy value of food intake on weekdays and weekends as compared to the control group. In overweight men, the energy value of food intake exceeded the recommended daily energy intake on a working day by 49.90%, on weekends by 75.15%, in overweight women – on a working day by 11.40%, and on weekends by 49.32%, respectively. The increase in energy value was accompanied by a change in the structure of nutrients due to increased consumption of mainly fats by overweight males and fats and carbohydrates by females as compared to the control group ( $p < 0.05$ ).

At the second stage, the expression of STAT1 and STAT6 in monocytes/macrophages in the peripheral blood of subjects was studied.

Stimulation of peripheral blood monocytes by LPS,  $\gamma$ IFN, and IL-4 led to a significant increase in the expression level of stat1 and stat6 genes in both groups.

The largest increase in the expression level of both studied genes was observed under conditions of stimulation of monocytes by IL-4. Differences between groups were formed in the dynamics of incubation. In subjects with normal body weight on the 7th day of incubation, the level of stat1 expression was significantly higher under conditions of stimulation of cells by LPS and  $\gamma$ IFN. In overweight individuals, the highest level of stat1 expression was maintained in cells stimulated by IL-4 -  $(0.1291 \pm 0.031)2^{-\Delta Ct}$  against  $(0.2579 \pm 0.0523)2^{-\Delta Ct}$ ,  $p = 0.0498$ ) on the 7th day of incubation. The expression of the stat6 gene in the dynamics of incubation was significantly higher in macrophages stimulated by IL-4 in individuals of both study groups as compared to cells stimulated by LPS and  $\gamma$ IFN.

When comparing the expression rates between groups, the stat1 expression level was significantly higher by 99.77% in IL-4-stimulated macrophages in overweight subjects as compared to people with normal body weight on the 7th day

of incubation. Significantly higher levels of stat6 expression by 56.25% in unstimulated cells, by 58.62% in macrophages stimulated by LPS and  $\gamma$ IFN, and by 75% in macrophages stimulated by IL-4 were observed in overweight subjects body as compared to people with normal body weight on the 3rd day of incubation.

In individuals with normal body weight, the expression ratio of stat1/stat6 in the dynamics of incubation varied. The stat1/stat6 ratio was significantly lower by 23.91% in macrophages stimulated by LPS and  $\gamma$ IFN as compared to unstimulated cells on the 3rd day of incubation, significantly lower by 43.34% in macrophages stimulated by IL-4 as compared to unstimulated cells and by 30.45% as compared to macrophages stimulated by LPS and  $\gamma$ IFN on the 7th day of incubation.

In overweight subjects, the stat1/stat6 ratio in the incubation dynamics did not change significantly. There were also no reliable differences in the ratio between the groups.

IL-6 production by macrophages was predominant under LPS and  $\gamma$ IFN stimulation in cells of both groups, but it was significantly higher in overweight individuals. The result was confirmed by the formation of negative correlations between the level of stat6 expression and the level of IL-6 in cells stimulated by IL-4 for 7 days in individuals with normal weight.

In subjects with normal body weight, there was a significant decrease in TGF $\beta$ 1 production under LPS and  $\gamma$ IFN cell stimulation and negative relationships between stat6 expression and TGF $\beta$ 1 levels in the supernatant of IL-4-stimulated cells. No significant changes in TGF $\beta$ 1 levels were found during incubation in overweight subjects, but positive relationships were found between stat1 expression in cells stimulated by LPS,  $\gamma$ IFN, and IL-4 for 7 days, and TGF $\beta$ 1 levels in the cell supernatant stimulated by the corresponding phenotype.

The study found a significantly higher (by 79.62%) level of hs-CRP in the serum of overweight subjects as compared to people with normal weight, a positive relationship between the level of IL-6 in the supernatant of cells stimulated by LPS and  $\gamma$ IFN, and hs-CRP in the serum of people with normal body weight.

Thus, the research demonstrated that under conditions of excess nutrient intake and the development of overweight, there is a significant increase in the expression of stat1 and stat6 genes in cells stimulated by the M2 phenotype. Activation of signaling networks that mediate the formation of pro- and anti-inflammatory phenotypes is a possible reflection of the state of preconditioning of peripheral blood monocytes against the background of increased nutrient intake. Further formation of the direction of polarization depends on the development of low-intensity inflammation in adipose tissue, the signs of which, according to the level of cytokines and hs-CRP, are present in overweight people. Under changed conditions of energy imbalance, the M2 macrophage phenotype implements the processes of interaction of signal networks, which are responsible for the formation of pro- and anti-inflammatory phenotypes. A possible level of interaction is found between PPAR $\gamma$  and NF- $\kappa$ B transcription factor.

#### **The scientific novelty of the obtained results.**

For the first time, the physiological role of balance of nuclear transcription factors STAT1 and STAT6 in M1/M2 macrophage polarization under conditions of overweight was determined. For the first time, the expression level of nuclear transcription factors STAT1 and STAT6 in the peripheral blood monocytes/macrophages on different stages of activation dependent on body weight was determined.

For the first time, it was found that stimulation of peripheral blood monocytes by LPS,  $\gamma$ IFN, and IL-4 led to a significant increase in the level of expression of stat1 and stat6 genes in both groups. For the first time, it was determined that the largest increase in the level of expression of both studied genes is observed under conditions of IL-4-stimulation of monocytes.

Determined for the first time that in subjects with normal body weight on the 7th day of incubation, the level of stat1 expression was significantly higher under conditions of stimulation of cells by LPS and  $\gamma$ IFN. In overweight individuals on the 7th day of incubation the highest level of stat1 expression was maintained in cells stimulated by IL-4 -  $(0.1291 \pm 0.031)2^{-\Delta C_t}$  against  $(0.2579 \pm 0.0523)2^{-\Delta C_t}$ ,  $p = 0.0498$ ).

It was found for the first time that in subjects of both study groups the stat6 gene expression on a 3 and 7 day of incubation was significantly higher in macrophages stimulated by IL-4 as compared to cells stimulated by LPS and  $\gamma$ IFN.

For the first time a significantly higher (by 99.77%) level of stat1 expression was found in IL-4-stimulated macrophages in overweight individuals as compared to individuals with normal body weight on the 7th day of incubation. The study found significantly higher levels of stat6 expression in unstimulated cells (by 56.25%), in macrophages stimulated by LPS and  $\gamma$ IFN (by 58.62%), and in macrophages stimulated by IL-4 (by 75%) in overweight subjects as compared to individuals with normal body weight on the 3rd day of incubation.

For the first time, the changes in the expression ratio of stat1/stat6 in the dynamics of incubation in individuals with normal body weight were detected. The stat1/stat6 ratio was significantly lower (by 23.91%) in macrophages stimulated by LPS and  $\gamma$ IFN as compared to unstimulated cells on the 3rd day of incubation, significantly lower (by 43.34%) in macrophages stimulated by IL-4 as compared to unstimulated cells and by 30.45% as compared to macrophages stimulated by LPS and  $\gamma$ IFN on the 7th day of incubation.

For the first time, it was determined that IL-6 production by macrophages was predominant under the conditions of LPS and  $\gamma$ IFN stimulation in cells of subjects of both groups, but it was significantly higher in overweight individuals. The formation of negative correlations between the level of stat6 expression and the level of IL-6 in cells stimulated by IL-4 for 7 days in people with normal body weight was found.

For the first time, the study found a significant decrease in the TGF $\beta$ 1 production under stimulation of cells by LPS and  $\gamma$ IFN, and negative relationships between stat6 expression and TGF $\beta$ 1 levels in the supernatant of IL-4-stimulated cells in individuals with normal body weight. Positive relationships were found between the stat1 expression in cells stimulated by LPS,  $\gamma$ IFN- and IL-4 for 7 days and TGF $\beta$ 1 levels in the cell supernatant stimulated by the corresponding phenotype.

Updated data on a significantly higher level of hs-CRP in the serum of overweight subjects as compared to people with normal body weight and a positive

relationship between the level of IL-6 in the supernatant of cells stimulated by LPS and  $\gamma$ IFN, and hs-CRP in the serum of people with normal body weight.

Additional data were obtained on the relationship between the response of the cardiovascular system and autonomic regulation to exercise in overweight people was determined, in particular a predominance of sympathetic effects of the autonomic nervous system.

Additional understanding of the negative effects of weight gain on quality of life, which is mediated by significant decrease of all indicators on physical component scale in overweight men and mental component in overweight women.

Additional data gained about changes in eating behavior in 79.55% of people with normal body weight and in 90% of overweight people with a predominance of restrictive type of eating behavior in people with normal body weight, the external and emotional types in overweight people.

Additional data gained about formation of energy imbalance in overweight subjects, a significant increase in the energy value of the food intake as compared to the recommended daily energy consumption. Overweight men present with a predominant fat intake, whereas overweight women demonstrate a predominant fat and carbohydrate intake.

### **The practical significance of the research findings.**

The obtained results deepen knowledge and expand understanding of the physiological role of STAT1 and STAT6 nuclear transcription factors balance in M1/M2 macrophage polarization under condition of increased body weight. Recent data regarding dependence of the expression level of STAT1 and STAT6 nuclear transcription factors in peripheral blood monocytes/macrophages, which are at different stages of activation from body weight complement knowledge concerning the pathogenesis of the development of low-intensity systemic inflammation during weight gain and obesity.

Determination of these indicators may be an early diagnostic criterion for identifying monocyte preconditioning processes with formation of proinflammatory phenotype. Further study of the expression and balance of STAT1 and STAT6

transcription factors in M1/M2 macrophage polarization is a target for the prevention of diseases associated with overweight and obesity.

**Key words:** body mass index, overweight, polarization of macrophages, nuclear transcription factors STAT1 and STAT6, quality of life, eating behavior, energy value of food intake.



## СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:

1. Бор'як ХР, Весніна ЛЕ. Визначення особливостей впливу підвищення маси тіла у молодому віці на якість життя. Вісник проблем біології і медицини. 2019;2(4(4)):390-4. *(Здобувачем проведено опитування, підрахунок показників, статистичний аналіз отриманих даних, підготовка статті до друку)*
2. Бор'як ХР. Визначення зв'язку реакції серцево-судинної системи та вегетативної регуляції на фізичне навантаження у осіб з різною масою тіла. Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. 2020;20(2):108-13. *(Здобувачем проведено опитування, підрахунок показників, статистичний аналіз отриманих даних, підготовка статті до друку)*
3. Vesnina LE, Boriak KhR, Sokolenko VM. Assessment of the dietary energy intake of young people with normal weight and overweight. Світ медицини та біології. 2020;3(73):27-32. *(Здобувачем проведено опитування, підрахунок показників, статистичний аналіз отриманих даних, підготовка статті до друку)*
4. Boriak KhR, Vesnina LE. Relationship of the eating behavior features with anthropometric indicators and energy value of the diet in young people with normal weight and overweight. Wiadomości Lekarskie.2020;LXXIII(12(1)):2586-90. *(Здобувачем проведено опитування, підрахунок показників, статистичний аналіз отриманих даних, підготовка статті до друку)*
5. Boriak KhR, Shlykova OA, Izmailova OV, Vesnina LE, Kaidashev IP. Overweight in young people contributes to the expression of stat1 and stat6 genes in the peripheral blood monocytes, stimulated by IL-4. Проблеми екології та медицини. 2021;25(1-2):62-71. *(Здобувачем проведено експеримент, підрахунок показників, статистичний аналіз отриманих даних, підготовка статті до друку)*

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

6. Бор'як ХР, Весніна ЛЕ, Колінько ЛМ. Вплив підвищення маси тіла у молодих осіб. Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих

учених «Медична наука – 2018»: тези доповідей; 2018;16 листопада; Полтава. Полтава; 2018. с. 43. *(Здобувачем проведено опитування, підрахунок показників, статистичний аналіз отриманих даних, підготовка статті до друку)*

7. Боряк ХР, Весніна ЛЕ. Особливості впливу підвищення маси тіла на показники якості жити молодих осіб. Матеріали ХХІІІ Міжнародного медичного конгресу студентів та молодих вчених: тези доповідей; 2019; 15-17 квітня; Тернопіль. Тернопіль, Укрмедкнига;2019.с. 286-7. *(Здобувачем проведено опитування, підрахунок показників, статистичний аналіз отриманих даних, підготовка статті до друку)*

8. Боряк ХР. Визначення взаємозв'язку калорійності харчового раціону з антропометричними показниками і станом серцево-судинної системи у жінок молодого віку. Матеріали ХVІІ науково-практичної конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю «Перший крок в науку»: тези доповідей; 2020;8-10 квітня; Вінниця. Вінниця; 2020. с. 484. *(Здобувачем проведено опитування, підрахунок показників, статистичний аналіз отриманих даних, підготовка статті до друку)*

9. Боряк ХР. Особливості харчового раціону чоловіків молодого віку з різною масою тіла. Матеріали ХХІV Міжнародного медичного конгресу студентів і молодих вчених: тези доповідей; 2020;3-15 квітня; Тернопіль. Тернопіль; 2020. с. 210. *(Здобувачем проведено опитування, підрахунок показників, статистичний аналіз отриманих даних, підготовка статті до друку)*

10. Боряк ХР, Весніна ЛЕ. Взаємозв'язок особливостей харчової поведінки та якості життя у молодих жінок із різною масою тіла. Матеріали Міжнародної науково-практичної конференції «Біологічні, медичні та науково-педагогічні аспекти здоров'я людини»: тези доповідей; 2020;22-23 жовтня; Полтава. Полтава; 2020. с. 9-11. *(Здобувачем проведено опитування, підрахунок показників, статистичний аналіз отриманих даних, підготовка статті до друку)*

11. Боряк ХР, Весніна ЛЕ. Взаємозв'язок реакції серцево-судинної системи на фізичне навантаження та стану вегетативної нервової системи у молодих осіб.

Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції «Медична наука в практику охорони здоров'я»: тези доповідей; 2020; 27 листопада; Полтава. Полтава; 2020. с. 33. *(Здобувачем проведено опитування, підрахунок показників, статистичний аналіз отриманих даних, підготовка статті до друку)*

12. Боряк ХР, Весніна ЛЕ. Взаємозв'язок антропометричних показників та особливостей харчової поведінки з рівнем СРБ і TGF- $\beta$ 1 у молодих осіб із різною масою тіла. Збірник матеріалів конференції- фестивалю молодіжної науки «Медицина третього тисячоліття»: тези доповідей; 2021 січ. 18-20; Харків. Харків; 2021. с.16-18. *(Здобувачем проведено експеримент, підрахунок показників, статистичний аналіз отриманих даних, підготовка статті до друку)*

13. Боряк ХР, Весніна ЛЕ. Визначення особливостей експресії генів stat1 і stat6 в моноцитах/макрофагах периферичної крові в залежності від маси тіла. Збірник матеріалів III науково-практичної конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю «Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації»: тези доповідей; 2021 трав. 12; Харків. Харків; 2021. с.43. *(Здобувачем проведено експеримент, підрахунок показників, статистичний аналіз отриманих даних, підготовка статті до друку)*