

Київський національний університет імені Тараса Шевченка
Міністерство освіти і науки України
Київський національний університет імені Тараса Шевченка
Міністерство освіти і науки України

Кваліфікаційна наукова праця
на правах рукопису

ЛЕЩЕНКО ІВАН В'ЯЧЕСЛАВОВИЧ

УДК 616.37-008-091:616-056.52

ДИСЕРТАЦІЯ

СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ ЗА УМОВ РОЗВИТКУ ОЖИРІННЯ

03.00.13 — фізіологія людини і тварин

Подається на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук

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

Підпис: _____

Науковий керівник: д.б.н., проф. Фалалєєва Тетяна Михайлівна

Київ 2019

АНОТАЦІЯ

Лещенко І.В. Структурно-функціональний стан підшлункової залози за умов розвитку ожиріння. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук (доктора філософії) за спеціальністю 03.00.13 — фізіологія людини і тварин. — Київський національний університет імені Тараса Шевченка МОН України, Київ, 2019.

Ожиріння і метаболічні порушення, які виникають при ньому, є одним з етіологічних факторів хвороб підшлункової залози. За останні 30 років відзначено більш ніж двократне зростання частоти панкреатитів. Незважаючи на досягнуті успіхи в діагностиці та лікуванні цих захворювань, останніми роками відзначено зростання кількості людей із цією патологією, збільшення частоти рецидивів, тривалості загострень, активності клінічних проявів. Значна частина лікарів пов'язують це з порушенням характеру харчування та ожирінням. Механізми взаємозв'язку ожиріння і захворювань підшлункової залози поки залишаються до кінця не з'ясованими і вимагають детального вивчення.

У зв'язку з вище зазначеним пошук нових нетоксичних засобів профілактики розвитку ожиріння є найважливішою задачею сучасної науки. В сучасній науковій літературі активно дискутується питання впливу пробіотиків на жировий обмін та ожиріння. Бакхед та співавт. у 2004 були піонерами в дослідженні ролі мікрофлори товстої кишки в регуляції обміну речовин. Вказана публікація була поштовхом для досліджень у цій області. Було показано, що мікрофлора кишечника змінюється у людей з надмірною масою тіла, та, що мікробіоценоз кишки можна вважати екологічним чинником, який модулює розвиток ожиріння.

З огляду на важливу роль мікробіоти в порушенні обміну речовин, перспективним є використання для профілактики та лікування хворих з

ожирінням природніх та безпечних біологічних препаратів на основі коменсальної мікробіоти слизових оболонок людини — пробіотиків, для яких є доведеною здатність нормалізувати кишкову мікрофлору; впливати на обмін білків, ліпідів, вуглеводів; балансувати запальну реакцію організму за рахунок впливу на продукцію про- та протизапальних цитокінів та змінювати мікроекологічні оточення різних органів та систем організму. Обґрунтуванням для використання пробіотиків є також характер порушення мікробіоти шлунково-кишкового тракту при метаболічних синдромах, що виявляється в суттєвому зниженні кількості *Bifidobacterium* та *Lactobacillus* на тлі підвищення кількості *Firmicutes* і *Proteobacteria*. Вказане вище обумовило мету і завдання наших досліджень.

Мета роботи — оцінити структурно-функціональний стан підшлункової залози за умов розвитку глутамат-індукованого ожиріння та корекції пробіотичними штамами лактобацил та біфідобактерій.

Вперше встановлено, що 30-ти денне введення глутамату натрію в дозах 15 мг/кг і 30 мг/кг (відповідає 1 і 2 г/людину) викликає некротичні, некробіотичні та дистрофічні зміни екзо- і ендокриноцитів, лейкоцитарну і лімфоїдну інфільтрацію, периваскулярний і інтерстиціальний фіброз, набряк та дисциркуляторні розлади в підшлунковій залозі, що підтверджувалося зростанням концентрації її ферментів в сироватці крові. Описані зміни є характерними для гострого панкреатиту.

У цьому дослідженні було вивчено вплив ліофілізованих пробіотичних штамів біфідобактерій та лактобактерій та їх композицій на антропометричні показники щурів при експериментальному ожирінні, викликаному неонатальним введенням глутамату натрію. Через 4 місяці після народження у щурів, яким підшкірно вводили 4 мг/г глутамату натрію на 2-й, 4-й, 6-й, 8-й, 10-й день життя, спостерігався розвиток вісцерального ожиріння у дорослих щурів. Виміри антропометричних параметрів показали, що тварини з ожирінням мали затримку росту, тоді як вага не відрізнявся від маси

контрольних тварин. Таким чином, підшкірна неонатальна ін'єкція глютамату натрію здатна викликати ожиріння без гіперфагії, яка діагностується за високим індексом Лі та характеризується невеликою масою тіла та носо-анальною довжиною. У щурів 4-місячного віку спостерігалось порушення толерантності до глюкози та обміну ліпідів. Було показано, що неонатальна ін'єкція глютамату натрію (4 мг/г) відповідно на 2-й, 4-й, 6-й, 8-й, 10-й день життя викликала зміни вуглеводного та ліпідного обміну та розвиток запалення підшлункової залози (ознаки притаманні гострому панкреатиту), що підтверджувалося підвищенням його ферментів у плазмі крові.

Періодичне введення пробіотиків справляло значний профілактичний та терапевтичний ефект. Комбінований пробіотик *Bifidobacterium animalis VKL та VKB та Lactobacillus casei IMVB-7280* (1:1:2) мав найбільш виражений вплив на показники ожиріння та зменшував довжину тіла та зменшував індекс маси тіла та індекс Лі.

Було показано, що під впливом пробіотичних штамів реєстрували покращення ліпідного обміну у щурів, що підтверджувалося зменшенням концентрації тригліцеридів, холестерину, ліпопротеїдів низької і дуже низької щільності, а також збільшенням концентрації ліпопротеїдів високої щільності. За умов профілактично-лікувального введення пробіотиків спостерігається нормалізація вуглеводного обміну, що супроводжується зменшенням концентрації глюкози та інсуліну в крові щурів та зниженням значення індексу інсулінорезистентності НОМА.

Також була продемонстрована ефективність використання пробіотиків *Bifidobacterium animalis VKL і VKB та Lactobacillus casei IMVB-7280* для запобігання розвитку гіпоталамічного ожиріння та запалення підшлункової залози. Найбільш суттєвий ефект був виявлений в групі тварин, які отримували композицію трьох пробіотичних штамів *Bifidobacterium animalis VKL і VKB та Lactobacillus casei IMVB-7280* (1:1:2).

Встановлено, що періодичне введення пробіотиків справляло значний профілактично-лікувальний ефект на розвиток вісцерального ожиріння у щурів. Отримані результати є експериментальним обґрунтуванням доцільності пробіотикотерапії у комплексному лікуванні ожиріння.

Ключові слова: ожиріння, підшлункова залоза, пробіотики.

ABSTRACT

Leshchenko I. Structural-functional state of the pancreas in case of obesity development. — Manuscript.

Thesis for PhD degree in specialty 03.00.13 — Human and animal physiology. — Taras Shevchenko National University of Kyiv, Ministry of Education and Science of Ukraine, Kyiv, 2019.

Obesity and metabolic disorders are the etiologic factors causes the pancreas pathology. The number of cases of pancreatitis has doubled in the last 30 years. Despite of the achievements of diagnostics and treatment the pancreatitis, recidivism, shortened remissions and clinical manifestations increased among population in last years. The most of physicians associate it with malnutrition and obesity. The correlation of obesity and pancreas diseases is not quite yet and requires detailed researches.

According to mentioned above, the findings of new nontoxic substances for obesity prevention is the most important objective of contemporary science. There is discussed the influence of probiotics on the lipid metabolism and obesity in the modern science literature. Buthead at al., 2004 were pioneers in the research of the role of the colon microbiota in the metabolism. That article pushed the researches on this field. It's been shown the intestine microbiota is changed for persons who has obesity and modulate obesity development.

The base for probiotics using is the microbiota disorders of the digestive tract with metabolic syndromes that appears notable diminishing of *Bifidobacterium* and *Lactobacillus* on the background increasing of *Firmicutes* and *Proteobacteria*. The mentioned above defines the aim and objectives of this research.

The aim of the study was to assess the structural and functional state of pancreas under the conditions of glutamate induced obesity development and correction with the probiotics.

There was first stated that 30-days of sodium glutamate injection in a dose of 15 and 30 mg/kg (1 and 2 g/human respectively) causes necrotic, necrobiotic and

destructive changes in exo- and endocrinocytes, leucocytic and lymphoid infiltration, perivascular and interstitial fibrosis, edema and disorders of circulation in pancreas that was confirmed by increasing the activity of its enzymes in the serum. These features are signs of acute pancreatitis.

In this study, the effects of lyophilized probiotic strains of bifidobacteria and lactobacilli and their compositions on anthropometric indicators of rats under experimental obesity induced by neonatal administration of monosodium glutamate were investigated. After 4 months after birth in rats, which were injected subcutaneously with 4 mg/g of monosodium glutamate at 2nd, 4th, 6th, 8th, 10th day of life, significant development of visceral obesity of adult rats was observed. Measurements of anthropometric parameters have shown that animals with obesity had stunted growth, while weight did not differ from that of intact animals. So subcutaneous neonatal injection of monosodium glutamate is able to induce obesity without hyperphagia, which diagnosed by high Lee index and characterized by small corporal weight and naso-anal length. Impaired glucose tolerance and lipid metabolism were observed in 4-month-old rats. There was shown that neonatal injection of sodium glutamate (4 mg/g) accordingly at 2nd, 4th, 6th, 8th, 10th day of life caused changes in carbohydrate and lipid metabolism and the development of pancreatic inflammation (the features of acute pancreatitis), that confirmed with increasing of its enzymes in the blood plasma.

Periodic administration of probiotics has provided the significant preventive and therapeutic effect. The combined probiotic *Bifidobacterium animalis* VKL and VKB and *Lactobacillus casei* IMVB-7280 (1:1:2) had the most pronounced impact on the obesity indicators and decreased the length of the body and reduced body mass index and index Lee.

It was shown that injection of probiotic strains leads to an improvement in lipid metabolism was recorded in rats, which was confirmed by a decrease in the concentration of triglycerides, cholesterol, low and very low density lipoproteins, as well as an increase in the concentration of high density lipoproteins. The

prophylactic and therapeutic administration of probiotics leads to normalization of carbohydrate metabolism is observed, which is accompanied by a decrease in the concentration of glucose and insulin in the blood of rats and a decrease in the value of the HOMA insulin resistance index.

The effectiveness of using probiotics *Bifidobacterium animalis VKL i VKB* and *Lactobacillus casei IMVB-7280* to prevent the hypothalamic obesity development and inflammation of pancreas was also demonstrated. The biggest effect was revealed in the group of animals which received the combination of three probiotics: *Bifidobacterium animalis VKL&VKB* and *Lactobacillus casei IMVB-7280* (1:1:2).

It was stated that periodical injection of probiotics had notable preventing and treatment effects on the development of visceral obesity and inflammation of pancreas in rats. The acquired results are the experimental base for expediency of probiotic therapy in the complex treatment of obesity.

Key words: obesity, pancreas, probiotics.

Список публікацій здобувача

Статті у наукових фахових виданнях України

1. **Лещенко І.В.** Вплив тривалого введення глютамату натрію на структуру підшлункової залози щурів / **Лещенко І.В.**, Шевчук В.Г., Фалалєєва Т.М., Берегова Т.В. // Фізіол. журн. — 2012. — Т. 58, №2. — С. 59-65. (**Scopus**). *(Особистий внесок здобувача — проведення досліджень, аналіз результатів, написання тексту статті, підготовка матеріалів до друку).*
2. **Лещенко І.В.** Екзокринна функція підшлункової залози у щурів за умов експериментального ожиріння / **Лещенко І.В.**, Шевчук В.Г., Савченко О.А., Фалалєєва Т.М., Суходоля С.А., Берегова Т.В. // Фізіол. журн. — 2014. — Т. 60, №1. — С. 41-48. (**Scopus**). *(Особистий внесок здобувача — проведення досліджень, аналіз результатів, написання тексту статті, підготовка матеріалів до друку).*
3. **Лещенко І.** Вплив моно-, полі- та комбінованих пробіотиків на розвиток ожиріння, викликане глютаматом натрію / **Лещенко І.**, Скочко Н., Вірченко А., Гаділія О., Фалалєєва Т. // Вісник Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Проблеми регуляції фізіологічних функцій. — 2015. — Вип. 2. — С. 65-67. *(Особистий внесок здобувача — проведення досліджень, аналіз результатів, написання тексту статті, підготовка матеріалів до друку).*
4. **Лещенко І.** Параметри вуглеводного обміну при глютамат-індукованому ожирінні у щурів за умов корекції про біотичними штамами лактобацил та біфідобактерій / **Лещенко І.**, Вірченко О., Гаділія О., Лазаренко Л., Фалалєєва Т. // Вісник Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Біологія. — 2015. — Вип. 2. — С. 20-23. *(Особистий внесок здобувача — проведення досліджень, аналіз результатів, написання тексту статті, підготовка матеріалів до друку).*
5. **Лещенко І.В.** Антропометричні показники у щурів за умов, викликаного неонатальним введенням глютамату натрію, та профілактично-лікувального

введення про біотичних штамів лактобацил та біфідобактерій / **Лещенко І.В.**, Лазаренко Л.М., Прибитько І.Ю., Фалалєєва Т.М., Берегова Т.В. // Вісник проблем біології та медицини. — 2015. — Вип. 4, Т. 2 (125). — С. 180-185. (*Особистий внесок здобувача — проведення досліджень, аналіз результатів, написання тексту статті, підготовка матеріалів до друку*).

Статті у іноземних виданнях

6. **Leschenko I.** Pathophysiological aspects of the pancreas function in rats with monosodium glutamate-induced obesity / **Leschenko I.** Shevchuk V., Savcheniuk O., Falalyeyeva T., Beregova T. // Curr. Issues Pharm. Med. Sci. — 2013. — Vol. 26, No. 4. — P. 365-368. (**Scopus**). (*Особистий внесок здобувача — проведення досліджень, аналіз результатів, написання тексту статті, підготовка матеріалів до друку*).

Оглядова стаття

7. **Лещенко І.В.** Патофізіологічна роль ожиріння у розвитку захворювань підшлункової залози (Огляд) / **Лещенко І.В.**, Шевчук В.Г., Суходоля С.А., Фалалєєва Т.М. // Вісник Вінницького національного медичного університету — 2013. — Т.17, №2 — С. 499-504. (*Особистий внесок здобувача — проведення досліджень, аналіз результатів, написання тексту статті, підготовка матеріалів до друку*).

Тези наукових доповідей

8. **Лещенко І.В.** Морфологічна структура підшлункової залози у щурів з ожирінням / **Лещенко І.В.**, Фалалєєва Т.М., Любенко Д.Л., Дронов О.І., Польшакова А.С., Шевчук В.Г.// VI Міжнародна наукова конференція, присвячена 170-річчю кафедри фізіології людини і тварини та 100-річчю школи електрофізіології Київського університету. Психофізіологічні та вісцеральні функції в нормі і патології, 9-11 жовтня 2012 р.: матер. конфер. — Київ, Україна, 2012. — С. 134.

9. **Лещенко І.В.** Морфологічні зміни у підшлунковій залозі щурів за умов експериментального ожиріння / Фалалєєва Т.М., **Лещенко І.В.**, Любенко Д.Л., Дронов О.І., Пінчук М.А., Шевчук В.Г. // Таврійський медико-біологічний вісник. Матеріали VI конгресу патофізіологів України, 3-5 жовтня 2012 р. матер. конфер. — Місхор, Україна, 2012. — С. 386.
10. **Лещенко І.** Морфологічні зміни у підшлунковій залозі щурів за умов довготривалого введення глютамату натрію / **Лещенко І.**, Шевчук В., Фалалєєва Т., Берегова Т. // XVI Міжнародний медичний конгрес студентів і молодих вчених присвячений 55-річчю Тернопільського державного медичного університету імені І.Я. Горбачевського, 23-25 квітня 2012 р.: матер. конфер. — Тернопіль, Україна, 2012. — С. 190.
11. **Лещенко І.В.** Морфофункціональное состояние поджелудочной железы крыс в условиях длительного введения глютамата натрия / **Лещенко І.В.**, Фалалєєва Т.М. // Матеріали XIX Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов», 9-13 апреля 2012 г.: матер. конф. — Москва, Россия, 2012. — С.260-261.
12. **Leschenko I.V.** About the influence of long-term injection of monosodium glutamate on pancreas in rats. / Falalyeyeva T.M., **Leschenko I.V.**, Shevchuk V.G. et al. // European Journal of Clinical Investigation. 46th Annual Scientific Meeting of the European Society for Clinical Investigation, April 2012: abstracts of the conference. — Budapest, Hungary, 2012. — P. 6.
13. **Leschenko I.** Multiprobiotic therapy prevents the development of experimental obesity / Falalyeyeva T., Savcheniuk O., Mykhalchyshyn G., Kobyliak N., **Leschenko I.**, Bodnar P., Bereгова T., Yankovsky D. // The 21st United European Gastroenterology Week in Berlin, 12-16 October, 2013: abstracts of the conference. — Berlin, Germany, 2013. — P. 281
14. Шевчук В.Г. Дослідження взаємозв'язку між порушенням обміну речовин та морфо-функціональним станом підшлункової залози / В.Г. Шевчук, **І.В. Лещенко**, Н.М. Кобиляк, Т.М. Фалалєєва, Т.В. Берегова // Матеріали XIX-

го з'їзду Українського фізіологічного товариства ім. П.Г. Костюка з міжнародною участю, присвяченого 90-річчю від дня народження академіка П.Г. Костюка, 24-26 травня 2015 р.: матер. конфер. — Львів, Україна, 2014. — С. 128-129.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ	15
ВСТУП.....	16
РОЗДІЛ 1 ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.....	22
1.1. Морфофункціональна організація підшлункової залози	22
1.1.1. Будова підшлункової залози	22
1.1.2. Ендокринна та екзокринна функція підшлункової залози	26
1.1.3. Особливості будови підшлункової залози у щурів	28
1.2. Патолофізіологічні аспекти захворювань підшлункової залози	29
1.3 Патолофізіологічна роль ожиріння у розвитку захворювань підшлункової залози	38
1.3.1 Ожиріння як фактор ризику розвитку супутніх захворювань.....	38
1.4 Стан мікробіоти організму за умов ожиріння та застосування пробіотиків для корекції	44
1.3.2. Стан підшлункової залози за умов ожиріння.....	47
РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	54
2.1. Дослідження впливу тривалого введення глютамату натрію на масу тіла статевозрілих щурів	54
2.2. Дослідження впливу пробіотикотерапії на розвиток експериментального ожиріння у щурів, викликаного неонатальним введенням глютаматом натрію	56
2.3. Статистична обробка даних	61
РОЗДІЛ 3 СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ ЗА УМОВ РОЗВИТКУ ОЖИРІННЯ	63
3.1. Вплив тривалого введення глютамату натрію на масу тіла щурів.....	64

3.2. Вплив тривалого введення глутамату натрію на структуру підшлункової залози щурів.....	67
РОЗДІЛ 4 ПОКАЗНИКИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ОЖИРІННЯ У ЩУРІВ, ВИКЛИКАНОГО НЕОНАТАЛЬНИМ ВВЕДЕННЯМ ГЛУТАМАТУ НАТРІЮ ТА ЗА УМОВ ПРОФІЛАКТИЧНО-ЛІКУВАЛЬНОГО ВВЕДЕННЯ ПРОБІОТИЧНИХ ШТАМІВ ЛАКТОБАЦИЛ ТА БІФІДОБАКТЕРІЙ.....	
4.1 Соматометричні показники у щурів за умов експериментального ожиріння, викликаного неонатальним введенням глутамату натрію, та профілактично-лікувального введення пробіотичних штамів лактобацил та біфідобактерій	74
4.2 Стан вуглеводного обміну при глутамат-індукованому ожирінні у щурів за умов корекції пробіотичними штамами лактобацил та біфідобактерій	85
4.3 Стан ліпідного обміну при глутамат-індукованому ожирінні у щурів за умов корекції пробіотичними штамами лактобацил та біфідобактерій ..	91
4.4 Структурно-функціональний стан підшлункової залози у щурів за умов експериментального ожиріння, викликаного неонатальним введенням глутамату натрію, та профілактично-лікувального введення пробіотичних штамів лактобацил та біфідобактерій	95
РОЗДІЛ 5 АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ	102
ВИСНОВКИ	128
СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ.....	13029

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

ВІП — вазоінтестинальний пептид

ВООЗ — всесвітня організація охорони здоров'я

ДПК — дванадцятипала кишка

ЕРХПГ — ендоскопічна ретроградна холангіопанкреатографія

ІР — інсулінорезистентність

ММП — матриксні металопротеїнази

НАДФ — нікотинамідаденіндинуклеотидфосфат

НП — некротичний панкреатит

ПЗ — підшлункова залоза

РР — панкреатичний поліпептид

ЦД2 — цукровий діабет типу 2

CRP — С-реактивний протеїн

INK4A — інгібітор циклін-залежної кінази

PDGF — тромбоцитарний фактор росту

pH — потенція водню

PYY — пептид YY

TGF β — трансформуючий фактор росту бета

TNF- α — фактору некрозу пухлин

ВСТУП

Актуальність теми. За останніми даними Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ), здоров'я людини в значній мірі залежить від збалансованого харчування [1, 2, 3, 4, 5]. За даними, опублікованими в Європейському журналі епідеміології Україна зайняла перше місце в рейтингу країн з найвищим рівнем смертності через серцево-судинні захворювання, пов'язані з неправильним харчуванням та ожирінням [6]. Ожиріння є однією з найбільш актуальних проблем людства за даними ВООЗ, що пов'язано з його високою світовою поширеністю, а також його внеском у високі показники супутньої захворюваності та смертності [7, 8]. На сьогодні ожиріння набуває характер епідемії: близько 1,7 млрд. осіб на планеті мають надмірну масу тіла [9, 10]. ВООЗ визнала ожиріння глобальною епідемією і взяла його під свій контроль [11, 12]. Ожиріння зменшує тривалість життя на 3-5 років, а інколи, при тяжких формах, на 15 років [13, 14].

Надмірне вживання жирів, хоча і важлива причина ожиріння [15], проте, останнім часом вчені вважають, що безконтрольне використання харчових добавок, а саме, підсилювача смаку глутамату натрію (Е621) теж є причиною надмірної ваги [16]. Властивість глутамату натрію викликати ожиріння вивчалась упродовж десятиліть. Показано, що у щурів із ожирінням, викликаним глутаматом натрію, розвивається інсулінорезистентність до периферичного засвоєння глюкози, зокрема у 3-місячних щурів спостерігали гіперінсулінемію [17]. При цьому в адипоцитах збільшувалася чутливість до інсуліну, що підвищувало ємність адипоцитів для транспорту глюкози і синтезу ліпідів [18].

Ожиріння і виникаючі при ньому метаболічні порушення є одним з етіологічних факторів захворювань підшлункової залози [19]. За останні 30 років відзначено більш ніж двократне зростання частоти панкреатитів [20, 21, 22]. Механізми взаємозв'язку ожиріння та захворювань підшлункової залози поки залишаються до кінця нез'ясованими і вимагають детального вивчення.

За останні роки було створено і впроваджено кілька препаратів для лікування ожиріння. Але вже не один раз різні ліки для боротьби із зайвою вагою вводилися в клінічну практику, а незабаром знімалися з виробництва через виявлення небезпечних побічних ефектів. У зв'язку з вище зазначеним пошук нових нетоксичних засобів профілактики розвитку ожиріння є однією з актуальних задач сучасної науки. Було показано, що кишкова мікрофлора змінюється у людей з надмірною масою тіла, та, що мікробіоценоз кишки можна вважати екологічним чинником, який модулює розвиток ожиріння [23-25].

З огляду на важливу роль мікробіоти в порушенні обміну речовин, перспективним є використання для профілактики та лікування хворих з ожирінням природних та безпечних біологічних препаратів на основі коменсальної мікробіоти слизових оболонок людини — пробіотиків, для яких є доведеною здатність нормалізувати кишкову мікрофлору; впливати на обмін білків, ліпідів, вуглеводів; балансувати запальну реакцію організму за рахунок впливу на продукцію про- та антитизапальних цитокінів та змінювати мікроекологічні оточення різних органів та систем організму [26-28]. Обґрунтуванням для використання пробіотиків є також характер порушення мікробіоти шлунково-кишкового тракту при метаболічних синдромах, що виявляється в суттєвому зниженні кількості *Bifidobacterium* та *Lactobacillus* на тлі підвищення кількості *Firmicutes* і *Proteobacteria* [29, 30]. Вказане вище обумовило мету і завдання наших досліджень.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Роботу виконано у відділенні біологічних та біомедичних технологій НДЛ «Фармакології та експериментальної патології» ННЦ «Інститут біології» Київського національного університету імені Тараса Шевченка у рамках науково-дослідних тем: №11БФ036-01 «Механізми реалізації адаптаційно-компенсаторних реакцій організму за умов розвитку різних патологій» (2011-2015 рр., № д/р 0111U004648) та №15-16ДФ036-03 (Ф64/28-2015-2016)

«Проведення проблемно-орієнтованих пошукових досліджень і створення науково-технічного доробку з удосконалення методів терапії виразкових патологій шлунково-кишкового тракту» на замовлення Державного агентства з питань науки, інновацій та інформатизації України (2015-2016 рр. № д/р 0115U004862).

Мета і завдання дослідження. Мета роботи — оцінити структурно-функціональний стан підшлункової залози за умов розвитку глутамат-індукованого ожиріння та корекції пробіотичними штамами лактобацил та біфідобактерій.

Для досягнення поставленої мети були сформульовані наступні задачі дослідження:

1) Вивчити вплив 10-, 20-, 30-ти денного введення глутамату натрію на структурно-функціональний стан підшлункової залози у щурів.

2) Охарактеризувати соматометричні показники, параметри жирового та вуглеводного обмінів у 4-х місячних щурів за умов неонатального введення глутамату натрію.

3) З'ясувати морфо-функціональний стан підшлункової залози щурів за умов розвитку глутамат-індукованого ожиріння.

4) Встановити соматометричні показники, параметри жирового та вуглеводного обмінів за умов розвитку глутамат-індукованого ожиріння та введення пробіотичних штамів лактобацил та біфідобактерій.

5) З'ясувати дію пробіотичних штамів лактобацил та біфідобактерій на морфо-функціональний стан підшлункової залози щурів за умов розвитку глутамат-індукованого ожиріння.

Об'єкт дослідження — роль ендогенної пробіотичних штамів лактобацил та біфідобактерій у корекції структурно-функціонального стану підшлункової залози щурів за умов вісцерального ожиріння.

Предмет дослідження — структурно-функціональний стан підшлункової залози щурів за умов вісцерального ожиріння.

Методи дослідження. Фізіологічні, біохімічні, гістоморфологічні та методи математичної статистики.

Наукова новизна одержаних результатів. Дисертаційна робота була скерована на вивчення структурно-функціонального стану підшлункової залози за умов розвитку експериментального ожиріння, викликаного глутаматом та пошуку засобу корекції. Вперше встановлено, що 30-ти денне введення глутамату натрію в дозах 15 і 30 мг/кг (відповідає 1 і 2 г/людину) викликає некротичні, некробіотичні та дистрофічні зміни екзо- і ендокриноцитів, лейкоцитарну і лімфоїдну інфільтрацію, периваскулярний і інтерстиціальний фіброз, набряк та дисциркуляторні розлади. Описані зміни є характерними для гострого панкреатиту.

Вперше показано, що неонатальне введення глутамату натрію (4 мг/г) відповідно на 2, 4, 6, 8, 10 день життя призводило до вісцерального ожиріння щурів у дорослому віці та розвитку запалення підшлункової залози (ознаки притаманні гострому панкреатиту), що підтверджувалося зростанням активності її ферментів в сироватці крові. Доведена ефективність застосування пробіотичних штамів біфідобактерій (*Bifidobacterium animalis* VKL і VKB) та лактобацил (*Lactobacillus casei* IMVB-7280) для попередження розвитку ожиріння гіпоталамічного генезу та запалення підшлункової залози. Найбільш суттєвий ефект був виявлений в групі тварин, які отримували композицію трьох пробіотичних штамів *Bifidobacterium animalis* VKL і VKB та *Lactobacillus casei* IMVB-7280 (1:1:2).

Практичне значення одержаних результатів. Отримані результати можуть слугувати експериментальним обґрунтуванням та поясненням збільшення захворюваності на панкреатит, особливо тієї частини населення, що зловживає харчуванням в закладах «фаст-фуд». Отже, глутамат можна включити до групи речовин, що стимулюють секрецію підшлункової залози. Глутамат натрію стимулює апетит, тому їжі з'їдається набагато більше, ніж потрібно організму. Одержані дані слід враховувати кожній людині при

формуванні щоденного раціону, так як харчова сіль і глутамат натрію широко використовується в багатьох харчових виробництвах і мають велику популярність в світі.

Встановлено, що періодичне введення пробіотиків справляло значний профілактично-лікувальний ефект на розвиток вісцерального ожиріння у щурів. Отримані результати є експериментальним обґрунтуванням доцільності пробіотикотерапії у комплексному лікуванні ожиріння.

Особистий внесок здобувача. Аналіз літератури, проведення експериментів, статистична обробка та написання дисертації виконані здобувачем самостійно. Встановлення мети та завдань досліджень, планування експерименту, формулювання висновків та написання наукових публікацій здійснено за участю наукового керівника. Пробіотичні штами для експериментальних досліджень були люб'язно надані членом-кореспондентом НАНУ, проф., д.б.н. Співаком М.Я. (Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України). Біохімічні дослідження проводились за консультативною допомогою д.б.н., с.н.с. Дворщенко К.О. (ННЦ «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка). Автор висловлює вдячність д.м.н., проф., член-кореспонденту НАПН України Шевчуку В.Г. та д.б.н., проф. Береговій Т.В. за участь у плануванні, виконанні та обговоренні дисертаційної роботи.

Апробація результатів дисертації. Матеріали дисертації були представлені і обговорені на VI Міжнародній науковій конференції, присвяченій 170-річчю кафедри фізіології людини і тварини та 100-річчю школи електрофізіології Київського університету. Психофізіологічні та вісцеральні функції в нормі і патології (Київ, 2012); VI конгрес патофізіологів України (Крим, 2012); 4th International Scientific Conference (Kyiv, 2012); XVI Міжнародний медичний конгрес студентів і молодих вчених присвячений 55-річчю Тернопільського державного медичного університету імені І.Я. Горбачевського (Тернопіль, 2012); XIX Международной научной

конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов» (Москва, 2012); 46th Annual Scientific Meeting of the European Society for Clinical Investigation (Budapest, 2012); the 21st United European Gastroenterology Week in Berlin (Berlin 2013); XIX з'їзд Українського фізіологічного товариства ім. П.Г. Костюка з міжнародною участю, присвяченого 90-річчю від дня народження академіка П.Г. Костюка (Львів, 2015).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 15 наукових праць, з яких 7 статей, серед яких 5 рекомендовано ДАК України та 3 належать до наукометричної бази даних «Scopus», 7 тез доповідей у матеріалах вітчизняних та міжнародних наукових конференцій.

Обсяг і структура дисертації. Дисертаційна робота складається з анотації, вступу, огляду літератури, матеріалів і методів дослідження, результатів дослідження та їх обговорення, розділу присвяченому аналізу та узагальненню результатів, висновків та списку використаних літературних джерел. Робота викладена на 152 сторінках друкованого тексту, ілюстрована 19 рисунками та 3 таблицями. Перелік використаних літературних джерел складається з 312 найменувань, з них кирилицею — 36, латиницею — 276.

РОЗДІЛ 1

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Морфофункціональна організація підшлункової залози

1.1.1. Будова підшлункової залози

Підшлункова залоза (ПЗ) — залоза травної системи. Давньогрецькі лікарі називали підшлункову залозу "pancreas" — «вся з м'яса» [31]. Тривалий час значення ПЗ залишалося загадкою для лікарів. Лише в ХІХ столітті лікарі звернули увагу на те, що ПЗ виділяє щось в кишечник [32]. Вирішальний внесок у вивчення ролі ПЗ внесли роботи І.П. Павлова [31]. Роль ПЗ в організмі надзвичайно велика: вона забезпечує травлення, бере участь у регуляції енергетичного обміну та інших важливих процесах [33, 34, 35].

ПЗ розташована в верхньому відділі живота, у заочеревинному просторі на рівні І-ІІ поперекових хребців біля шлунку, звідки походить і назва. Анатомічна будова ПЗ дуже незвичайна: вона має головку, тіло і хвіст. Між головою і тілом ПЗ знаходиться вузька частина, яка називається шийкою. Довжина ПЗ у дорослої людини складає від 16 до 22 см, ширина в області голівки — 3-7,5 см, в області тіла — 2-5 см, а хвоста — 0,3-3,4 см. Важить ПЗ близько 80 г [36].

Під час ембріонального розвитку ПЗ розвивається з ентодерми і мезенхіми; її зачаток з'являється на 3-му тижні у вигляді випинання стінки ембріональної кишки, з якого формуються головка, тіло і хвіст. Диференціація зачатків на екзокринну та ендокринну частини починається з 3-го місяця ембріогенезу. Утворюються ацинуси і вивідні протоки, ендокринні відділи утворюються з бруньок вивідних проток і відшнуровуються від них, перетворюючись на острівці. Судини, а також сполучнотканинні елементи

строми отримують розвиток з мезенхіми. У новонароджених ПЗ має дуже маленькі розміри. Її довжина коливається від 3 до 6 см; маса 2,5-3 г; залоза розташовується трохи вище, ніж у дорослих, проте слабо фіксована до задньої черевної стінки і відносно рухлива. Характерного для дорослих вигляду залоза досягає до віку 5-6 років. З віком в ПЗ відбувається зміна взаємовідносин між її екзокринною та ендокринною частинами у бік зменшення числа острівців [37].

ПЗ дорослої людини має альвеолярно-трубчасту будову. Основна маса клітин ПЗ утворюють ацинуси, які виробляють екзокринний секрет. Ацинуси являють собою субодиниці часточок ПЗ і складаються з пірамідальних клітин (панкреацитів), звернених апікальною частиною до секреторного каналця. Апікальна частина клітини має безліч мікрворсинок. Панкреацити мають характерну для клітин, що активно синтезують білковий секрет, будову: велика кількість елементів гранулярної ендоплазматичної сітки, добре розвинений комплекс Гольджі і зимогенні (секреторні) гранули на різній стадії дозрівання. Простір між ацинусами заповнений сполучною тканиною, яка підводить до базальної частини секреторних клітин капіляри та вегетативні нервові волокна [36].

Головна протока ПЗ, протока Вірсунга, оточена сполучною тканиною, а просвіт вистелений циліндричним епітелієм. Від цієї протоки відходять більш дрібні протоки, які проходять між дольками і тому мають назву міждолькові. Їх просвіт вистелений циліндричним епітелієм. Міждолькові протоки розгалужуються і переходять у внутрішньодолькові протоки, стінки яких утворені циліндричним та кубічним епітелієм. Від них в свою чергу відходять вставні протоки, які підходять до ацинусів. Загальна вивідна протока відкривається разом з жовчовивідною протокою на верхівці великого (фатерова) сосочка в низхідному відділі дванадцятипалої кишки (ДПК). Додаткова протока ПЗ, якщо вона не впадає у головну протоку, відкривається малим дуоденальним сосочком [38].

Екзокринна тканина ПЗ складається з 4-х типів клітин [39]:

- ацинарних, які продукують гліко-, ліпо- і протеолітичні ферменти та зимогени (проферменти), і які складають до 80% клітинного складу ПЗ;
- центроацинарнодуктулярних, які секретують рідину, що містить бікарбонати;
- сполучних клітин інтерстицію.

Типова композиція ПЗ як складної альвеолярної залози доповнюється острівцями Лангерганса [40]. Зазвичай це клітинні скупчення у вигляді кульок діаметром до 0,2-0,3 мм, їх загальна кількість коливається від 1 до 2 мільйонів, а маса не перевищує соті частини маси самої залози. Ці клітини називають інсулоцитами. Іноді острівкові клітини розташовуються дифузно у вигляді тяжів, розділених синусоїдами, але їх легко виділити за кольором і за відсутності зв'язку з вивідними протоками. Ці групи клітин виконують ендокринну функцію [41, 42].

У кожному острівці Лангерганса налічується близько 1000 ендокринних клітин, які поділяють на п'ять типів: α -клітини (10-30%) виробляють глюкагон, β -клітини (60-80%) — інсулін, δ і δ_1 -клітини (5-10%) — соматостатин і вазоінтестинальний пептид (ВІП), РР-клітини (2-5%) — панкреатичний поліпептид [43, 44]. β -клітини розташовуються переважно в центральній зоні острівця, α , δ , δ_1 і РР-клітини — по його периферії (останні також розташовуються між панкреатичними ацинусами і епітеліоцитами проток). Передня частина залози містить більше РР-клітин, тоді як в задній частині більше β -клітин. Фізіологічне значення таких регіональних відмінностей до кінця не вивчено, але наявність клітин різних типів необхідно для паракринної регуляції функції острівців Лангерганса за допомогою соматостатину. Соматостатин, в свою чергу, регулює вивільнення інших гормонів — інсуліну і глюкагону.

У ПЗ виявлений також особливий тип клітин — ациноострівкові (змішані, або перехідні), що виробляють одночасно гранули зимогена і

гормони: вони розташовуються головним чином поблизу панкреатичних острівців [45].

Кровопостачання підшлункової залози здійснюється з декількох джерел. Головка підшлункової залози з боку передньої поверхні отримує артеріальну кров з верхньої панкреатодуоденальної артерії, гілки гастродуоденальної артерії, що є притокою загальної печінкової артерії. Задня поверхня головки підшлункової залози постачається кров'ю від нижньої панкреатодуоденальної артерії, що виходить із верхньої брижової артерії. Тіло і хвіст підшлункової залози живлять від гілки селезінкової артерії [46]. Артерії, розгалужуючись в сполучнотканинних перегородках часточок, утворюють багаті капілярні мережі, що обплітають ацинуси, жовчну протоку і острівці Лангерганса. Венозний відтік відбувається через панкреатодуоденальні вени, що впадають в селезінкову вену, верхню і нижню брижову, а також ліву шлункову вену, які в свою чергу утворюють ворітну вену [47].

Іннервація ПЗ відбувається за рахунок гілок селезінкового, печінкового, верхнього брижових і черевного сплетінь. Від цих сплетінь до залози відходять як симпатичні так і парасимпатичні нервові волокна які заходять в ПЗ разом з кровоносними судинами, супроводжують їх і проникають до часточок залози [48]. Парасимпатична іннервація ПЗ здійснюється ще за допомогою гілок правого блукаючого нерва. Паренхіма підшлункової залози багата нервовими рецепторами. Іннервація острівців Лангерганса відокремлена від іннервації залозистих клітин підшлункової залози і здійснюється гангліозними клітинами вегетативної нервової системи [49, 50].

Хотілося б зупинитись окремо на будові ПЗ у гризунів, оскільки експериментальні дослідження даної дисертаційної роботи виконані на білих щурах. За одними описами в ПЗ розрізняють праву і ліву частки. Ліва частка прилягає до ДПК, права лежить позаду шлунку [51]. Інші дають наступне

визначення ПЗ щура — великий, плоский, дифузний орган непостійних обрисів, розташований в брижі тонкої кишки, зв'язаний з шлунком, краніальним і низхідним відділами ДПК. Як і у людини, ПЗ щурів складається гроноподібних часточок, пов'язаних пухкою сполучною тканиною, що деревоподібно розгалужуються. ПЗ щура, як і ПЗ людини, має три основні частини: головка (дуоденальна частина), тіло (пілорична частина) і хвіст (шлунково-селезінкова частина). ПЗ щурів відрізняється від ПЗ людини більшою рихлістю, вигинами і розгалуженістю [52]. Через ПЗ проходить частково жовчний протік. ПЗ секретує два важливих ферменти — ліпазу і трипсин, що беруть участь у травленні. Для щурів характерно те, що протягом життя в ПЗ можуть утворюватися нові клітини Лангерганса, відповідальні за вироблення інсуліну. [51, 53]. У щурів в острівках Лангерганса також розрізняють α - та β -клітини. α -клітини розташовуються у вигляді смуги, яка огортає β -клітини [54]. В ПЗ багатьох ссавців, у тому числі гризунів (мишей, щурів), існують комплекси, утворені ендокринними клітинами острівців ПЗ і нервових структур (нервові волокна, тіла нервових клітин), так звані нейро-острівкові комплекси [55-57]. Крім того, гліальні клітини Шванна були виявлені на периферії острівців ПЗ в деяких ссавців (мишей, щурів, кроликів і т.д.) з використанням електронної мікроскопії та імуногістохімії. Ці клітини були імунореактивними до білка S100 і гліального фібрилярного кислого білку [56, 58].

1.1.2. Ендокринна та екзокринна функція підшлункової залози

Підшлункова залоза належить до залоз змішаної секреції. У відповідності з виконуваними функціями розрізняють екзокринну і ендокринну частини [38]. Ендокринну частину ПЗ утворюють острівці Лангерганса (панкреатичні острівці), які складають 2% від загального об'єму ПЗ [59]. Розрізняють п'ять типів клітин в острівцях Лангерганса [60]. α -

клітини (типу А) розташовані по периферії, що виробляють глюкагон. β -клітини (типу В) більш крупні і займають центр острівка, продукують гормон інсулін. Ці гормони виділяються в кров і активно беруть участь у регуляції вуглеводного обміну в організмі [61]. В будові β -клітини розрізняють наступні компоненти: ядро з чітко вираженим ядрцем, комплекс Гольджі, гладенька та гранулярна ендоплазматична сітка, мітохондрії, мікротрубочки, мікрворсинки, а також секреторні гранули двох типів. Гранули, що містять гранульовану серцевину різної форми, та гранули з аморфним вмістом, що вказує на недозрілість цих гранул. Відповідно в першому типі гранул міститься конденсований інсулін, тоді як в другому типі — проінсулін [62, 63]. Глюкагон збільшує рівень глюкози в кров'яному руслі стимулюючи розпад глікогену та процеси глюконеогенезу в печінці [64].

Основна функція інсуліну в організмі полягає в зниженні рівня цукру в крові. Це відбувається за рахунок того, що інсулін призупиняє утворення в печінці глюкози, підвищуючи кількість цукру засвоєного тканинами нашого організму за рахунок проникності клітинних мембран. І водночас цей гормон призупиняє розпад глікогену [65]. Якщо ж відбувається порушення даного взаємозв'язку, то рівень концентрації глюкози в крові починає зростати, що призводить до цукрового діабету. А саме, як ми знаємо, діабет 1 типу пов'язаний з аутоімунним руйнуванням β клітини, що призводить до недостатності інсуліну та гіперглікемії [66].

В ендокринній частині ПЗ виділяють δ -, δ_1 -клітини та ϵ -клітини, які виробляють соматостатин, ВІП і грелін відповідно [67, 68]. Для δ -клітин характерна наявність комплексу Гольджі. Соматостатин гальмує виділення α - і β -клітинами глюкагону і інсуліну, затримує виділення панкреатичного соку екзокринною частиною, знижує моторику шлунку, ДПК і жовчного міхура [69, 70]. ВІП знижує артеріальний тиск, підвищує функцію екзокринної та ендокринної частин органу [71].

РР клітини синтезують панкреатичний поліпептид [72, 73]. РР посилює моторику шлунку та виділення шлункового соку, гормонів острівців Лангерганса, впливає на насиченість організму [74].

Крім того, в острівцях були виявлені клітини місцевої ендокринної регуляції, що виробляють гастрин, тіроліберін і соматоліберин [60]. Острівці Лангерганса є у всіх відділах ПЗ, але найбільше їх в області хвоста. Острівці Лангерганса забезпечені кровоносними судинами і не мають вивідних проток, тобто володіють внутрішньою секрецією.

Екзокринна функція підшлункової залози полягає в продукції травних ферментів та бікарбонатів, виведенні їх у просвіт ДПК через систему вивідних проток [75]. У фізіологічних умовах ПЗ залежно від віку утворює за добу від 1 до 2 л підшлункового соку, який має лужну реакцію ($\text{pH}=7,8-8,4$). До його складу входять органічні (білки) та неорганічні компоненти (бікарбонати, електроліти, мікроелементи). Ферментна частина секрету утворюється в ацинарних клітинах, рідка (водно-електролітна) — муцин і бікарбонати — в епітелії протоків. Бікарбонати забезпечують нейтралізацію кислого шлункового вмісту, що створює в кишці оптимальне рН для панкреатичних та кишкових ферментів. Ферменти підшлункового соку забезпечують розпад полісахаридів (амілаза), білків (трипсин, хімотрипсин, еластаза, карбоксипептидаза), жирів (ліпази, естерази), нуклеїнових кислот (рибо- та дезоксинуклеази). Синтез та виділення ферментів в систему проток відбувається відносно постійно і збільшується у відповідь на прийом їжі. Склад панкреатичного соку залежить також від компонентів їжі [76, 77].

1.1.3. Особливості будови підшлункової залози у щурів

У щурів підшлункова залоза — *pancreas* — великий, плоский дифузний орган, непостійних обрисів, розташований в брижі тонкої кишки, пов'язаний

зі шлунком і краніальним та низхідними відділами дванадцятипалої кишки. Має характерну будову — складається з окремих маленьких гроноподібних часточок *підшлункової залози* — *lobuli pancreatis*, з'єднаних пухкою сполучною тканиною в одне деревоподібне утворення, що розгалужується. Анатомічно може бути поділена на три частини. Перша — дуоденальна частина («голівка» підшлункової залози) знаходиться в U-подібному вигині дванадцятипалої кишки, каудальніше загальної жовчної протоки. У її дистальну частину впадає велика *каудальна протока підшлункової залози* — *d. pancreaticus caud.*, що несе панкреатичний сік від дуоденальної частини. Друга частина залози — біліарна (жовчна) складається з великої кількості окремих часточок, розташованих уздовж загальної жовчної протоки; кожна часточка має свою власну протоку, що відкривається у загальну жовчну протоку. Третя частина — шлунково-селезінкова — розташована зліва від двох попередніх, в шлунково-селезінковому сальнику. Основна маса цієї частини підшлункової залози прилягає до шлунку, а каудальні відділи оточують стовбур селезінкової вени. Приблизно від середини цієї частини залози відходить велика краніальна протока підшлункової залози — *d. pancreaticus cran.*, що впадає в проксимальну частину загальної жовчної протоки. Латеральні ділянки шлунково-селезінкової частини знаходяться біля воріт селезінки і пронизані її дрібними венами. Іннервація — *n. vagus*, *n. sympathicus*; кровопостачання — гастродуоденальна гілка *a. hepatica*, гілки *a. lienalis*, *a. pancreaticoduodenalis inf.* [51].

1.2. Патофізіологічні аспекти захворювань підшлункової залози

ПЗ знаходиться в безпосередньому функціональному та анатомічному взаємозв'язку з іншими органами травної системи: шлунком, ДПК, печінкою

та системою жовчовиділення. Ця обставина визначає велику взаємозалежність стану здоров'я ПЗ і прилеглих органів травлення. Панкреатит — це запалення підшлункової залози [78-81]. Хвороба може протікати в гострій (швидко і бурхливо) або хронічній (довго і мляво) формі, з періодами загострення. Вживання алкоголю і захворювання жовчного міхура (насамперед, жовчнокам'яна хвороба) у 95-98% випадків є причинами розвитку панкреатиту. Інші фактори ризику, які можуть спровокувати запалення підшлункової залози наступні:

- захворювання дванадцятипалої кишки (дуоденіт, виразкова хвороба);
- операції на шлунку і жовчовивідних шляхах;
- травми, поранення живота;
- ендоскопічна ретроградна холангіопанкреатографія (ЕРХПГ);
- прийом деяких ліків (фуросемід, естрогени, антибіотики, сульфаніламідні etc.);
- інфекції (епідемічний паротит (свинка), вірусні гепатити В, С, та ін.);
- паразитарні інвазії (аскаридоз);
- анатомічні аномалії протоки підшлункової залози (звуження, пухлини і т.д.)
- порушення обміну речовин;
- зміна гормонального фону;
- судинні захворювання;
- спадкова схильність (т.зв. спадковий панкреатит) [82].

Проблема гострого панкреатиту на теперішній час є однією з найбільш складних і невирішених у сучасній панкреатології [83]. Захворюваність на гострий панкреатит за даними ВООЗ складає 20-80 випадків на 100 000 населення в рік. В Україні цей показник дорівнює 102 на 100000 населення

[84]. Важка форма складає близько 15% всіх випадків гострого панкреатиту. При некротичному панкреатиті (НП) летальність досягає 20-40% [85]. Висока летальність при НП пов'язана з надмірною активацією протеолізу, тяжким ендотоксикозом і гнійно-некротичними ускладненнями, спричиненими як ураженням самої підшлункової залози, так і парапанкреатичної клітковини [81].

Гострий панкреатит характеризується порушенням мікроциркуляції в ПЗ, гіпоксією та некрозом [86]. Понад 100 років тому Chiari заявив, що гострий панкреатит — це хвороба аутоперетравлення, при якій підшлункова залоза уражається власними ферментами [87]. При фізіологічних умовах більшість потенційно небезпечних травних ферментів, які виробляються ацинарними клітинами ПЗ, синтезуються та секретуються як неактивні зимогени, що активуються лише при потрапленні до ДПК. Таким чином, значний інтерес сфокусований на механізмах передчасної активації ферментів ПЗ, таких як трипсин, хімотрипсин, еластаза та фосфоліпаза А, які викликають перетравлення клітинних мембран, що, в свою чергу, призводить до набряку тканин, інтерстиціальних крововиливів, пошкодження судин, активації процесів коагуляції та некрозу. В результаті настає загибель клітин ПЗ [88]. В роботах декількох груп дослідників є припущення, що медіатором внутрішньоклітинної активації трипсиногену є лізосомальна гідролаза катепсин В [87, 89]. А трипсин, який утворюється з трипсиногену, може активувати інші травні ферменти зимогени. На користь цього свідчить той факт, що блокада катепсину В запобігає активації трипсиногену та зменшує важкість перебігу гострого панкреатиту [90]. Також на експериментальних моделях гострого панкреатиту показано, що на ранніх стадіях розвитку гострого панкреатиту, викликаного стимуляторами або дієтою, має місце ко-локалізація травних ферментів та лізосомальних гідролаз всередині великих цитоплазматичних вакуолей [91-94]. Однак, причина впливу катепсину В на трипсиноген в ацинарних клітинах залишається нез'ясованою. Можна

припустити, що такі пошкоджуючі фактори як хімічні, механічні, мікробіологічні можуть бути тригерами інтраацинарної активації трипсиногену [95].

Слід зазначити, що в роботах останніх років заперечується роль феномену ко-локалізації та роль катепсину В в активації трипсиногену в ацинарних клітинах [87]. Тобто, дана проблема потребує подальших досліджень.

Незалежно від етіології гострих панкреатитів, перші зміни в ПЗ виникають на рівні ацинарних клітин [96]. Первинне ураження ацинарних клітин призводить до внутрішньопанкреатичної активації трипсиногену та блокади секреції ферментів. Після цього дуже швидко (протягом хвилин) відбувається вивільнення вільних радикалів кисню [97, 98], які є відповідальними за ураження клітинних мембран та цитоскелету, перекисне окислення ліпідів, виснаження запасів внутрішньоклітинних антиоксидантів, таких як зменшення глутатіону та вітамінів А, Е, С, та транслокація ядерного фактору каппа В (NF-Карра В) в ядро [99].

Транслокація NF-Карра В в ядро добре продемонстрована на різних моделях експериментального гострого панкреатиту, наприклад, викликаного церулеїном [100], таурохолатом [101] або перев'язкою жовчного протоку [102]. Протягом перших 15 хвилин після початку виникнення гострого панкреатиту, викликаного введенням церулеїну, відбувається фосфориляція гальмівного фактору каппа В альфа (ІКарра В α), а потім ІКарра В β , що приводить до відділення NF-Карра В одиниці. Ці події викликають вивільнення та ядерну транслокацію NF-Карра В1, потім RelA ρ 65 і, насамкінець, NF-Карра В2 [100, 103]. Запалення на клітинному рівні може бути описано, як зростання прозапального фактору транскрипції ядерного фактору кВ (NF-кВ) у ядрі з одночасним зниженням його інгібіторів ІкВ- α та/або ІкВ- β . p47^{phox} ключовий протеїн НАДФ оксидази, здатний утворювати супероксидні радикали з молекулярного кисню [104]. p47^{phox} являється показником експресії НАДФ оксидази і підвищується після прийому глюкози

або змішаної їжі, та знижується під час голодування [104]. В ядрі NF- κ B в одиниці викликають транскрипцію декількох генів-мішеней. В результаті чого відбувається внутрішньоацинарна транскрипція хемокінів — моноцит-хемоаттрактантного білку 1 (MCP-1), MIP-1, інтерлейкіну-8 (IL-8), інтерферон індукційного білку 10 (IP-10), тощо. Все це відбувається протягом перших 30 хвилин. Протягом наступної години відбувається транскрипція прозапальних цитокінів, таких як IL-1, фактору некрозу пухлин альфа (TNF- α), IL-6 або молекул адгезії, таких як міжклітинні молекули адгезії ICAM-1 [105]. Така експресія та вивільнення хемокінів, молекул адгезії і прозапальних цитокінів є відповідальними за інвазію в тканину ПЗ мономакрофагів, T лімфоцитів та поліморфонуклеарних нейтрофілів, а також за їх активацію та вивільнення під їх впливом прозапальних медіаторів (таких як хемокіни, цитокіни, NO, еластазу, тощо). Це посилює каскад прозапальних реакцій в ПЗ, що в кінці кінців активує клітини Купфера в печінці. Печінкові мономакрофаги, які є головним джерелом прозапальних цитокінів в організмі, викликають синдром системної запальної відповіді та поліорганну недостатність. На експериментальних моделях гострого панкреатиту показано, що блокада клітин Купфера печінці зменшує рівень прозапальних цитокінів в плазмі, важкість гострого респіраторного дистрес синдрому та відносну смертність [106, 107].

Хронічний панкреатит — це постійно прогресуюче руйнування ПЗ, що призводить до екзокринної і ендокринної недостатності і, найчастіше, хронічного болю [108-112]. Біль і явища інтоксикації можуть приєднуватися до розладів травлення при розвитку загострення, крім того, при такому варіанті перебігу хвороби клітини Лангерганса, що виділяють інсулін і глюкагон, можуть також заміщатися сполучною тканиною — у хворого розвивається клінічна картина цукрового діабету першого типу. Етіологія є багатофакторною. Алкоголізм відіграє значну роль в дорослих, в той час як генетичні та структурні дефекти переважають у дітей [113].

Хоча біль є найбільш поширеним симптомом (85% пацієнтів) при хронічному панкреатиті [109], остаточно його механізм нез'ясований і обговорюється до тепер [114-116]. Існує декілька гіпотез, і біль, ймовірно, виникає в результаті їх комбінації. Перша називається внутрішньопотокова та інтерстиціальна теорія гіпертонії [117, 118]. Підвищення тиску в протоках пов'язане з їх звуженням або наявністю каменів, інтрапаренхіматозною гіпертензією, як наслідок виникає фіброз і набряк, що в свою чергу може активувати внутрішні больові рецептори ПЗ. Нейрогенна теорія пов'язана з внутрішнім нервовим ушкодженням ПЗ [119]. Медіатори запалення з інфільтруючих лімфоцитів відповідають за збільшенням сигналів вздовж аксонів болечувливих нейронів, які в кінцевому рахунку можуть привести до "центрально сенсibiliзованого" стану болю [120]. Відомо, що головка ПЗ називається "пейсмейкером" болю при хронічному панкреатиті. Вона дуже часто збільшена і може бути замінена запальною масою, що може привести до стенозу загальної жовчної або дванадцятипалої протоки [120]. Інше пояснення цього болю може бути стиснення сусідніх органів шляхом псевдокіст.

Лікування болю може бути декількома методами. Спочатку призначається медична терапія або ж ендоскопічне втручання, і як останній варіант хірургічне лікування [121]. За результатами рандомізованих досліджень ефект від хірургічного лікування є найбільш ефективним, ніж ендоскопічного [122]. Менш часто використовуються блокада сонячного сплетіння, торакокопічна спланхектомія або повна панкреатотомія з аутотрансплантацією острівкових клітин. Ці методи використовуються зрідка, коли всі інші варіанти не є дієвими і тільки в ретельно відібраних пацієнтів [123].

Щодо патофізіологічних аспектів хронічного панкреатиту, всі дослідження в основному були проведені на людях, які вживають алкоголь [124] Передбачається, що коли людина піддається ризику впливу токсинів чи окисного стресу, виникає гострий панкреатит. Якщо вплив триває, то ранні та

пізні запальні реакції призводять до утворення профібротичних клітин, в тому числі зірчастих клітин. Це в свою чергу може привести до відкладення колагену, пери ацинозного фіброзу і хронічного панкреатиту [125, 126].

Аутоімунний панкреатит становить від 5 до 6% хронічних панкреатитів і характеризується аутоімунним запальним процесом, лімфоцитарною інфільтрацією, фіброзом, і дисфункцією підшлункової [127, 128]. Патофізіологічні механізми захворювання залишаються невідомими, але висловлювалося припущення про зв'язок між аномальною експресією людського лейкоцитарного антигену на ацинарні і протокові клітин та утворенням ауто антигенів [129].

Гіпертригліцеридемія (або хіломікронема) становить 1-7% випадків панкреатиту [130, 131]. Цей відсоток особливо підвищений за певних умов, таких як діабет або вагітність [132]. Діагноз панкреатит викликаний гіпертригліцеридемією слід розглядати за наявності рівня тригліцеридів вище 20 ммоль/л [130, 133]. Передбачається, що накопичення найбільших тригліцеридвмісних ліпопротеїдів призводить до ішемії в мікроциркуляції ПЗ. Крім того, прозапальні неетерифіковані вільні жирні кислоти, отримані від етерифікації хіломікронів-тригліцеридів може привести до вивільнення медіаторів запалення і вільних радикалів, які сприяють подальшому ушкодженню ПЗ [134].

Відмінною рисою хронічного панкреатиту є фіброз підшлункової залози. Головну роль у цьому процесі забезпечують зірчасті клітини. Зірчасті клітини є резидентні клітини ПЗ, розташовані на базолатеральній мембрані ацинарних клітин. За нормальних умов зірчасті клітини знаходяться в стані спокою, виконують роль в синтезі матричних білків (матриксні металопротеїнази (ММП)). Під час некро-запального процесу, зірчасті клітини активуються і перетворюються на міофібробласти, які беруть участь у виробництві білків позаклітинного матриксу, таких, як колаген I і III, фібронектин і ламінін. Фактори ушкоджень, такі як TGF- β , тромбоцитарний фактор росту (PDGF) і

прозапальні цитокіни, стимулюють проліферацію зірчастих клітин і виробництво білків позаклітинного матриксу [135]. Зокрема, активовані зірчасті клітини також виробляють підвищену кількість матриксної металопротеїнази-2 (ММП2) [136]. Порухення синтезу колагену IV полегшує відкладення фібрилярного колагену, що спостерігається під час фіброзу ПЗ.

Крім того, деякі генетичні мутації були пов'язані з хронічним панкреатитом [137, 138]. В дослідження Rosendahl та співавт. визначила дві мутації в гені хімотрипсину С, які значно частіше зустрічаються в групі пацієнтів з ідіопатичним та спадковим хронічним панкреатитом [139].

Рак ПЗ залишається одним з найбільш смертоносних видів раку в усьому світі, і має погану виживаність до 5% [140-142]. Вчасна діагностика раку ПЗ підвищує шанс на виживання, але він не перевищує 23%. На сьогоднішній день використовується ряд сучасних методів діагностики раку ПЗ, а саме: ультразвукове дослідження, комп'ютерна томографія, магнітно резонансна томографія, позитронноemisійної томографії, і ендоскопічна ультрасонографія [143]. Новоутворення ПЗ можуть розвиватися з клітин, що забезпечують секрецію травних ферментів - в цьому випадку виникає рак, або розвиватися з клітин, які секретують гормони — в цьому випадку виявляють гормонально-активні пухлини. На жаль, до теперішнього часу не створено надійної методики, яка дозволяє вловити момент трансформації панкреатиту в злоякісну пухлину [144, 145].

Причини раку ПЗ залишаються невідомими. Однією з точно встановлених є паління. Ризик раку ПЗ у курців становить 2,5 до 3,6 разів вище, ніж у некурящих [146]. Деякі дослідження показали, збільшення випадків раку ПЗ серед пацієнтів з історією діабету та хронічним цирозом, з високим вмістом жирів, холестерину, і попередня холецистектомія [147, 148]. Не відкидається думка, щодо генетичної схильності до цього захворювання. Приблизно від 5 до 10% пацієнтів з раком ПЗ мали в сімейному анамнезі це захворювання

[149]. В світовій літературі існує думка, що панкреатит може бути фактором ризику розвитку раку ПЗ [150, 151].

Спробуємо розібратися в механізмі утворення ракових клітин. За даними літератури рак ПЗ є результатом послідовного накопичення генних мутацій [152]. Рак виникає в епітелії протоків та еволюціонує від передракових уражень до повністю інвазивного раку. Це ураження називається інтраепітеліальна неоплазія і є добре охарактеризованим гістологічним попередником раку ПЗ [153]. Перехід від початкової дисплазії епітелію (інтраепітеліальної неоплазії типу 1А і 1В) до більш важкої дисплазії (інтраепітеліальної неоплазії типу 2 і 3) і, нарешті, інвазивної карциноми йде паралельно з послідовним накопиченням мутацій, які включають активацію онкогена KRAS2, інактивацію гена пухлинного супресора-CDKN2A (який кодує інгібітор циклін-залежну кіназу 4 [INK4A]) і, нарешті, інактивацію генів-супресорів пухлин TP53 і видалення гена 4 з сімейства SMAD генів [154]. Ця послідовність подій в підшлунковій канцерогенезу підтверджується дослідженнями в генній інженерії на мишачих моделях, в яких активували онкоген Kras2 з супутньою інактивацією Trp53 або Cdkn2A/Ink4A, і як результат виникав рак у ПЗ, який був ідентичним захворюванню у людини [155, 156]. Інші передракові ураження підшлункової залози, які не так добре охарактеризовані, включають внутрішньоопідшлункові муцинозні неоплазії і муцинозні кістозні неоплазії [157].

Характерною рисою раку ПЗ є утворення щільної стромы, що називається десмопластичною реакцією [158]. Зірчасті клітини (міофібробласти) відіграють важливу роль у формуванні стромы. Для активації факторів росту, таких як TGFβ1, тромбоцитарний фактор росту (PDGF), і фактор росту фібробластів, ці клітини секретують колаген та інші компоненти позаклітинного матриксу. Зірчасті клітини, виявляється, також відповідають за слабку васкуляризацію, що є характерним для раку ПЗ [159, 160].

Роль ангиогенезу в виникненні раку ПЗ залишається спірним. Хоча ранні дані вказували, що рак ПЗ є ангиогенез залежним, як і більшість пухлин, лікування раку інгібіторами ангиогенезу виявилось невдалим у пацієнтів. Недавнє дослідження на мишачій моделі показало, що пухлини в цій моделі були погано перфузовані і мали погано розвинену судинну мережу, ці властивості є спільними і для людини. Ця обставина може бути причиною неефективної доставки ліків при лікуванні раку ПЗ [161].

1.3 Патофізіологічна роль ожиріння у розвитку захворювань підшлункової залози

1.3.1 Ожиріння як фактор ризику розвитку супутніх захворювань

Ожиріння вважається епідемією XXI ст. і є проблемою більшості розвинених країн та країн що розвиваються [162-165]. Ожиріння — це хронічне захворювання обміну речовин, що проявляється надлишковим розвитком жирової тканини та має ряд ускладнень. Причиною ожиріння є зловживання алкоголем, надлишок жирів в їжі, низький рівень енергозатрат [166-171].

На думку деяких дослідників при ожирінні підвищується частота випадків раку стравоходу, шлунку, товстого кишечника, прямої кишки, підшлункової залози, жовчного міхура, молочної залози, матки, яєчників та нирок [166, 172-179]. Також було показано, що ожиріння пов'язане з оксидативним стресом, а також з підвищенням експресії у тканинах і концентрації у плазмі крові прозапального цитокіну фактору некрозу пухлин (TNF- α) [180, 181]. Прийом макронутрієнтів призводить до оксидативного стресу та прозапальних змін у плазмі та мононуклеарних клітинах у

периферичній крові. Відзначається підвищення інтерлейкіну-6 та інших прозапальних факторів таких, як С-реактивний протеїн (CRP) та інгібітор активатора плазміногену (PAI-1) [182, 183]. Вважається, що метаболічний/запальний стан сприяє розвитку синдрому системної запальної відповіді та органної дисфункції при гострому панкреатиті [184].

Згідно МКХ-10 ожиріння поділяється на: місцеве ожиріння (E.65), ожиріння (E.66), інші види надмірного харчування (E.67), наслідки надмірного харчування (E.68).

Типи ожиріння

Ґрунтуючись на тому у яких ділянках тіла переважно накопичується жир можна виділити 3 види ожиріння:

-андроїдне ожиріння — характерною рисою цього типу є накопичення жиру в області тулуба (живіт, пахвинні ділянки), частіше зустрічається у чоловіків тому цей вид називається ожиріння за чоловічим типом;

-гіноїдне ожиріння — цей тип характеризується переважним накопиченням жиру під шкірою стегон та нижньою частиною живота, зустрічається в основному у жінок, звідси і друга назва — ожиріння за жіночим типом;

-змішаний тип ожиріння характеризується рівномірним розподіленням жиру по тілу.

Можна виділити абдомінальне ожиріння, як підвид андроїдного, — у цьому випадку надлишковий жир накопичується в області живота (під шкірою та навколо внутрішніх органів), у так званій абдомінальній області. Саме з відкладенням зайвого жиру абдомінальній області напряду пов'язують більшість супутніх ожирінню захворювань (підвищений артеріальний тиск цукровий діабет та ін.).

Для визначення абдомінального ожиріння використовується досить простий спосіб — необхідно знайти відношення окружності талії до

окружності стегон. Якщо отриманий коефіцієнт більше 1 (для чоловіків) або більше 0,85 (для жінок), то цей факт свідчить про накопичення жирової тканини у абдомінальній області.

Виділяють 2 підтипи абдомінального ожиріння: підшкірно-абдомінальний та вісцеральний (надлишковий жир накопичується безпосередньо у черевній порожнині, навколо внутрішніх органів).

Саме вісцеральне ожиріння найбільш небезпечне для здоров'я — підвищується вміст жирних кислот у крові, що тягне за собою інсулінорезистентність (порушення дії інсуліну на тканини організму).

Інсулінорезистентність сприяє розвитку цукрового діабету другого типу (інсулін виробляється в потрібних кількостях на відміну від цукрового діабету першого типу, але на вуглеводний обмін належним чином цей білок впливати вже не може). Для приведення до норми вуглеводного балансу організму підвищується рівень виробки інсуліну для компенсації недостатнього впливу на тканини, тобто виникає гіперінсулінемія, яка у свою чергу призводить до виникнення ряду інших супутніх ожирінню захворювань (підвищений артеріальний тиск, ішемічна хвороба серця и т.д.).

Ожиріння без перебільшення можна назвати епідемією світового масштабу. За даними вчених з університету Північної Кароліни кількість людей з надлишковою масою тіла перевищує кількість голодуючих. Це стосується як багатих країн та країн що розвиваються. У Сполучених Штатах та інших країнах, ожиріння різко зросло з 1980 року. У період з 1980 по 2004 рік поширеність ожиріння зросла з 15% до 33% серед дорослого населення і поширеність надлишкової маси тіла у дітей зросла більш ніж на 6% — до 19% [185-188]. Надмірна вага в дитинстві часто призводить до ожиріння у дорослому віці [189].

Ожиріння у дорослих пов'язані з підвищеним ризиком захворюваності та смертності [190, 191].

Воно стосується всіх верств населення, незалежно від соціальної і професійної приналежності, віку, статті, місця проживання [13, 166, 192]. При цьому все частіше спостерігається розвиток ожиріння у молодому віці. За даними ВООЗ у світі нараховується понад 1 млрд. людей з надмірною масою тіла ($IMT > 27 \text{ кг/м}^2$), з них 300 млн. страждають на ожиріння ($IMT > 30 \text{ кг/м}^2$) (ВООЗ, 2003) і кожні 10 років кількість хворих збільшується на 10% [166, 193]. В Україні 27% міського населення мають надмірну масу тіла, у 21% жінок діагностують ожиріння; 33% чоловіків мають надмірну масу тіла, а 12% — ожиріння. У сільській місцевості ці показники значно більші: у 32% жінок відзначають надмірну масу тіла і у 36% — ожиріння; у чоловіків — відповідно 35 і 18% [166]. У США, наприклад, серед дорослого населення 71% чоловіків та 62% жінок мають надлишкову масу тіла [193, 194], а ожиріння — 27% [166]. За останні 10 років ожиріння зросло в середньому на 75% і подальше збільшення числа осіб із зайвою вагою прогнозується в усіх регіонах світу. За прогнозами епідеміологів, до 2025 р. ожиріння спостерігатимуть у 40% чоловіків і 50% жінок [166]. На сучасному етапі ожиріння розглядається як один з компонентів метаболічного синдрому [172, 195-198].

Існує п'ять моногенних моделей ожиріння у мишей: огрядні (ob), діабетичні (db), agouti (жовті), бочкоподібні (tub) і жирні. В цих моделях були клоновані патологічні гени.

Модель огрядної миші (ob) вперше описана у 1950 р. Огрядний фенотип передається аутосомно-рецесивним шляхом. Парабіотичні експерименти показали, що нормальна миша стає гладкою при харчуванні глутаматом натрію (ГН) через трубочку, або при пошкодженні вентромедіальних ядер гіпоталамусу, у яких формується гуморальний сигнал, що знижує харчування у парабіотичного партнера. Парабіоз об миші з нормальною, зменшував споживання нею їжі і знижував масу тіла. Цей експеримент показав, що об миша страждає генетичним розладом, що призводить до недостатньої продукції гуморального фактора, що знижує споживання їжі у відповідь на

ожиріння. У 1994 р. була описана послідовність об гена. З тих пір був ідентифікований білок — продукт гена, названий лептин (від гр. leptos — тонкий). В даний час відомо, що лептин — це гормон, який регулює енергетичний обмін, і секретується жировою тканиною відповідно до маси тіла. Введення лептину об мишам призводить до зниження маси тіла за рахунок зменшення прийому їжі і збільшення енергетичних витрат. При ожирінні відбувається значна втрата маси тіла, при малій масі втрата відбувається незначна. Лептин також виробляється в організмі людини, однак було всього один або два випадки з тисяч обстежених, коли дефіцит лептину виступав в якості причини ожиріння. Замість цього, багато дослідників вважають, що рівень лептину у огрядних людей підвищений в порівнянні з худими; це показує, що ожиріння у людини пов'язано скоріше з резистентністю до лептину, ніж з його дефіцитом. Рівень лептину знижується при тривалому голодуванні, але склад поживних компонентів у раціоні на нього не впливає. Резистентність до екзогенного лептину разом з ожирінням може бути індукована у щурів при годуванні їх їжею з високим вмістом жирів. Рівень лептину нижче у ВІЛ-позитивних пацієнтів та хворих анорексією, які втрачають вагу; він знижується у огрядних пацієнтів в міру зниження жирової маси. Вважається, що лептин — надійний маркер загального ожиріння і помітно корелює з іншими маркерами жирової тканини. Велика кількість лептину циркулює в плазмі у зв'язаному з білками стані. У гладких людей відзначається підвищений рівень вільного лептину. У популяційних дослідженнях відзначалася значна варіабельність рівня лептину незалежно від кількості жиру. Багато досліджень продемонстрували, що рівень лептину вище у жінок, ніж у чоловіків і знижується з віком.

Інша аутосомно-рецесивна модель ожиріння — db миші (миші з діабетом). У цих мишей розвивається ожиріння і діабет. При парабіотичних дослідях db миші з'єднанні з нормальними, при цьому зниження ваги у перших не відбувалося. Ці експерименти дозволили припустити, що db миші

виробляють фактор ситості, але мають дефект рецептора до нього. Велика кількість досліджень дала можливість припустити, що резистентність до лептину при ожирінні може бути викликана зниженням транспорту лептину до мозку. Ця гіпотеза підтверджується у дослідях на щурах з ожирінням, яке було викликане багатою на жири їжею: вони були чутливі до лептину, який вводився у латеральні шлуночки, але резистентні до введення лептину в кров. Зниження показника концентрації лептину у цереброспінальній рідині і плазмі було відзначено і у огрядних людей. У зв'язку з цим стало зрозуміло, що лептин в нормі впливає на центральну нервову систему, ймовірно, через короткі форми рецепторів до лептину, де він взаємодіє з довгими формами лептинових рецепторів в гіпоталамусі. В результаті цієї взаємодії відбувається зниження регуляції експресії нейропептида Y, внаслідок чого, як передбачається, відбувається зменшення прийому їжі. Напевно, найбільш широко вивченою моделлю ожиріння у гризунів є жирний пацюк Цукера (fa). Ця міогенна аутосомно-рецесивна форма ожиріння також пов'язана з мутацією лептинового рецептора.

Agouti (жовті) миші. Отримали свою назву завдяки жовтому забарвленню, що є однією з відмінних рис. Фенотип цих мишей був вперше докладно описаний в 1927 р. Крім жовтого хутра, agouti миші також відрізняються ожирінням і гіперинсулінізмом. Дефект гена у цієї моделі мишей був ідентифікований і пов'язаний з пептидом, конкуруючим з альфа-меланокортіном (МК) за зв'язування з МК рецепторами. У нормі білок-продукт цього гена запобігає зв'язування МК з рецептором, за допомогою цього відбувається зміна пігментації від чорного до жовтого. Коли відбувається повна експресія agouti, розвивається ожиріння. Ідентифікація цього патогенезу освітила роль МК рецепторів, зокрема MC4R підтипу, в регуляції маси тіла. Людський гомолог agouti був виділений, але не ідентифікований як причина ожиріння у людей.

Бочкоподібні миші (tub). Моногенна модель ожиріння мишей, що істотно відрізняється від ob і db. На відміну від раннього вираженого ожиріння, що спостерігається у ob і db, tub ожиріння має більш пізній початок і меншу вираженість. Воно асоціюється з порушенням толерантності до глюкози, дегенерацією сітківки і нейросенсорною приглухуватістю. З цією моделлю схожі рідкісні генетичні форми ожиріння у людини, такі, як синдром Барде-Бідля (ожиріння, полідактилія і пігментний ретиніт). Ген, відповідальний за розвиток даної моделі ожиріння у мишей, був клонований, і кодує білок за структурою подібний до фосфодіестерази.

Жирні миші — найменш вивчена модель ожиріння у мишей. При цьому типі ожиріння молекулярний дефект розташований у 8 хромосомі і пов'язаний з карбоксипептидазою, що розщеплює проінсулін до інсуліну. Заміщення однієї амінокислоти в цьому ферменті може знижувати конверсію прогормона в його активну форму. Вважається, що фізіологічний дефект утворення прогормону є причиною розвитку ожиріння.

1.4 Стан мікробіоти організму за умов ожиріння та застосування пробіотиків для корекції

Протягом останнього десятиліття проведено декілька наукових досліджень, спрямованих на вивчення ролі мікрофлори у процесах метаболізму макроорганізму. Backhed F. та співавт. у 2004 були піонерами в дослідженні ролі мікрофлори товстої кишки у регуляції обміну речовин [21]. Вказана публікація була поштовхом для досліджень у цій області. У 2010 р. проведено дослідження, в якому порівнювали мікрофлору кишечника у дітей, які проживають у Буркіна-Фасо та харчуються переважно їжею, багатою на

харчові волокна, з мікрофлорою кишечника у дітей, що мешкають в Італії. Використання методу секвенування генів 16S рибосомальної РНК і біохімічного аналізу дозволило виявити суттєві відмінності у складі інтестинальної мікрофлори та рівня коротколанцюгових жирних кислот між двома групами дітей. У дітей Буркіна-Фасо переважали мікроорганізми роду *Bacteroides* spp., у дітей з Італії — *Firmicutes* spp. [199]. Це свідчить про суттєві перебудови мікробіоценозу організму залежно від географічного мешкання людей та від характеру харчування.

Подальшими дослідженнями було показано, що мікрофлора кишечника змінюється у людей з надмірною масою тіла, і що мікробіоценоз кишки можна вважати екологічним чинником, який модулює розвиток ожиріння [200]. Показано, що тривале перебування на дієті з високим вмістом жирів істотно змінювало склад мікрофлори товстої кишки у мишей, зі зниженням рівня *Bifidobacterium* і *Lactobacillus*, які, як відомо, справляють багато фізіологічно позитивних ефектів, у тому числі поліпшують бар'єрну функцію слизової оболонки кишки, та збільшенням рівня *Firmicutes* і *Proteobacteria*, продуктами метаболізму яких є багато токсичних речовин [201, 202]. В іншому дослідженні порівнювали мікробіоценоз мишей із недостатньою масою тіла і мишей із генетично детермінованим ожирінням. Обидві групи мишей утримувались на однаковій вуглеводній дієті. Згідно з даними дослідження, у мишей з ожирінням відзначали зменшення на 50% кількості бактерій роду *Bacteroides* spp. та пропорційне збільшення кількості бактерій роду *Firmicutes* spp. Також у мишей з ожирінням виявляли мікроорганізми домену *Archaea* spp. (вид *Methanobrevibacter smithii*), що мають здатність підвищувати процес ферментації полісахаридів та продукують метан [203]. Калорійність фекалій мишей з ожирінням була вищою, ніж у мишей з недостатньою масою тіла, що свідчить про підвищену утилізацію калорій з їжі. Наведені дані наводять на думку, що зміни мікрофлори можуть бути етіопатогенетичним чинником за

умов ожиріння. Основні напрямки змін окремих відділів бактерій в кишечнику за умов ожиріння наведені в таблиці 1.2.

Враховуючи розвиток дисбіозу при ожирінні, в сучасній науковій літературі активно дискутується питання впливу пробіотиків на жировий обмін та ожиріння [204-207]. Було встановлено, що додавання пребіотика олігофруктози до дієти з високим вмістом жирів призводило до відновлення рівня біфідобактерій, усувало ендотоксемію та зменшувало розвиток ожиріння. Ці результати дозволяють припустити, що підвищення рівня біфідобактерій може зменшити проникність кишечника та знизити рівень циркулюючого ендотоксину. Крім того при зростанні біфідобактерій збільшується чутливість до глюкози, посилюється секреція інсуліну, знижується приріст маси тіла і продукція прозапальних медіаторів [208-210]. Також, в роботах останніх років були встановлені позитивні ефекти пробіотичних бактерій на розвиток ожиріння. Так, застосування *Lactobacillus gasseri* SBT2055 та *Lactobacillus paracasei* SS *paracasei* F19 (19) попереджувало розвиток дієт-індукованого ожиріння [206, 210].

Таблиця 1.1 — Зміни кишкової мікробіоти за умов ожиріння

Відділ	Клас	Порядок (рід)
<i>Bacteroidetes</i>	<i>Bacteroidetes</i>	<i>Bacteroidales (Bacteroides)</i>
		<i>Bacteroidales (Prevotella)</i>
<i>Firmicutes</i>	<i>Bacilli</i>	<i>Bacillales (Bacillus)</i>
		<i>Lactobacillales</i>
	<i>Clostridia</i>	<i>Clostridiales (Clostridium)</i>
<i>Actinobacteria</i>		
<i>Euryarchaeota</i> (domain Archaea)	<i>Methanobacteria</i>	

1.3.2. Стан підшлункової залози за умов ожиріння

Ожиріння та надмірна маса тіла не є окремою проблемою, бо можуть підвищувати ризик виникнення таких захворювань, як артеріальна гіпертензія та інсульт, ішемічна хвороба серця, цукровий діабет II типу, порушення ліпідного обміну, захворювання системи дихання, деякі форми раку, хронічна лімфовенозна недостатність, остеоартрит, подагра, репродуктивна дисфункція, жовчнокам'яна хвороба, геморой, місцеві ускладнення [211-215].

Дослідження, що проводяться у країнах Європи, північної та південної Америки вказують на те, що ожиріння, що супроводжує гострий панкреатит різної етіології, сприяє виникненню важкої форми панкреатиту, підвищує ризик виникнення ускладнень та збільшує смертність [216-222]. Дослідники вважають, що більша смертність у пацієнтів з ожирінням пов'язана з адитивним ефектом обширного некрозу, регуляцією хронічної запальної відповіді [223], з наступним підвищеним ризиком поліорганної недостатності і абдомінального компартмент-синдромом [224]. Але деякі дослідники не погоджуються з даними фактами, тому це питання залишається спірним [217, 218]. Крім того було встановлено, що вік пацієнтів був найзначнішим фактором, пов'язаним зі смертністю у хворих, які страждали від тяжкого гострого панкреатиту [225].

Тим не менше, в кількох клінічних дослідженнях було показано, що ожиріння посилює тяжкість захворювання, за рахунок місцевих ускладнень в ПЗ і травм у віддалених органах [226]. Ожиріння збільшує кількість випадків раннього шоку, захворюваність нирок і легеневої недостатності [227] і збільшує час госпіталізації [228]. В дослідженнях на людях, яке тривало близько трьох років, була встановлена кореляція між ожирінням та тяжкістю гострого панкреатиту [229, 230].

Проведене дослідження на тваринах [231] розглянуло вплив ожиріння на важкість експериментального гострого панкреатиту. У цьому дослідженні

порівнювали тварин з генетичним ожирінням (щури лінії Zucker) та тварин з нормальною масою тіла (контроль). Гострий панкреатит викликався введенням у протоку ПЗ натрію таурохолату. Результати показали, що виживаність серед тварин з ожирінням складає 25%, тоді як серед худих — 100%.

Механізми дії ожиріння на тяжкість гострого панкреатиту до кінця не встановлений. Була припущена гіпотеза, що у пацієнтів з ожирінням мають підвищену запальну відповідь в ПЗ [184, 232]. В дослідженні Sempere та співавт було визначено, що концентрація в сироватці інтерлейкіну-1 α (IL-1 α), антагоніста IL-1 рецептора (IL1-RA), IL-6, IL-8, IL-10 і IL-12p70 була значно вища у пацієнтів з гострим панкреатитом у порівнянні з добровольцями, та підвищена концентрація була у пацієнтів з ожирінням [233]. Одним з пояснень є те, що ожиріння саме по собі викликає хронічний запальний процес [104, 232]. Друга гіпотеза полягає в тому, що у пацієнтів з ожирінням підвищена здатність відкладення жиру всередині і навколо ПЗ, де часто виникає некроз. Ризик виникнення підшлункової інфекції і запалення буде пропорційно підвищений кількості пери-підшлункового жиру. Відповідно, пацієнти з внутрішньо-підшлунковим жиром, більш схильні до розвитку місцевих ускладнень після хірургічних втручань на ПЗ [232, 234]. Цікавий є той факт, що експресія цитокінів в жировій тканині вища за умов ожиріння, ніж у худих суб'єктів [235]. Третя гіпотеза припускає, що за умов ожиріння в ПЗ знижена мікроциркуляція, ніж у пацієнтів, які не страждають ожирінням, що підвищує ризик ішемічного пошкодження з наступним виникненням місцевих інфекцій. Крім того, пацієнти з ожирінням можуть мати імунодефіцит, умова, яка збільшує ризик місцевих інфекцій [236]. Нарешті, оскільки ожиріння обмежує рух грудної стінки і діафрагми, ємність вдиху у пацієнтів з ожирінням, зменшується. Це може призвести до гіпоксії, що, в поєднанні з низьким кровотоком, додатково зменшує насичення тканин киснем в ПЗ.

Встановлений патогенетичний взаємозв'язок між ожирінням і тісно пов'язаним з ним метаболічним синдромом з одного боку та хронічним панкреатитом — з іншого [237].

Клер та співавт. висунули гіпотезу, що хронічний панкреатит і зовнішньо секреторна недостатність ПЗ в ряді випадків розвиваються як результат метаболічного синдрому [238]. Перш за все, розвитку метаболічного синдрому і панкреатиту (як гострого, так і хронічного) сприяє надмірне споживання жирної їжі та алкоголю. Цьому ж сприяє сучасний «американський» стиль харчування в закладах швидкого харчування. Під час розвитку метаболічного синдрому порушується гормональний фон з підвищенням в крові рівня естрогенів або андрогенів. При збільшенні в крові вмісту естрогенів формується антиатерогенний ліпідний профіль, а холестерин який надходить з їжею в основному виділяється в жовч. Внаслідок цього жовч перенасичується холестерином, в ній утворюються мікроліти, а потім і конкременти [239]. При тривалому травмуванні мікролітами області фатерова соска формується папілостеноз, який, в свою чергу, сприяє розвитку внутрішньопротокової панкреатичної гіпертензії, обструктивного хронічного панкреатиту. При панкреатиті прогресує функціональна недостатність ПЗ, в тому числі ендокринна [240]. Вона включається в патогенез метаболічного синдрому, посилюючи прояви цукрового діабету. Таким чином замикається перше патогенетичне кільце [238].

Підвищення рівня андрогенів в крові сприяє прогресуванню атеросклерозу. Порушення трофіки ПЗ, як і інших органів черевної порожнини, прискорюють її фіброзування і прогресування панкреатичної недостатності. В цьому випадку знову формується панкреатогенний цукровий діабет, який посилює прояви метаболічного синдрому (друге патогенетичне кільце). Взагалі ожиріння, як компонент метаболічного синдрому, само по собі сприяє зниженню зовнішньої секреції ПЗ — ймовірно, через жирову дистрофію ацинарних клітин і / або ліпоїдозу органу. Зовнішньосекреторна

панкреатична недостатність розвивається приблизно у третині випадків у хворих з ожирінням [238].

Розвитку панкреатиту сприяє і жовчнокам'яна хвороба (ЖКХ), яка є частим супутником ожиріння і загально визнаним етіологічним фактором як гострого панкреатиту, так і хронічного панкреатиту [241]. При метаболічному синдромі в патогенезі хронічного панкреатиту беруть участь і інші механізми, мають місце розлади кровообігу в ПЗ, зумовлені як функціональними, так і органічними змінами судин. Порухення внутрішньопанкреатичного кровообігу при метаболічному синдромі частіше зустрічаються і більш виражені у пацієнтів старшої вікової групи з вираженим ожирінням. Порухення термінального кровообігу в ПЗ негативно позначаються на стані як екзокринної, так і інкреторної функцій [242].

Від захворювань, які пов'язані з ожирінням, в світі щорічно помирає 2,5 млн. людей. При схудненні на 10% ризик розвитку серцево-судинної патології знижується на 9%, цукрового діабету — на 44%, смертність від онкологічних захворювань, асоційованих з ожирінням — на 40%, загальна смертність — на 20% [166]. Донедавна жирова тканина вважалася органом для збереження енергії, але протягом останнього десятиліття стало відомо, що вона може синтезувати значну кількість гормонів, серед яких лептин, резистин, адипонектин та ін.[243-246]. Вісцеральний жир (мезентеріальні адипоцити) набагато активніший в ендокринологічному плані, ніж підшкірний [247]. При надмірній масі тіла відбувається не тільки проліферація і гіпертрофія адипоцитів, але і їх інфільтрація макрофагами з подальшим розвитком запальних реакцій, внаслідок чого змінюється метаболічна активність жирової тканини [248]

Лептин, так званий гормон голоду, був першим відкритим адипокіном. У 1994 році вчені виявили у мишей з ожирінням мутацію *ob- / ob-гена*, що контролював експресію лептину. Після введення лептину встановлено, що у мишей з даною мутацією знижувалася маса тіла. У людини лептин

синтезується клітинами білої та бурої жирової тканини, скелетних м'язів, шлунку, плаценти. Н. Ларссон і співавт. виявили пряму залежність між рівнем лептину та ступенем інсулінорезистентності з урахуванням змін об'єму жирової тканини у жінок в постменопаузі. Вони припустили, що лептин є сполучною ланкою між адипоцитами і β -клітинами ПЗ і стимулює секрецію інсуліну при зниженні чутливості до нього [249].

За даними дослідників було встановлено, що гострий панкреатит у щурів і у людини пов'язаний з помітним збільшенням рівня лептину в плазмі крові. Запалення ПЗ може бути джерелом місцевого вироблення лептину. Тоді як екзогенний лептин захищає ПЗ від розвитку гострого карелеїн-викликаного панкреатиту у щурів і можливий механізм дії лептину пов'язаний з активацією оксиду азоту [250]. У 2007 році Leśniowski і співавт. знайшли істотні відмінності між концентрацією резистину при гострому панкреатиті та контрольній групі [251]. Проте в інших дослідженнях не було виявлено істотної залежності між рівнем лептину та тяжкістю гострого панкреатиту або смертністю [245, 252].

В 1995-1996 рр. чотири незалежні групи вчених, використовуючи різні методики, працювали над всебічним аналізом експресії генів жирової тканини людини [253]. Вони виділили новий сигнальний поліпептид — адипонектин. Ліндсей і співавт. досліджуючи індіанців Піма — унікальна когорта людей з дуже високою поширеністю ожиріння і діабету, виявили зниження рівня адипонектину. Крім того, вони довели, що рівень адипонектину корелює з чутливістю тканин до інсуліну, тобто гіпоадипонектинемія може призводити до інсулінорезистентності та цукрового діабету [254].

Збільшення в об'ємі перипанкреатичного жиру може збільшувати вивільнення адипокіну під час розвитку місцевого паренхімального та жирового некрозу. Цікаво, що після бариатричної хірургії кількість запальних медіаторів значно зменшується [255]. Також прозапальний стан може сприяти виникненню резистентності до інсуліну тому що TNF- α , а також можливо й

інші прозапальні цитокіни, перешкоджають дії інсуліну. Відомо, що TNF- α призводить до зниження експресії інсулінового рецептору на поверхні клітини [104].

Ожиріння і гіперліпідемія є незалежними достовірними факторами, що погіршують перебіг гострого та хронічного панкреатиту: збільшується тяжкість захворювання, підвищується ризик ускладнень, смертності. Причому цей ризик тим більший, чим більший ступінь ожиріння [256, 257]. Є дані, що вказують на те, що тип ожиріння також має значення. Особливо небезпечним в цьому відношенні є абдомінальний тип ожиріння [258]. Так було показано, що пацієнти з андройдним типом ожиріння мають більше шансів на розвиток важких форм гострого панкреатиту внаслідок підвищення системної запальної відповіді [259, 260]. Вісцеральний жир продукує більше запальних медіаторів ніж підшкірний [261]. Таким чином, зростаючий об'єм наукових даних підтверджує негативний вплив ожиріння на перебіг та прогноз гострого панкреатиту.

Наведений огляд літератури свідчить, про нез'ясованість питання, а саме роль ожиріння у розвитку запалення підшлункової залози. Тому, метою роботи було оцінити структурно-функціональний стан підшлункової залози за умов розвитку глутамат-індукованого ожиріння та корекції пробіотичними штамами лактобацил та біфідобактерій.

Для досягнення поставленої мети були сформульовані наступні задачі дослідження:

- 1) Вивчити вплив 10-, 20-, 30-ти денного введення глутамату натрію на структурно-функціональний стан підшлункової залози у щурів.
- 2) Охарактеризувати соматометричні показники, параметри жирового та вуглеводного обмінів у 4-х місячних щурів за умов неонатального введення глутамату натрію.
- 3) З'ясувати морфо-функціональний стан підшлункової залози щурів за умов розвитку глутамат-індукованого ожиріння.

- 4) Встановити соматометричні показники, параметри жирового та вуглеводного обмінів за умов розвитку глутамат-індукованого ожиріння та введення пробіотичних штамів лактобацил та біфідобактерій.
- 5) З'ясувати дію пробіотичних штамів лактобацил та біфідобактерій на морфо-функціональний стан підшлункової залози щурів за умов розвитку глутамат-індукованого ожиріння.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Дослідження проведені щурах-самцях з дотриманням нормативів Конвенції з біоетики Ради Європи 1997 року, Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей, загальних етичних принципів експериментів на тваринах, ухвалених Першим національним конгресом України з біоетики (вересень 2001 року), інших міжнародних угод та національного законодавства у цій галузі. Тварин утримували в умовах акредитованого віварію згідно зі «Стандартними правилами по упорядкуванню, устаткуванню та утриманню експериментальних біологічних клінік (віваріїв)». Прилади, що використовувалися для наукових досліджень, підлягали метрологічному контролю.

2.1. Дослідження впливу тривалого введення глютаму натрію на масу тіла статевозрілих щурів

За добу до проведення експерименту тварин піддавали харчовій депривації з вільним доступом до води. В дисертаційній роботі Фалалєєвої Т.М., 2011 було показано, що щоденне введення глютаму натрію щурам у дозах 15 і 30 мг/кг, які відповідають 1 і 2 грамам на середньостатистичну людину (безпечні для здоров'я людини дози), впродовж 20-ти і 30-ти днів приводило до збільшення маси тіла тварин, секреції гідрохлоридної кислоти та ураження слизової оболонки шлунку, що проявлялося у розвитку

крововиливів, ерозій і виразок) [263]. Оскільки в ендокринній і екзокринній частині підшлункової залози щурів знайдені для L-глутамату везикулярні глутаматні транспортери першого та другого типу та іонотропні і метаботропні глутаматні рецептори [263, 264], то в даній роботі ми вирішили дослідити вплив тривалого введення глутамату на підшлункову залозу. Дослідження проведені на 63 щурах, які були розділені на 3 групи. Щурам першої групи протягом 10, 20 та 30 днів ми вводили 0,5 мл води (per os, один раз на день). Тварини II і III групи протягом 10, 20 та 30 днів отримували 15 і 30 мг/кг глутамату натрію (0,5 мл per os, один раз на день) відповідно. Через 10, 20 та 30 днів у щурів всіх груп були проведені гістологічні та морфометричні дослідження тканини підшлункової залози. Тварин умертвляли летальною дозою уретану (3 г/кг, внутрішньоочеревинно) [265]. Після чого видаляли підшлункову залозу та фіксували у 10% нейтральному формаліні протягом 1-2 діб. Далі препарат піддавали зневодненню у розчинах етилового спирту зростаючих концентрацій (70%, 80%, 90%, 96% — по одній добі у кожному розчині), просвітленню у діоксані (0,5-2 год.) та хлороформі (1 год.), просочуванню сумішшю парафіну з хлороформом 1:1 (до 2 год. при температурі +37°C) та чистим парафіном (2 год. при температурі +56°C), після чого заливали у чистий розплавлений парафін. Парафінові зрізи шлунка завтовшки до 5 мкм виготовляли на санному мікроскопі, фарбували гематоксиліном з дофарбуванням еозином [266].

Гістологічні препарати аналізували при збільшенні мікроскопа $\times 100$, $\times 200$, $\times 400$. Кольорові мікрофотографії отримували за допомогою цифрової фотокамери Olympus C-5050 Zoom та мікроскопа Olympus BX-41 (Olympus Europe GmbH, Японія).

2.2. Дослідження впливу пробіотикотерапії на розвиток експериментального ожиріння у щурів, викликаного неонатальним введенням глутаматом натрію

На наступному етапі наших досліджень для з'ясування механізмів взаємозв'язку ожиріння і захворювань підшлункової залози ми продовжили пошук апробованої моделі вісцерального ожиріння. Враховуючи той факт, що найбільш важкою формою ожиріння є вісцеральний тип, пов'язаний з відкладенням жиру на внутрішніх органах, нашу увагу привернула модель вісцерального ожиріння, викликаного неонатальним введенням глутамату натрію. Згідно цієї моделі концентрований 3-молярний розчин глутамату натрію вводиться щурам підшкірно на 2, 4, 6, 8, 10 добу після народження у дозі 4 г/кг. Реєстрацію маси тіла, маси вісцерального жиру, вивчення функціональних показників при порушеному метаболізмі, оцінку ураженості підшлункової залози здійснювали у щурів 4-ох місячного віку [17]. Щури були розділені на 6 групи по 10 тварин в кожній. Новонародженим щурам I групи підшкірно у об'ємі 8 мкл/г вводили плацебо (фізіологічний розчин). Новонародженим щурам II-VI груп підшкірно у об'ємі 8 мкл/г вводили глутамат натрію (4 мг/г) відповідно на 2, 4, 6, 8, 10 день життя [17]. Впродовж 4 місяців після народження щури знаходилися на звичайному харчовому раціоні. Група II відповідно отримувала 2,5 мл/кг води (в/ш). III, IV, V, VI групи відповідно отримували 2,5 мл/кг водного розчину суміші пробіотиків (2:1:1 *Lactobacillus casei* IMVB-7280, *Bifidobacterium animalis* VKL, *Bifidobacterium animalis* VKB; *Bifidobacterium animalis* VKL; *Bifidobacterium animalis* VKB; *Lactobacillus casei* IMVB-7280 відповідно) у дозі 5×10^9 КУО/кг (50 мг/кг) (внутрішньошлунково, в/ш). Введення починали через 4 тижні після народження та продовжували двотижневими курсами з перервами у 2 тижні.

Впродовж 4 місяців у щурів всіх груп було проведено аналіз змін маси тіла. 4-місячних тварин декапітували, збирали кров у пробірки, видаляли та зважували вісцеральний жир. Вимірювали довжину тіла, розраховували індекс маси тіла (ІМТ) (відношення маси тіла (г) щурів до квадрату довжини тіла (см²)) та індекс Лі (відношення кубічного корення маси тіла (г) щурів до довжини тіла у сантиметрах).

Кров відстоювали не менше 30 хв при температурі 20°C і центрифугували 10 хв при 1000g, після чого здійснювали відбір сироватки крові. Всі отримані експерименти були занесені до журналу досліджень.

Визначення вільного та загального холестерину в біологічних рідинах. Принцип методу: вільний та зв'язаний з ефіром холестерин, що міститься в біологічних рідинах, окислюється хлорним залізом в присутності оцтової, сірчаної та фосфорної кислот з утворенням ненасичених продуктів, зафарбованих у червоно-фіолепри постановці методутовий колір. Фосфорна кислота підвищує стійкість реактиву, що містить хлорне залізо. При постановці методу використовували: 1. Крижану оцтову кислоту. 2. Сірчану кислоту концентровану. 3. Залізо хлорне $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$. 4. Ортофосфорну кислоту (містить 85% H_3PO_4). 5. Розчин хлорного заліза (2,5 г хлорного заліза розчиняли в 80 мл ортофосфорної кислоти). Нагрівали до повного розчинення, потім охолоджували і доводили об'єм до 100 мл ортофосфорної кислотою. 6. Кольоровий реактив: до 8 мл розчину хлорного заліза додавали сірчану кислоту так, щоб сумарний об'єм був 100 мл. 7. Калібрувальний розчин холестерину в оцтової кислоти: 116 мг холестерину розчиняли в 100 мл крижаної оцтової кислоти. Розчин містив холестерин у концентрації 3 ммоль/л.

До 1,3 мл оцтової кислоти обережно додавали 0,05 мл культурального середовища або сироватки крові без гемолізу, перемішували, а потім добавляли 1 мл кольорового реактиву. Ретельно перемішували шляхом струшування і залишали на 30 хв при кімнатній температурі. Потім визначали

оптичну густину зразків при довжині хвилі 530 нм на мультискані проти 1,3 мл оцтової кислоти, 0,05 мл досліджуваної біологічної рідини і 1 мл концентрованої сірчаної кислоти.

Для приготування калібрувального графіка замість досліджуваного матеріалу брали 0,05-0,2 мл калібрувального розчину, до якого додавали оцтову кислоту до сумарного обсягу 1,35 мл та 1 мл кольорового реактиву. Зразок, в який добавляли 0,05 мл калібрувального реактиву за забарвленням відповідала дослідній пробі з вмістом холестерину 3 ммоль/л; проба, в яку вносили 0,1 мл калібрувального розчину, відповідала змісту холестерину 6 ммоль/л тощо Розрахунок проводили за калібрувальним графіком. Концентрацію холестерину виражали в мг/мл.

Вивчення ліпідного обміну. Вміст холестерину, тригліцеридів, ліпопротеїдів високої щільності (ЛПВЩ), ліпопротеїдів низької щільності (ЛПНЩ), ліпопротеїдів дуже низької щільності (ЛПДНЩ) у сироватці крові визначали ензиматичним спектрофотометричним методом з використанням біохімічних наборів Pointe Scientific Inc. (США).

Визначення холестерину. Ензиматичний метод вимірювання загального холестерину полягає у використанні в реагенті двох ферментів: естерази та оксидази холестерину та кольорової системи пероксидаза/фенол/4-аміноантипірін. Естераза розщеплює холестеринові ефіри з утворенням холестерину, який окислюється оксидазою холестерину. В результаті реакції окислення утворюється пероксид водню. Останній в реакції з 4-аміноантипірином та фенолом за участю ферменту пероксидази перетворюється в хінонімін, що випадає у вигляді червоного осаду. Інтенсивність червоного осаду прямопропорційна загальному рівню холестерину у пробі при зчитуванні при 500 нм.

В пробірці додавали 1 мл реагенту та інкубували при 37°C впродовж 5 хв. До пробірок додавали 10 мкл зразку, перемішували та інкубували при 37°C

впродовж 5 хв. Зчитували поглинання з кожної пробірки при 500 нм. Концентрацію холестерину визначали за формулою:

Концентрація холестерину (ммоль/л) = (Abs. проби/ Abs. стандарту) × концентрацію стандарту × 0,0259, де Abs. — поглинання при 500 нм

Визначення тригліцеридів. Принцип методу визначення тригліцеридів полягає у ензиматичному визначенні гліцерину за допомогою ферменту оксидази гліцерин фосфату. Тригліцериди проби за участю ферменту ліпази розщеплюються на гліцерил та жирні кислоти. Гліцерол за наявності АТФ перетворюється кіназою гліцерилу на гліцерол-1-фосфат, який окислюється оксидазою гліцерофосфату до пероксиду водню. Конденсація пероксиду водню з 4-хлорофенолом та 4-амінофеназоном за присутності пероксидази утворює червоний осад хіноніміну, який поглинає 500 нм. Інтенсивність червоного осаду прямопропорційна концентрації тригліцеридів у пробі.

В пробірки додавали 1 мл реагенту та нагріти до 37°C. До пробірок додавали 10 мкл зразку, перемішували та інкубували при 37°C впродовж 5 хв. Зчитували поглинання з кожної пробірки при 500 нм. Концентрацію тригліцеридів визначали за формулою:

Концентрація тригліцеридів (ммоль/л) = (Abs. проби/Abs. стандарту) × концентрацію стандарту × 0,0113, де Abs. — поглинання при 500 нм

Визначення ліпопротеїдів низької щільності. У даному методі використовується дві рідкі стабільні реактиви для прямого визначення ЛПНЩ. Детергент 1 розчинює всі ліпопротеїнові частки, окрім ЛПНЩ. Після чого ЛПВЩ, ЛПДНЩ та хіломікрони видаляють. Детергент 2 переводить у розчинну фазу частки ЛПНЩ, що залишились. Холестерин ЛПНЩ вступає в ферментативну реакцію за участю естерази та оксидази ЗХ та кольорової системи пероксидаза/4-аміноантипірин/К,К-біс-(4-сульфобутил)-м-толуїдин-динатрій. В результаті реакції розвивається забарвлення, яке вимірюється біхроматично при 546 та 660 нм.

В пробірки додавали 3 мкл зразка та 300 мкл реагенту 1 та інкубували при 37°C впродовж 5 хв. Після цього додавали 100 мкл реагенту 2, перемішували та інкубували при 37°C впродовж 5 хв. Зчитували різницю абсорбції з кожної пробірки між 546 та 660 нм. Концентрацію ЛПНЩ визначали за формулою:

Концентрація ЛПНЩ холестерину (ммоль/л) = (Abs. проби/Abs. стандарту) × концентрацію калібратора × 0,0259, де Abs. — різниця абсорбції між 546 та 660 нм.

Визначення ліпопротеїдів високої щільності. Метод представлений у форматі двох реактивів. Перший реагент містить α -циклодекстрин та сульфат декстрину для стабілізування ЛПВЩ, ЛПДНЩ та хіломікронів. Другий реагент містить поліетиленгліколь, модифікований ферментами (оксидазою та естеразою холестерину, пероксидазою), які селективно реагують з холестерином у часточках ЛПВЩ.

В пробірки додавали 4 мкл зразка та 300 мкл реагенту 1 та інкубували при 37°C впродовж 5 хв. Після цього додавали 100 мкл реагенту 2, перемішували та інкубували при 37°C впродовж 5 хв. Зчитували різницю абсорбції між 600 та 700 нм. Концентрацію ЛПВЩ визначали за формулою:

Концентрація ЛПВЩ (ммоль/л) = (Abs. проби/ Abs. стандарту) × концентрацію калібратору × 0,0259, де Abs. — різниця абсорбції між 600 та 700 нм.

Визначення ліпопротеїдів дуже низької щільності. Концентрація холестерину ЛПДНЩ вираховується математично за відомою концентрацією тригліцеридів: концентрація ЛПДНЩ=концентрація тригліцеридів/2,22 [267].

Визначення показників вуглеводного обміну. Вуглеводний обмін оцінювали за показниками концентрації глюкози, інсуліну та індексу НОМА. Для визначення концентрації глюкози в крові використовували глюкозооксидазний метод Тріндера [268]. Показник концентрації глюкози виражали в ммоль/л. Концентрацію інсуліну в сироватці визначали за

допомогою набору для імуноферментного аналізу (Rat/Mouse Insulin ELISA Kit, Linco Research, USA). Показник концентрації інсуліну виражали в $\mu\text{U}/\text{мл}$. Індекс інсулінорезистентності НОМА розраховували як добуток від множення концентрації глюкози в крові натще та концентрації інсуліну в сироватці, розділений на 22,5 [269].

Морфологічні дослідження підшлункової залози. Видаляли підшлункову залозу та фіксували у 10% нейтральному формаліні впродовж 1-2 діб. Далі препарат піддавали зневодненню у розчинах етилового спирту в зростаючих концентраціях (70%, 80%, 90%, 96% — по одній добі у кожному розчині), просвітленню у діоксані (0,5-2 год.) та хлороформі (1 год.), просочуванню сумішшю парафіну з хлороформом 1:1 (до 2 год. при температурі $+37^{\circ}\text{C}$) та чистим парафіном (2 год. при температурі $+56^{\circ}\text{C}$), після чого заливали у чистий розплавлений парафін. Парафінові зрізи шлунка завтовшки до 5 мкм виготовляли на санному мікромомі, фарбували гематоксиліном з дофарбуванням еозином [266].

Гістологічні препарати аналізували при збільшенні мікроскопа $\times 200$, $\times 400$. Кольорові мікрофотографії отримували за допомогою цифрової фотокамери Olympus C-5050 Zoom та мікроскопа Olympus BX-41 (Olympus Europe GmbH, Japan).

Визначення ферментів підшлункової залози. В сироватці крові визначали амілазу, панкреатичну амілазу та ліпазу стандартними біохімічними методами [270].

2.3. Статистична обробка даних

Статистичну та математичну обробку результатів дослідження проводили за загальноприйнятими методами варіаційної статистики за допомогою пакету програм “Statistica 8.0” та “Epi Info” (версія 8.0), а також програми Excel з пакету послуг Microsoft Office 2013. Отримані результати досліджень

перевіряли на нормальність розподілу за допомогою W тесту Шапіро-Вілка. Якщо дані не відповідали закону нормального розподілу, то порівняння двох незв'язаних вибірок проводили за критерієм Манна-Уїтні. При нормальному розподілі, порівняння різниці між контрольними та дослідними вимірами проводили за допомогою t -критерію Стьюдента для незалежних вибірок. Рівень значущості становив $p < 0,05$. Дані представляли у вигляді середнього значення (M) і стандартної помилки середнього (m) [271].

РОЗДІЛ 3

СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ ЗА УМОВ РОЗВИТКУ ОЖИРІННЯ

У 1907 р. професор Токійського імперського університету Кікунае Ікеда вперше виділив глютамат натрію шляхом гідролізу пшеничного білка і виявив його здатність підсилювати природні смакові якості їжі, які втрачаються при обробці й зберіганні. З тих пір глютамат натрію використовується в більшості сучасних харчових технологій як харчова добавка, підсилює смак і аромат (Е621). Сумніви, що стосуються безпеки споживання харчової добавки глютамату натрію, почалися в 1968 році після публікацій в англійському медичному журналі даних про те, що натрієва сіль глютамінової кислоти може бути причиною багатьох хвороб [272, 273]. Дані захворювання були об'єднані терміном "синдром китайського ресторану", симптомами якого є різкий біль у шлунку, грудях або голові, почервоніння обличчя, підвищена температура тіла, посилення потовиділення [274, 275].

Після цих публікацій навколо цього питання тривають жваві дискусії [276]. Проведено велику кількість досліджень у багатьох країнах як на здорових добровольцях, так і на людях, які себе вважають чутливими до глютамату натрію. Незважаючи на значне число робіт, присвячених даній проблемі, єдиної думки щодо безпечної дози поширеної харчової добавки глютамату натрію немає [272, 274].

В Україні глютамат натрію став легальною харчовою добавкою тільки у 2000 році після постанови Кабміну №342 від 17 лютого, згідно з якою його внесли до переліку дозволених в Україні харчових добавок. За останні 10 років захворюваність населення хворобами шлунково-кишкового тракту серед дітей і дорослих зростає. На сьогодні в Україні 40% дорослого населення і 10%

дитячого мають проблеми з травним трактом [277]. Отже, однією з актуальних проблем охорони здоров'я України є зростання захворюваності органів травлення, зокрема підшлункової залози. Незважаючи на досягнуті успіхи в діагностиці та лікуванні цих захворювань, останніми роками відзначено зростання кількості людей із цією патологією, збільшення частоти рецидивів, тривалості загострень, активності клінічних проявів. Значна частина лікарів пов'язують це з порушенням характеру харчування.

3.1. Вплив тривалого введення глютамату натрію на масу тіла щурів

Характер харчування населення у наші дні викликає серйозну стурбованість: все зростаюче споживання продуктів «fast food», що супроводжується зниженням частки в денному раціоні овочів, фруктів, молочних і кисломолочних продуктів серйозним чином відбивається на стані здоров'я. Глутамат натрію (E 621) — найрозповсюдженіша харчова добавка (посилювач смаку). Важко знайти консерви, напівфабрикати або готові продукти, вироблені промисловим шляхом, в яких не було б глютамату натрію. При цьому допустимі норми можуть бути значно перевищені, що може призводити до захворювань травного тракту.

Встановлено, що прийом харчової добавки глютамату натрію в кількості 3 грами на день може викликати ознаки «синдрому китайського ресторану» [272]. В дисертаційній роботі Фалалєєвої Т.М., 2011 було показано, що щоденне введення глютамату натрію щурам у дозах 15 і 30 мг/кг, які відповідають 1 і 2 грамам на середньостатистичну людину (безпечні для здоров'я людини дози), впродовж 20-ти і 30-ти днів приводило до збільшення маси тіла тварин, секреції гідрохлоридної кислоти та ураження слизової

оболонки шлунку, що проявлялося у розвитку крововиливів, ерозій і виразок) [262]. Оскільки в ендокринній і екзокринній частині підшлункової залози щурів знайдені для L-глутамату везикулярні глутаматні транспортери першого та другого типу та іонотропні і метаботропні глутаматні рецептори [263, 264], то в даній роботі ми вирішили дослідити вплив тривалого введення глутамату на підшлункову залозу. Тому на початку цієї дисертаційної роботи ми відтворили експеримент з тривалим, а саме 10-ти, 20-ти, 30-ти денним введенням глутамату натрію статевозрілим щурам.

У щурів усіх досліджуваних груп ми аналізували приріст маси тіла. Маса тіла контрольних щурів за 10 днів в середньому збільшилась на $13,3 \pm 0,58$ грам; за 20 днів — на $21,2 \pm 0,64$ грам; за 30 днів — на $33,4 \pm 0,84$ грам (рис. 3.1).

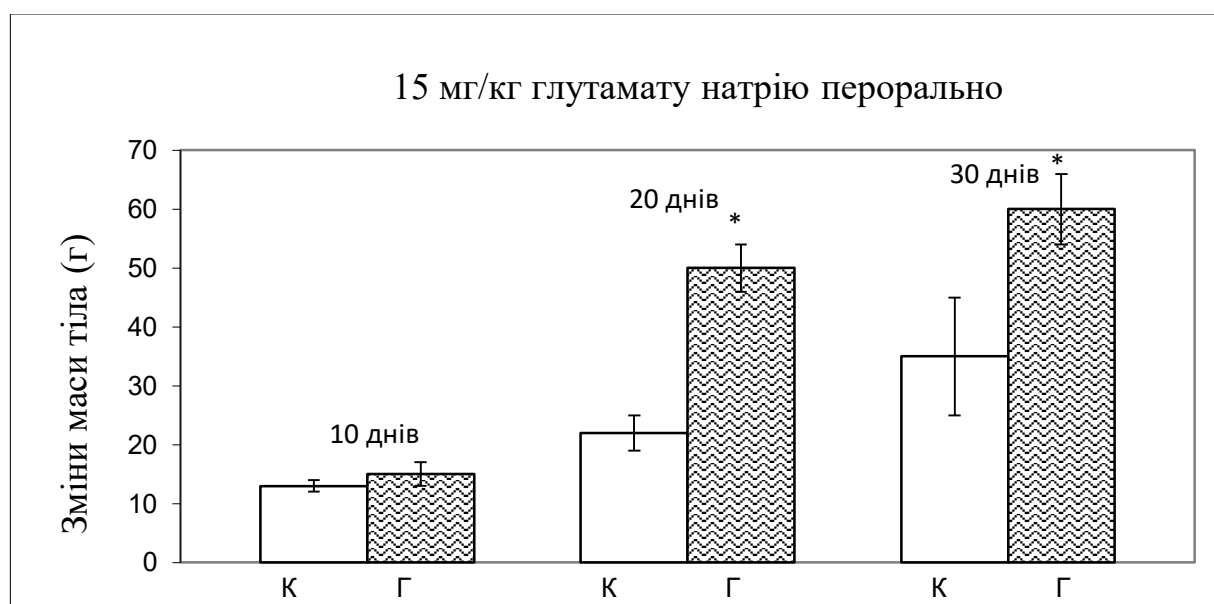


Рис. 3.1. Вплив тривалого введення глутамату натрію на приріст маси тіла у 4-х місячних щурів:

К — контроль;

Г — глутамат натрію.

Примітка: * — $p < 0,05$ у порівнянні з контролем.

У групі тварин, яким вводили глутамат натрію в дозі 15 мг/кг впродовж 10-ти днів, маса тіла зросла на $15,7 \pm 5,9$ грам, що на 18% ($p > 0,05$) більше ніж в контрольній групі. Введення глутамату натрію протягом 20-ти днів збільшило вагу щурів на $49,9 \pm 7,3$ грам, або на 135% ($p < 0,05$) більше ніж в контролі. У тварин, яким 30 днів вводили глутамат натрію, маса тіла збільшилася на 60,1 грам, або на 79% ($p < 0,001$), порівнюючи з контролем за відповідний період часу (рис. 3.1).

Отже, щоденне введення глутамату натрію щурам в дозі 15 мг/кг (1 грам на середньостатистичну людину) впродовж 20-ти та 30-ти днів викликало до збільшення маси тіла майже в два рази.

Збільшення щоденної дози глутамату натрію вдвічі (30 мг/кг) також значно збільшувало масу тіла щурів. Аналогічно, 10-ти денне введення глутамату натрію статистично значущо не впливало на масу тіла; 20-ти денне введення глутамату натрію — на $50,2 \pm 8,9$ грам, або на 137% ($p < 0,05$) у порівнянні з контролем; 30-ти денне введення глутамату натрію — на $80,6 \pm 7,9$ грам, що на 141% ($p < 0,05$) перевищувало контрольні показники (рис. 3.2). Таким чином, щоденне введення глутамату натрію щурам в дозі 30 мг/кг (2 грами на середньостатистичну людину) впродовж 20-ти та 30-ти днів приводило до збільшення маси тіла в середньому в два з половиною рази.

Велика кількість наукових статей постулює, що глутамат посилює апетит та викликає гіперфагію [278]. Проте, наші щури були на стандартному раціоні віварію і вони не могли більше з'їдати їжі. Показано, що у щурів дієта з глутаматом натрію викликала, аналогічно нашій роботі, збільшення маси тіла та розвиток інсулінорезистентності [279]. Як відомо, резистентність до інсуліну веде до розвитку абдомінально-вісцерального ожиріння.

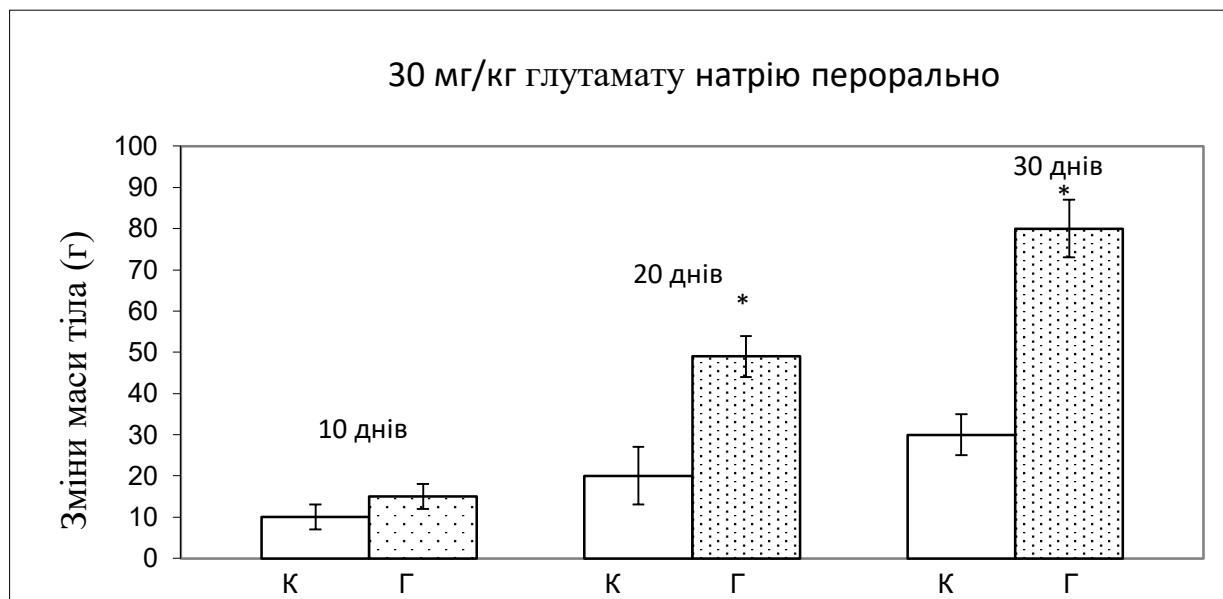


Рис. 3.2. Вплив тривалого введення глютамату натрію на приріст маси тіла у 4-х місячних щурів:

К — контроль;

Г — глютаMAT натрію.

Примітка: * — $p < 0,05$ у порівнянні з контролем.

3.2. Вплив тривалого введення глютамату натрію на структуру підшлункової залози щурів

Метою цього підрозділу було вивчення впливу 10-, 20-, 30-ти денного введення глютамату натрію на морфологію підшлункової залози у щурів.

У щурів контрольної групи підшлункова залоза щурів мала типову будову. Ациноси екзокринної частини підшлункової залози нормальної будови, ациноцити мали конічну форму та виражену полярність — апікальну (зимогенну) та базальну (гомогенну) зони. У базальній частині ациноцитів розміщені ядра з чітко окресленими ядерцями (рис 3.3).

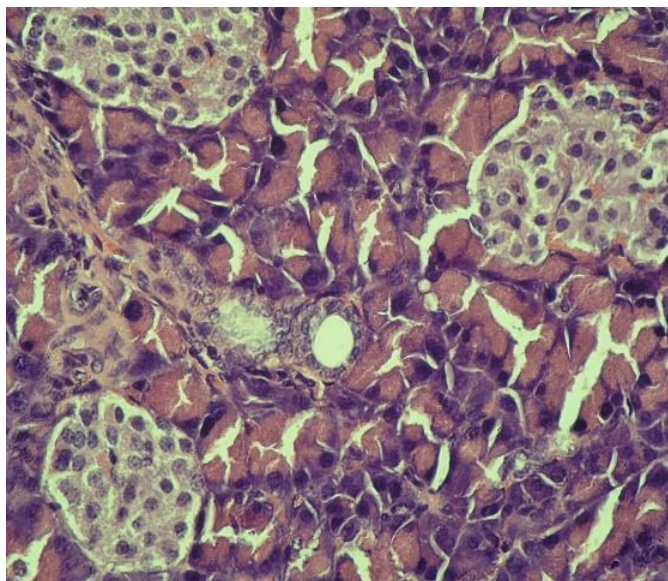
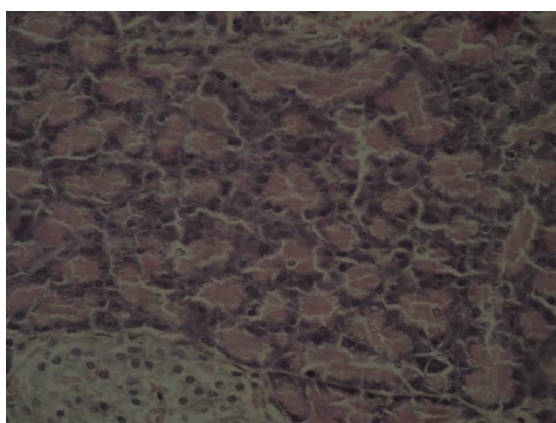
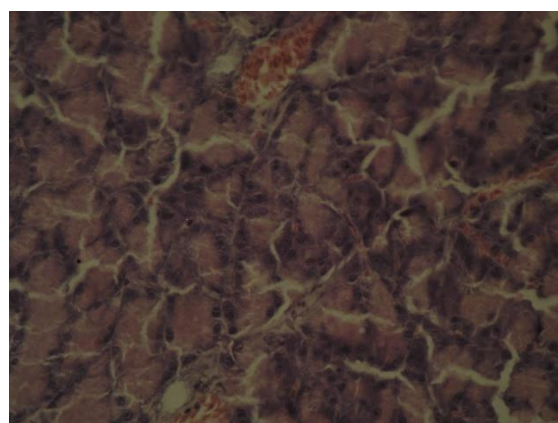


Рис. 3.3 Мікрофотографія підшлункової залози контрольної групи щурів.
Зб. $\times 400$

У підшлунковій залозі щурів, що отримували глютамаат натрію протягом 10-ти днів у дозі 15 мг/кг, виявлені дистрофічні зміни екзокриноцитів та повнокрів'я судин (рис. 3.4А). У щурів, які отримували 30 мг/кг харчової добавки спостерігалися стази в просвіті судин (рис. 3.4Б).



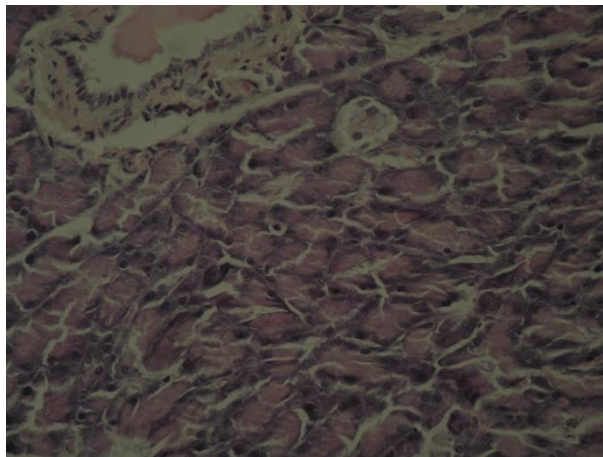
А – 15 мг/кг - 10 днів



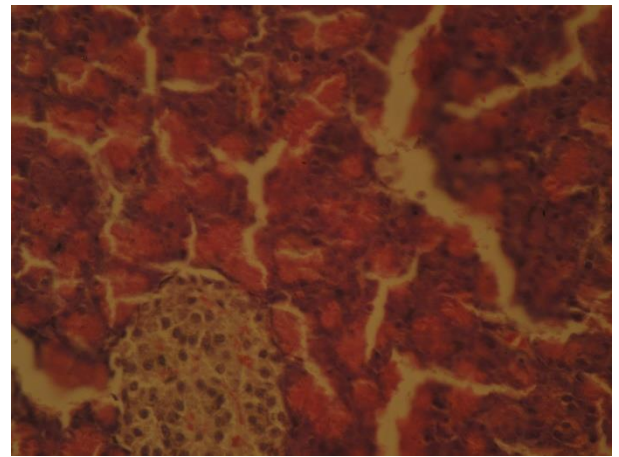
Б – 30 мг/кг -10 днів

Рис. 3.4 Мікрофотографії підшлункової залози щурів, котрим впродовж 10 днів вводили глютамаат натрію. Зб. $\times 400$

20-ти денне введення глютамау натрію в дозі 15 мг/кг викликало в тканині підшлункової залози некробіотичні зміни екзокриноцитів, помірний периваскулярний фіброз та лімфоїдну інфільтрацію. Збільшення щоденної дози харчової добавки вдвічі (30 мг/кг) справляло значно сильніший вплив на підшлункову залозу. Спостерігалися виражені некробіотичні і некротичні зміни екзокриноцитів, дистрофічні зміни ендокриноцитів та стаз в просвіті судин ендокринної частини. 10-ти та 20-ти денне глютамау натрію вірогідно не змінювало морфометричні показники підшлункової залози (рис.3.5).



А – 15 мг/кг - 20 днів



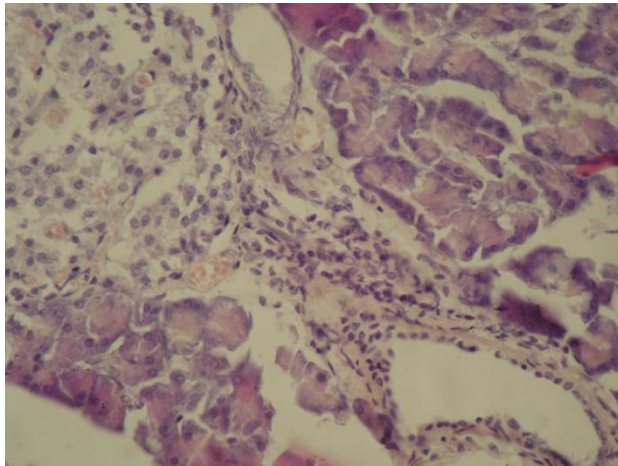
Б – 30 мг/кг - 20 днів

Рис. 3.5 Мікрофотографії підшлункової залози щурів, котрим впродовж 20-днів вводили глютамау натрію. Зб. $\times 400$

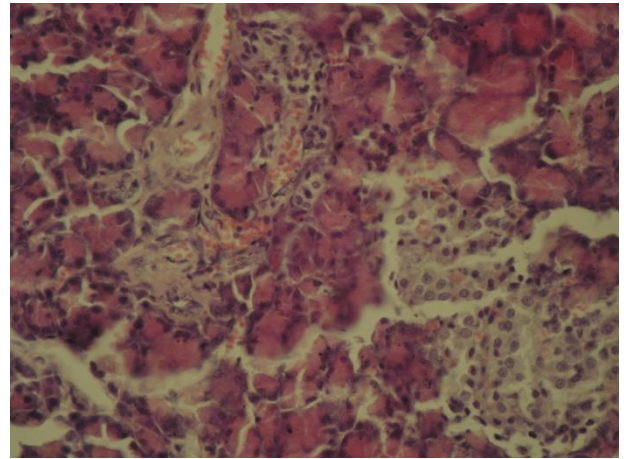
При подовженні введення глютамау натрію (15 мг/кг) до 30-ти днів ступінь ураженості тканини підшлункової залози зростала ще в більший мірі: були наявні некротичні, некробіотичні та дистрофічні зміни екзо- і ендокриноцитів, виражена лімфоїдна інфільтрація, інтерстиційний набряк. Виявлений помірний периваскулярний і інтерстиціальний фіброз. Після 30-ти денного введення глютамау натрію в дозі 30 мг/кг у підшлунковій залозі

спостерігались аналогічні зміни, як і при 30-ти денному введенні в дозі 15 мг/кг, однак були більш виражені некротичні, некробіотичні та дистрофічні зміни екзо- і ендокриноцитів, збільшувалась лейкоцитарна і лімфоїдна інфільтрація, виявлений периваскулярний і інтерстиціальний фіброз, виражений інтерстиційний набряк та дисциркуляторні розлади.

Після 30-ти денного введення глютамату натрію в дозі 30 мг/кг спостерігались аналогічні зміни морфології підшлункової залози, як і з 30-ти денним введенням в дозі 15 мг/кг, однак значно посилювались некротичні, некробіотичні та дистрофічні зміни екзо- і ендокриноцитів, збільшувалась лейкоцитарна і лімфоїдна інфільтрація, виявлений периваскулярний і інтерстиціальний фіброз, виражений інтерстиційний набряк та дисциркуляторні розлади (рис.3.6Б).



А – 15 мг/кг - 30 днів



Б – 30 мг/кг - 30 днів

Рис. 3.6 Мікрофотографії підшлункової залози щурів, котрим впродовж 30-днів вводили глютамат натрію. Зб. $\times 400$

Отже, введення глютамату натрію протягом 30 днів у дозах 15 і 30 мг/кг (що відповідає 1 і 2 грамам глютамату натрію для середньостатистичної людини) викликає некротичні, некробіотичні та дистрофічні зміни екзо- і ендокриноцитів, лейкоцитарну і лімфоїдну інфільтрацію, периваскулярний і

інтерстиціальний фіброз, набряк та дисциркуляторні розлади. Введення глутамату натрію призводить також до збільшення площі поперечного перерізу ядер ендокриноцитів та екзокриноцитів, що свідчить про інтенсифікацію синтетичних процесів у клітинах підшлункової залози, а також зменшення площі поперечного перерізу екзокринних клітин підшлункової залози, що є ознакою стимуляції секреторних процесів у екзокринних клітинах. Описані зміни є характерними для гострого панкреатиту.

Таким чином, отримані нами дані ставлять під сумнів традиційні твердження про те, що використання харчової добавки глутамату натрію в розумних межах (1 грам на день) є безпечним [272, 276]. Ми показали, що щоденне введення глутамату натрію щурам в дозі 15 і 30 мг/кг протягом 30 днів призводить до запалення підшлункової залози. Можна припустити, що споживання глутамату натрію не тільки в кількості 3 г на день є небезпечним для здоров'я людини [274, 275, 280]. Небезпечними можуть бути і низькі дози глутамату натрію (1 і 2 грами на день для середньостатистичної людини) тому, що введення глутамату натрію щурам в дозах 15 і 30 мг/кг (в порівнянні на 1 і 2 грами глутамату натрію для середньостатистичної людини) протягом 30 днів, призводить до збільшення площі поперечного перерізу ядер ендокринних та екзокринних клітин підшлункової залози. Ці факти свідчать про інтенсифікацію синтетичних процесів у клітинах підшлункової залози з одночасним зменшенням площі поперечного перерізу екзокринних клітин, тобто про стимуляцію секреторних процесів у екзокринних клітинах.

Що стосується механізму дії глутамату натрію на підшлункову залозу, то глутамат/аспартат поглинаюча система, аналогічна описаній в центральній нервовій системі, була знайдена в тканині підшлункової залози [263]. Крім того, численні дослідження показали наявність глутаматних рецепторів в ендо- та екзокринних клітинах підшлункової залози [264]. Отже можна припустити, що тривале щоденне введення глутамату натрію викликає надмірне збудження глутаматних рецепторів підшлункової залози, що

призводить до збільшення синтетичних і секреторних процесів у клітинах підшлункової та до розвитку панкреатиту.

Для інтерпретації одержаних результатів на людину, слід взяти до уваги той факт, що вік щурів набагато менший ніж у людини та метаболічні процеси проходять набагато швидше. Більшість дослідників вважають, що 10 днів щурів, відповідають 3 місяцям людини, 20 днів та 30 днів відповідно 6 і 9 місяцям [281]. Таким чином, глутамат можна включити до групи речовин, що стимулюють секрецію підшлункової залози, а отримані результати можуть слугувати експериментальним обґрунтуванням та поясненням погіршення захворюваності на панкреатит, особливо тієї частини населення, що зловживає харчуванням в закладах «фаст-фуд». Одержані дані слід враховувати кожній людині при формуванні щоденного раціону, так як глутамат натрію широко використовується в багатьох харчових виробництвах і користується великою популярністю в світі.

ВИСНОВКИ РОЗДІЛУ 3

Тривале введення щурам глутамату натрію призводить до ожиріння та розвитку панкреатиту, що проявляється лімфоїдною інфільтрацією та фіброзом у інтерстиції, дистрофічними, некробіотичними та некротичними змінами у екзокринній частині в залежності від дози введення, що вказує на необхідність перегляду безпечних доз глутамінової кислоти та її солей, враховуючи їх несприятливий вплив на підшлункову залозу.

РОЗДІЛ 4

ПОКАЗНИКИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ОЖИРІННЯ У ЩУРІВ, ВИКЛИКАНОГО НЕОНАТАЛЬНИМ ВВЕДЕННЯМ ГЛУТАМАТУ НАТРІЮ ТА ЗА УМОВ ПРОФІЛАКТИЧНО-ЛІКУВАЛЬНОГО ВВЕДЕННЯ ПРОБІОТИЧНИХ ШТАМІВ ЛАКТОБАЦИЛ ТА БІФІДОБАКТЕРІЙ

Ожиріння без перебільшення можна назвати епідемією світового масштабу, оскільки кількість осіб як серед дорослого, так і серед дитячого населення, що мають надмірну вагу тіла, постійно збільшується [282]. І якщо ця тенденція збережеться, то все населення економічно розвинутих країн до середини наступного сторіччя буде страждати ожирінням [282]. Перш за все це зумовлено малорухливим способом життя та висококалорійним харчуванням, що призводить до дисбалансу між надходженням та використанням енергії [283]. За даними вчених з університету Північної Кароліни, кількість людей з надлишковою масою тіла перевищує кількість голодуючих. Це стосується як багатих країн, так і країн, що розвиваються. У Сполучених Штатах та інших країнах, ожиріння різко зросло з 1980 року. У період з 1980 по 2004 рік поширеність ожиріння зросла з 15% до 33% серед дорослого населення, а поширеність надлишкової маси тіла у дітей збільшилась з 6% до 19% [188]. Надмірна вага у дитинстві часто призводить до ожиріння у дорослому віці [190]. В Україні 30-40% населення має надлишкову масу тіла, серед дітей і підлітків ожиріння становить 11-15% [284].

Ожиріння є причиною розвитку багатьох захворювань серцево-судинної системи (артеріальна гіпертонія, атеросклероз, ішемічна хвороба серця),

інсульту, інсуліннезалежного цукрового діабету, передчасної смерті, захворювання опорно-рухового апарату (остеохондроз хребта та обмінно-дистрофічний поліартрит), хвороби гепатобіліарної системи (дискінезія жовчного міхура, хронічний холецистит, жовчнокам'яна хвороба), пухлини ряду локалізацій, зокрема рак легені, молочної залози, тіла матки і яєчника, порушення оваріально-менструального циклу, дисліпідемія у жінок [14, 283]. Ожиріння зменшує тривалість життя на 3-5, а інколи на 15 років. Від захворювань, які пов'язані з ожирінням, в світі щорічно помирає 2,5 млн. людей. При схудненні на 10% ризик розвитку серцево-судинної патології знижується на 9%, цукрового діабету — на 44%, смертність від онкологічних захворювань, асоційованих з ожирінням — на 40%, загальна смертність — на 20% [283].

4.1 Соматометричні показники у щурів за умов експериментального ожиріння, викликаного неонатальним введенням глютамату натрію, та профілактично-лікувального введення пробіотичних штамів лактобацил та біфідобактерій

В сучасній науковій літературі активно дискутується питання впливу пробіотиків на жировий обмін та ожиріння [204, 205, 207]. Backhed F. та співавт. у 2004 були піонерами в дослідженні ролі мікрофлори товстої кишки у регуляції обміну речовин [21]. Вказана публікація була поштовхом для досліджень у цій області які показали, що мікрофлора кишечника змінюється у людей з надмірною масою тіла, і що мікробіоценоз кишки можна вважати екологічним чинником, який модулює розвиток ожиріння.

Показано, що тривале перебування на дієті з високим вмістом жирів істотно змінювало склад мікрофлори товстої кишки у мишей, зі зниженням

рівня *Bifidobacterium* і *Lactobacillus*, які, як відомо, справляють багато фізіологічно позитивних ефектів, у тому числі поліпшують бар'єрну функцію слизової оболонки кишки, та збільшенням рівня *Firmicutes* і *Proteobacteria*, продуктами метаболізму яких є багато токсичних речовин [29, 30]. Автори встановили, що додавання пребіотика олігофруктози до дієти з високим вмістом жирів призводило до відновлення рівня біфідобактерій, усувало ендотоксемію та зменшувало розвиток ожиріння. Ці результати дозволяють припустити, що підвищення рівня біфідобактерій може зменшити проникність кишечника та знизити рівень циркулюючого ендотоксину. Крім того, при зростанні біфідобактерій збільшується чутливість до глюкози, посилюється секреція інсуліну, знижується приріст маси тіла і продукція прозапальних медіаторів [29, 208, 209]. Також, в роботах останніх років були встановлені позитивні ефекти пробіотичних бактерій на розвиток ожиріння. Так, застосування *Lactobacillus gasseri* SBT₂₀₅₅ та *Lactobacillus paracasei* SS Paracasei F19 попередило розвиток дієт-індукованого ожиріння [207, 208]. Надмірне вживання жирів, хоча є і важливою причиною ожиріння, проте останнім часом вчені вважають, що безконтрольне використання харчових добавок, а саме посилювача смаку глютамату натрію (E621) теж є причиною надмірної ваги [285].

В Україні глютамат натрію (E 621) — став легендарною харчовою добавкою (посилювач смаку) тільки у 2000 році після постанови Кабміну №342 від 17 лютого, згідно з якою його внесли до переліку дозволених в Україні харчових добавок. Важко знайти консерви, напівфабрикати або готові продукти, вироблені промисловим шляхом, в яких не було б глютамату натрію. При цьому допустимі норми можуть бути значно перевищені, що може призводити до захворювань травного тракту. За останні 10 років захворюваність населення хворобами шлунково-кишкового тракту серед дітей і дорослих зростає. У 2011 р. в Україні було зареєстровано 7 089 010 хворих на гастроентерологічну патологію, показник на 100 тис. дорослого населення —

18956,3. Станом на кінець 2011 р. на диспансерному обліку перебувало 5 028 034 хворих на хвороби органів травлення, тобто 70,9% із загальної кількості зареєстрованих. З 2006 р. відбулось зростання показника поширеності на 11,2% [202]. Значна частина лікарів пов'язують це з порушенням характеру харчування. Характер харчування населення у наші дні викликає серйозну стурбованість: все зростає споживання продуктів «fast food», що супроводжується зниженням частки в денному раціоні овочів, фруктів, молочних і кисломолочних продуктів, серйозним чином відбивається на стані здоров'я.

Зважаючи на зростання поширеності ожиріння, в тому числі пов'язаного з погіршенням характеру харчування, наслідком чого є не лише серйозні патологічні зміни травної системи, але й її мікробіому та стану цілого організму, корекція дієти пробіотичними препаратами надзвичайно актуальна. Залишається неповністю вирішеним завдання пошуку та відбору ефективних штамів та порівняння ефективності монопробіотиків та комбінованих пробіотиків на основі декількох штамів мікроорганізмів для корекції метаболічних змін.

На наступному етапі наших досліджень для з'ясування механізмів взаємозв'язку ожиріння і захворювань підшлункової залози ми продовжили пошук апробованої моделі вісцерального ожиріння. Враховуючи той факт, що найбільш важкою формою ожиріння є вісцеральний тип, пов'язаний з відкладенням жиру на внутрішніх органах, нашу увагу привернула модель вісцерального ожиріння, викликаного неонатальним введенням глютаму натрію. Згідно цієї моделі концентрований 3-молярний розчин глютаму натрію вводиться щурам підшкірно на 2, 4, 6, 8, 10 добу після народження у дозі 4 г/кг. Реєстрацію маси тіла, маси вісцерального жиру, вивчення функціональних показників при порушеному метаболізмі, оцінку ураженості підшлункової залози здійснювали у щурів 4-ох місячного віку [17]. Натрієва сіль глютамінової кислоти є класичним орексигеном (збільшує вживання їжі та

її засвоєння). Механізм її дії зв'язаний перш за все з дугоподібними ядрами гіпоталамуса, нейрони яких синтезують орексигенні речовини – нейропептид Y (NPY - нейрони) і меланін- опосередковий білок (AGRP - нейрони). Наростання їх концентрації в організмі різко підвищує засвоєння їжі, знижує витрати енергії, приводить до вираженого ожиріння. Глутамат натрію призводить до ураження дугоподібних та вентромедіальних ядер гіпоталамуса, викликаючи їх нечутливість до лептину та інсуліну (гормонів насичення), в результаті чого розвивається гіперлептинемія та гіперінсулінемія [18].

У зв'язку з вище описаним, метою цього підрозділу було дослідити вплив пробіотикотерапії на розвиток експериментального ожиріння у щурів, викликаного глутаматом натрію.

Встановлено, що через 4 місяці після народження, у щурів, яким на 2-10 добу життя підшкірно вводили глутамат натрію у дозі 4 мг/г, розвивалося суттєве вісцеральне ожиріння. Вимірювання соматометричних показників свідчить, що у тварин з ожирінням уповільнюється ріст, при цьому маса тіла не відрізняється від показників інтактних тварин. Так, якщо маса інтактних тварин складала 255 ± 7 г, то маса тварин з глутамат-індукованим ожирінням — 261 ± 5 г (рис. 4.1). При цьому довжина тіла тварин з ожирінням була меншою на 18,6% ($p < 0,05$) порівняно з контролем (рис. 4.2). Хоча тварини, яким вводили глутамат натрію, були коротші, вони були більш округлої форми, що пояснює відсутність різниці маси. Отже, за даною моделі глутамат-індукованого вісцерального ожиріння, уповільнюється розвиток і ріст тварин з одночасним набором надлишкової маси тіла.

За умов введення пробіотичних штамів не було зафіксовано відмінностей у масі тіла дослідних тварин (рис. 4.1). Проте, при вимірюванні довжини тіла було встановлено, що хоча всі щури, що отримували впродовж 3 місяців (з віку 1 місяць до 4-місячного віку) курсами комбінований пробіотик (*Bifidobacterium animalis* VKL і VKB та *Lactobacillus casei* IMVB-7280 (1:1:2))

та 3 монопробіотики (*Bifidobacterium animalis* VKL, *Bifidobacterium animalis* VKB, *Lactobacillus casei* IMVB-7280), були значущо коротшими за довжиною тіла щодо інтактних тварин, група тварин, яким вводили комбінований пробіотик, мала більшу довжину тіла на 12,2% ($p < 0,05$) порівняно з контрольними щурами з ожирінням (рис. 4.1). Це свідчить, що пробіотик на основі 3 штамів мікроорганізмів частково відновлював нормальні процеси росту тварин за умов лікувально-профілактичного введення курсами.

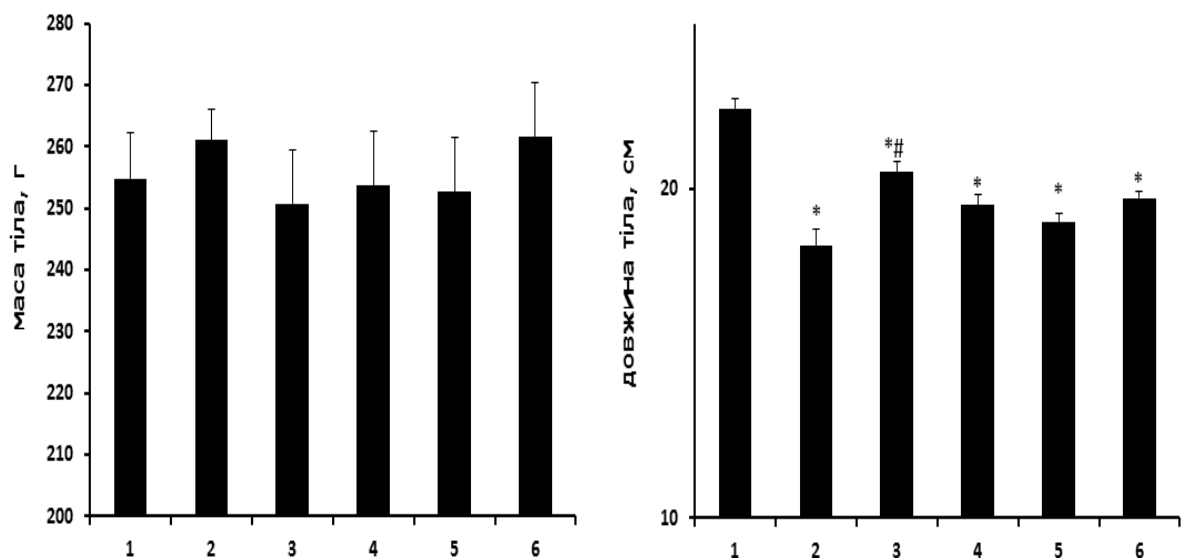


Рис. 4.1 Маса та довжина тіла щурів за умов ожиріння, викликаного неонатальним введенням глютамату натрію, на фоні введення пробіотичних штамів ($3,2 \times 10^{10}$ КУО/кг) ($n=10$ в кожній групі). 1 — інтактні щури; 2 — контрольні щури з ожирінням; 3 — ожиріння + *Bifidobacterium animalis* VKL і VKB та *Lactobacillus casei* IMVB-7280 (1:1:2); 4 — ожиріння + *Bifidobacterium animalis* VKL; 5 — ожиріння + *Bifidobacterium animalis* VKB; 6 — ожиріння + *Lactobacillus casei* IMVB-7280.

Хоча вимірювання маси та довжини тіла і відображають зміни параметрів тіла при ожирінні, проте більш інформативним є обчислення співвідношення між цими показниками. Найбільш зручними для

представлення результатів по ожирінню у щурів є індекс маси тіла (ІМТ) та індекс Лі.

Було встановлено, що ІМТ зростає на 54,4% ($p < 0,05$) у щурів, яким неонатально вводили глютамат натрію (рис. 4.2), що підтверджує ожиріння тварин цієї групи.

В групах щурів, яким вводили пробіотики, також спостерігали перевищення ІМТ контрольних показників: на 17,8% ($p < 0,05$) в групі, що отримувала *Bifidobacterium animalis* VKL і VKB та *Lactobacillus casei* IMVB-7280 (1:1:2), 31,8% ($p < 0,05$) — за умов введення *Bifidobacterium animalis* VKL, 38,2% ($p < 0,05$) — *Bifidobacterium animalis* VKB, 33,2% ($p < 0,05$) — *Lactobacillus casei* IMVB-7280. Проте, необхідно відмітити, що цей показник за умов застосування пробіотиків був суттєво нижчим, ніж в групі контрольних щурів з ожирінням. Так, щури, що отримували комбінований пробіотик, мали ІМТ на 23,7% ($p < 0,05$) менший ніж у контрольних щурів з ожирінням (рис. 4.2). При введенні *Bifidobacterium animalis* VKL, *Bifidobacterium animalis* VKB, *Lactobacillus casei* IMVB-7280 показники ІМТ виявилися меншими на 14,7% ($p < 0,05$), 10,5% ($p < 0,05$) та 13,8% ($p < 0,05$) порівняно зі щурами з ожирінням (рис. 4.2). Отже, пробіотичні штами виявилися ефективними в попередженні розвитку ожиріння гіпоталамічного генезу. При цьому найкращий захисний ефект проти ожиріння здійснював комбінований пробіотик на основі *Bifidobacterium animalis* VKL і VKB та *Lactobacillus casei* IMVB-7280 (1:1:2), що свідчить про перевагу застосування композицій пробіотичних штамів перед моноштамами для лікування і профілактики метаболічних розладів гіпоталамічного генезу.

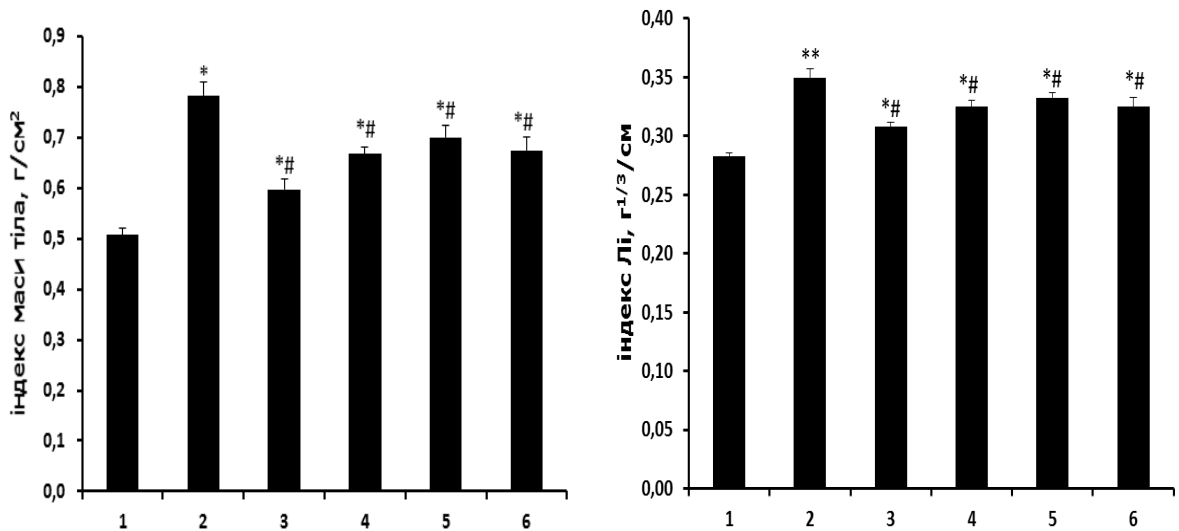


Рис. 4.2. Індекс маси тіла та індекс Лі у щурів за умов ожиріння, викликаного неонатальним введенням глютамату натрію, на фоні введення пробіотичних штамів ($3,2 \times 10^{10}$ КУО/кг) ($n=10$ в кожній групі): 1 — інтактні щури; 2 — контрольні щури з ожирінням; 3 — ожиріння + *Bifidobacterium animalis* VKL і VKB та *Lactobacillus casei* IMVB-7280 (1:1:2); 4 — ожиріння + *Bifidobacterium animalis* VKL; 5 — ожиріння + *Bifidobacterium animalis* VKB; 6 — ожиріння + *Lactobacillus casei* IMVB-7280. * $p < 0,05$ — порівняно з інтактними щурами, # $p < 0,05$ — порівняно з контрольними щурами з ожирінням.

Іншим, без сумніву, важливим індексом для оцінки ступеня ожиріння є індекс Лі. Використання цього критерію дозволяє більш точно оцінити відмінності між групами та виявити відмінності, які не були значущими при застосуванні інших критеріїв, за рахунок меншого розкиду значень. Встановлено, що глютаMAT-індуковане ожиріння зумовлює суттєве зростання індексу Лі. У щурів, яким неонатально вводили глютаMAT натрію, цей показник перевищував на 23,8% ($p < 0,01$) значення інтактних тварин (рис. 4.2). Застосування пробіотиків зумовило значне зниження індексу Лі, що підтверджує їх позитивний вплив на обмін речовин та попередження розвитку ожиріння, обумовленого нейротоксичним ефектом глютамату натрію на

гіпоталамус. При введенні *Bifidobacterium animalis* VKL, *Bifidobacterium animalis* VKB, *Lactobacillus casei* IMVB-7280 індекс Лі знизився на 7,2% ($p < 0,05$), 4,9% ($p < 0,05$) та 7,1% ($p < 0,05$) порівняно зі щурами з ожирінням (рис. 4.2). Найбільш значущим було зменшення індексу Лі за умов введення комбінованого трьохштамного пробіотика: цей показник зменшувався на 12,1% ($p < 0,05$) щодо рівня контрольних тварин з ожирінням (рис. 4.2).

Застосування індексу Лі також дозволило оцінити поширеність ожиріння в кожній групі тварин — відсоток тварин, що страждають на цю патологію. Показник індексу Лі 0,3 вважали межею: індекс Лі $> 0,3$ — ожиріння є, індекс Лі $< 0,3$ — ожиріння немає. В групі контрольних щурів глютамат натрію, введений у вигляді неонатальної підшкірної ін'єкції, зумовлював розвиток ожиріння у 100% тварин (рис. 4.3).

Введення пробіотичних штамів зумовлює практично двократне зменшення поширеності ожиріння у щурів. Найменший показник відсотка тварин з індексом Лі більше 0,3 спостерігали в групі тварин, що отримували комбінований пробіотик *Bifidobacterium animalis* VKL і VKB та *Lactobacillus casei* IMVB-7280 (1:1:2). В цій групі показник поширеності ожиріння складав лише 40% (рис. 4.3).

Отримані показники соматометричних вимірювань тіла щурів були далі підтвержені визначенням маси вісцерального жиру тварин. Встановлено, що інтактні щури мали всього $2,5 \pm 0,2$ г жиру у черевній порожнині. Неонатальне введення глютамату натрію призводило до значного накопичення вісцерального жиру в черевній порожнині до $17,3 \pm 1,8$ г, що в 5,8 разів ($p < 0,05$) перевищувало показники інтактних щурів (рис. 3.13). За умов застосування моноштамів, маса жиру виявилася меншою на 32,3% ($p < 0,05$) в групі щурів, яким вводили *Bifidobacterium animalis* VKL, на 38,7% ($p < 0,05$) при введенні *Bifidobacterium animalis* VKB та 43,4% ($p < 0,05$) при введенні *Lactobacillus casei* IMVB-7280 у порівнянні з контрольними тваринами з ожирінням (рис. 4.4). Найменший показник маси жиру був виявлений в групі щурів, які

отримували комбінований пробіотик. Зменшення маси жиру в цій групі становило 48,6% ($p < 0,05$) порівняно з групою щурів з ожирінням (рис. 4.4). Проте показників інтактних тварин при введенні трьохштамного пробіотика не було досягнуто: маса жиру перевищувала значення інтактних тварин в 2,5 разів ($p < 0,05$) (рис. 4.4).

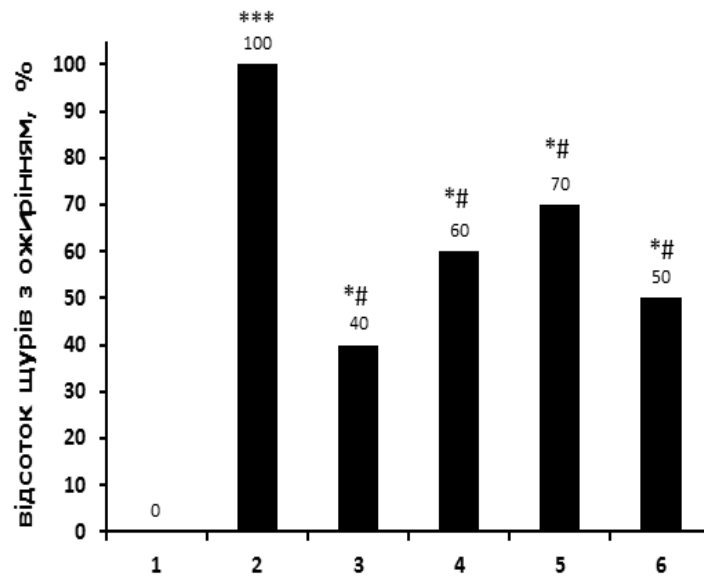


Рис. 4.3. Відсоток тварин з ожирінням в групах з неонатальним введенням глютамату натрію на фоні введення пробіотичних штамів ($3,2 \times 10^{10}$ КУО/кг) ($n=10$ в кожній групі): 1 — інтактні щури; 2 — контрольні щури з ожирінням; 3 — ожиріння + *Bifidobacterium animalis* VKL і VKB та *Lactobacillus casei* IMVB-7280 (1:1:2); 4 — ожиріння + *Bifidobacterium animalis* VKL; 5 — ожиріння + *Bifidobacterium animalis* VKB; 6 — ожиріння + *Lactobacillus casei* IMVB-7280. * $p < 0,05$, *** $p < 0,05$ — порівняно з інтактними щурами, # $p < 0,05$ — порівняно з контрольними щурами з ожирінням.

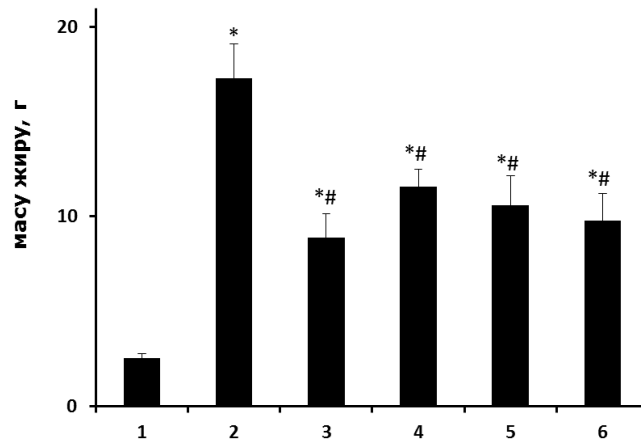


Рис. 4.4. Маса вісцерального жиру щурів за умов ожиріння, викликаного неонатальним введенням глютаму натрію, на фоні введення пробіотичних штамів ($3,2 \times 10^{10}$ КУО/кг) ($n=10$ в кожній групі): 1 — інтактні щури; 2 — контрольні щури з ожирінням; 3 — ожиріння + *Bifidobacterium animalis* VKL і VKB та *Lactobacillus casei* IMVB-7280 (1:1:2); 4 — ожиріння + *Bifidobacterium animalis* VKL; 5 — ожиріння + *Bifidobacterium animalis* VKB; 6 — ожиріння + *Lactobacillus casei* IMVB-7280. * $p < 0,05$ — порівняно з інтактними щурами, # $p < 0,05$ — порівняно з контрольними щурами з ожирінням.

На оригінальних фотографіях видно різницю між ожирінням тварин, що було викликано неонатальним введенням глютаму натрію, та ожирінням тварин, яким вводили трьохштамний пробіотик, який виявляв найбільш значущий терапевтичний ефект (рис. 4.5).

Отже, застосування моделі глютаму-індукованого ожиріння на щурах дозволило отримати значне вісцеральне ожиріння у тварин. Отримані показники підтверджують результати інших дослідників, які встановили, що введення новонародженим гризунам глютаму натрію індукує розвиток вісцерального ожиріння у дорослих тварин та є моделлю ожиріння у цих тварин [17].

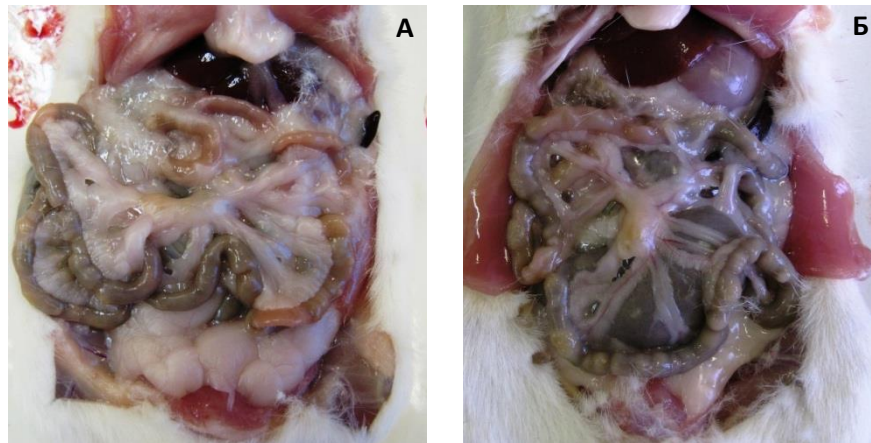


Рис. 4.5. Оригінальні фотографії вісцерального ожиріння щурів, викликаного неонатальним введенням глютамату натрію, на фоні введення пробіотикотерапії: А — контрольний щур з ожирінням; Б — ожиріння + *Bifidobacterium animalis* VKL і VKB та *Lactobacillus casei* IMVB-7280 (1:1:2) ($3,2 \times 10^{10}$ КУО/кг).

Було доведено, що введення глютамату натрію викликає ураження в дугоподібному та вентромедіальному ядрах гіпоталамуса, які стають менш чутливими до лептину та інсуліну, в результаті чого розвивається гіперлептинемія та гіперінсулінемія [18]. В той же час глютамат натрію суттєво стимулює секрецію шлунковими залозами греліну, який запасається в гіпоталамусі та стимулює центри голоду, що призводить до посилення апетиту.

Натрієва сіль глютамінової кислоти є класичним орексигеном (збільшує вживання їжі та її засвоєння). Механізм її дії пов'язаний перш за все з дугоподібними ядрами гіпоталамуса, нейрони яких синтезують орексигенні речовини — нейропептид Y (NPY-нейрони) і меланінопосередковий білок (AGRP-нейрони). Наростання їх концентрації в організмі різко підвищує засвоєння їжі, знижує витрати енергії, приводить до вираженого ожиріння. Глютамат натрію призводить до ураження дугоподібних та вентромедіальних ядер гіпоталамуса, викликаючи їх нечутливість до лептину та інсуліну

(гормонів насичення), в результаті чого розвивається гіперлептинемія та гіперінсулінемія [18].

Важливу роль в механізмах ожиріння відіграє гастроінтестинальний гормон грелін, який виділяється парієтальними клітинами шлунку, слизовою оболонкою ясен і пародонту та в значно меншій кількості кишками. Рівень греліну в крові підвищується натщесерце, перед і в перші хвилини після вживання їжі (особливо із ясен). Такі дані підтверджують, що грелін — гормон апетиту, стимулятор вживання і засвоєння їжі. Його секреція суттєво зростає в умовах стимуляції глутаматом натрію, а накопичення в ядрах гіпоталамуса посилює нейротоксичну дію глутамату натрію.

Отже, за результатами даного підрозділу можна стверджувати про ефективність застосування пробіотичних штамів біфідобактерій та лактобацил для попередження розвитку ожиріння гіпоталамічного генезу. Найбільш суттєвий ефект був виявлений в групі тварин, які отримували композицію трьох пробіотичних штамів *Bifidobacterium animalis* VKL і VKB та *Lactobacillus casei* IMVB-7280 (1:1:2). Отримані дані стали поштовхом для подальшого вивчення фізіологічних механізмів дії досліджуваних пробіотичних штамів за умов ожиріння.

4.2 Стан вуглеводного обміну при глутамат-індукованому ожирінні у щурів за умов корекції пробіотичними штамами лактобацил та біфідобактерій

Цукровий діабет є одним з найпоширеніших захворювань і складає 6-7% всієї популяції людей [286, 287]. Особливе місце займає цукровий діабет типу 2 (ЦД2), який становить 85-90% серед усіх хворих на ЦД, а поширеність у людей похилого віку досягає близько 20% всієї популяції [288-290]. Люди з

ожирінням складають особливу групу ризику щодо захворювання на ЦД2 [291].

ЦД2 є багатofакторним і гетерогенним захворюванням генетичної природи, в основі якого лежить інсулінорезистентність (ІР) [292]. ІР розглядається як порушена біологічна відповідь периферичних тканин організму на вплив ендогенного або екзогенного інсуліну. Біологічна дія інсуліну полягає у регуляції метаболічних реакцій (обмін вуглеводів, жирів і білків) і мітогенних процесів (росту, диференціювання тканин, синтезу ДНК, транскрипції генів) [293]. Тому сучасне поняття ІР не зводиться до параметрів, що характеризують тільки метаболізм вуглеводів, а містить також зміни обміну жирів, білків, функції клітин ендотелію, експресії генів та ін. [294].

Аналіз наукової літератури останніх років свідчить про перспективу застосування пробіотиків у комплексному лікуванні хворих на ЦД2 та ожиріння [295-297]. Особливий інтерес представляють специфічні мікробні препарати з «власної» симбіотичної мікрофлори людини. Вони модулюють різні фізіологічні функції організму, мають гіпохолестеринемічну детоксикаційну дію, регулюють імунітет, здійснюють вазоактивний вплив [298]. У зв'язку з цим метою цього підрозділу було з'ясувати вплив пробіотичних штамів на інсулінорезистентність, викликану глутамат-індукованим ожирінням у щурів.

Встановлено, що через 4 місяці після народження, у щурів, яким на 2-10 добу життя підшкірно вводили глутамат натрію у дозі 4 мг/г, виявили суттєве порушення обміну вуглеводів. Так, в крові щурів з ожирінням було зареєстровано зростання на 41,6% ($p < 0,05$) вмісту глюкози порівняно з показниками інтактних щурів (рис. 4.6). Одночасно зростав рівень інсуліну в крові в 2,1 рази ($p < 0,05$) порівняно з інтактним контролем, що свідчить про розвиток діабету у щурів з ожирінням (рис. 4.7). Визначення індексу НОМА показало розвиток інсулінорезистентності у тварин, яким неонатально вводили глутамату натрію. Так, цей параметр зростав в 2,9 рази ($p < 0,05$) при

глутаматному ожирінні щодо контрольних тварин (рис. 4.8). Отже, отримані дані свідчать про розвиток діабету 2 типу за умов ожиріння гіпоталамічного генезу.

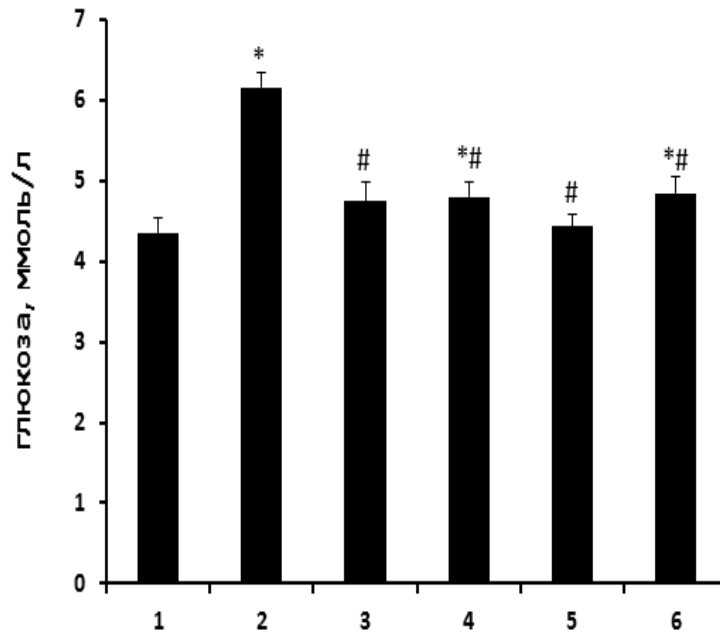


Рис. 4.6. Концентрація глюкози в сироватці крові щурів за умов ожиріння, викликаного неонатальним введенням глутамату натрію, за умов введення пробіотичних штамів ($3,2 \times 10^{10}$ КУО/кг) ($n=10$ в кожній групі, $M \pm m$): 1 — інтактні щури; 2 — контрольні щури з ожирінням; 3 — ожиріння + *Bifidobacterium animalis* VKL і VKB та *Lactobacillus casei* IMVB-7280 (1:1:2); 4 — ожиріння + *Bifidobacterium animalis* VKL; 5 — ожиріння + *Bifidobacterium animalis* VKB; 6 — ожиріння + *Lactobacillus casei* IMVB-7280. * $p < 0,05$ — порівняно з інтактними щурами, # $p < 0,05$ — порівняно з контрольними щурами з ожирінням.

Введення пробіотичних штамів справляло значний превентивний вплив на стан вуглеводного обміну та запобігало розвитку його порушень. Вміст глюкози за умов застосування моноштамів виявився меншим на 21,1% ($p < 0,05$) в групі щурів, яким вводили *Bifidobacterium animalis* VKL, на 28,1%

($p < 0,05$) при введенні *Bifidobacterium animalis* VKB та 21,4% ($p < 0,05$) при введенні *Lactobacillus casei* IMVB-7280 у порівнянні з контрольними тваринами з ожирінням (рис. 4.6). При цьому при застосуванні монопробіотика *Bifidobacterium animalis* VKL рівень глюкози у щурів значущо не відрізнявся від показників інтактних тварин (рис. 4.6).

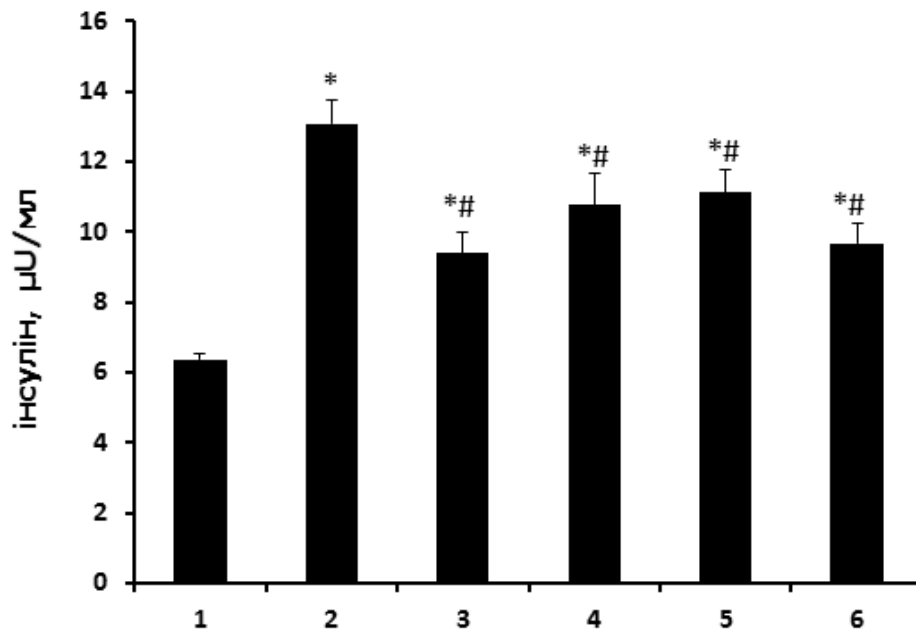


Рис. 4.7. Концентрація інсуліну в сироватці крові щурів за умов ожиріння, викликаного неонатальним введенням глютамату натрію, за умов введення пробіотичних штамів ($3,2 \cdot 10^{10}$ КУО/кг) ($n=10$ в кожній групі, $M \pm m$): 1 — інтактні щури; 2 — контрольні щури з ожирінням; 3 — ожиріння + *Bifidobacterium animalis* VKL і VKB та *Lactobacillus casei* IMVB-7280 (1:1:2); 4 — ожиріння + *Bifidobacterium animalis* VKL; 5 — ожиріння + *Bifidobacterium animalis* VKB; 6 — ожиріння + *Lactobacillus casei* IMVB-7280. * $p < 0,05$ — порівняно з інтактними щурами, # $p < 0,05$ — порівняно з контрольними щурами з ожирінням.

Введення трьохштамного пробіотика *Bifidobacterium animalis* VKL і VKB та *Lactobacillus casei* IMVB-7280 (1:1:2) призводило до зменшення рівня глюкози на 23,1% ($p < 0,05$) порівняно зі щурами з ожирінням. При цьому введення цього комбінованого пробіотика відновлювало вміст глюкози до рівня контрольних значень.

Оцінка рівня інсуліну при введенні монопробіотиків показала зменшення цього показника на 17,6% ($p < 0,05$) в групі щурів, яким вводили *Bifidobacterium animalis* VKL, на 15,0% ($p < 0,05$) при введенні *Bifidobacterium animalis* VKB та 26,0% ($p < 0,05$) при введенні *Lactobacillus casei* IMVB-7280 порівняно з контрольними тваринами з ожирінням (рис. 4.7). При цьому досягнення рівня інтактних щурів при застосуванні моноштамних пробіотиків не спостерігали.

За умов застосування комбінованого пробіотика *Bifidobacterium animalis* VKL і VKB та *Lactobacillus casei* IMVB-7280 (1:1:2) рівень інсуліну зменшувався на 28,1% ($p < 0,05$) порівняно зі щурами з ожирінням. Вплив даного пробіотика був найсильнішим серед досліджуваних, хоча показник вмісту інсуліну не досягав рівня інтактних щурів (рис. 4.7).

Індекс інсулінорезистентності НОМА був на 36,5% ($p < 0,05$) меншим при введенні *Bifidobacterium animalis* VKL, на 39,1% ($p < 0,05$) при введенні *Bifidobacterium animalis* VKB та 41,9% ($p < 0,05$) при введенні *Lactobacillus casei* IMVB-7280 у порівнянні з контрольними тваринами з ожирінням (рис. 4.8). Введення трьохштамного пробіотика *Bifidobacterium animalis* VKL і VKB та *Lactobacillus casei* IMVB-7280 (1:1:2) призводило до зменшення індексу інсулінорезистентності НОМА на 44,4% ($p < 0,05$) порівняно зі щурами з ожирінням, що свідчить про найбільший вплив комбінованого пробіотика на даний показник. Проте застосування пробіотиків не відновлювало індекс НОМА до значень інтактних щурів.

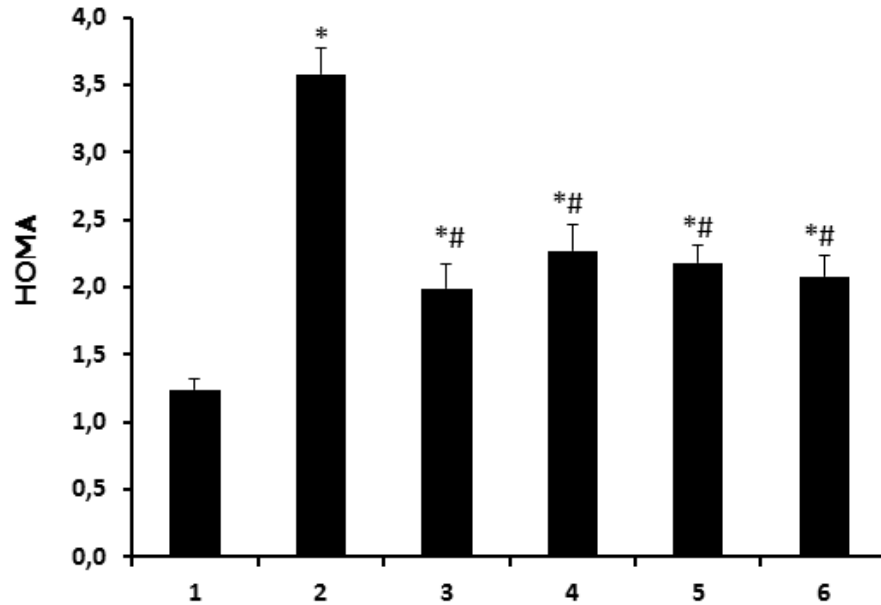


Рис. 4.8. Індекс інсулінорезистентності НОМА у щурів за умов ожиріння, викликаного неонатальним введенням глютамату натрію, за умов введення пробіотичних штамів ($3,2 \times 10^{10}$ КУО/кг) (n=10 в кожній групі, $M \pm m$): 1 — інтактні щури; 2 — контрольні щури з ожирінням; 3 — ожиріння + *Bifidobacterium animalis* VKL і VKB та *Lactobacillus casei* IMVB-7280 (1:1:2); 4 — ожиріння + *Bifidobacterium animalis* VKL; 5 — ожиріння + *Bifidobacterium animalis* VKB; 6 — ожиріння + *Lactobacillus casei* IMVB-7280. * $p < 0,05$ — порівняно з інтактними щурами, # $p < 0,05$ — порівняно з контрольними щурами з ожирінням.

Підсумовуючи результати впливу пробіотичних штамів на вуглеводний обмін за умов ожиріння, можна зробити висновок про ефективний вплив пробіотиків на вміст глюкози, рівень інсуліну та індекс інсулінорезистентності НОМА. Пробіотичні штами знижували ці показники, проте відновлення до рівня інтактних тварин не реєстрували. Параметри вуглеводного обміну у щурів з ожирінням свідчать про розвиток інсулінорезистентності у тварин та діабету II типу. Застосування пробіотиків запобігало розвитку даного патологічного процесу та підтримувало нормальну чутливість до інсуліну

тканин, що відображає індекс інсулінорезистентності. Найсильніший вплив на вказані показники здійснював комбінований пробіотик з трьох штамів *Bifidobacterium animalis* VKL і VKB та *Lactobacillus casei* IMVB-7280 (1:1:2). Це може свідчити про синергетичний ефект дії пробіотичних штамів, коли ефект їх суми більший, ніж ефекти окремих штамів.

Таким чином, отримані результати свідчать про ефективність застосування пробіотичних штамів біфідобактерій та лактобацил для попередження розвитку цукрового діабету 2 типу асоційованого з ожирінням та нормалізації вуглеводного обміну.

4.3 Стан ліпідного обміну при глутамат-індукованому ожирінні у щурів за умов корекції пробіотичними штамами лактобацил та біфідобактерій

Загально відомим є факт, що за умов ожиріння відбуваються зміни ліпідного обміну: в крові наростає рівень тригліцеридів, холестерину, ліпопротеїдів дуже низької щільності (ЛПДНЩ) та знижується вміст ліпопротеїдів високої щільності (ЛПВЩ). Зазначені показники були нами виміряні за умов ожиріння гіпоталамічного генезу, викликаного неонатальним введенням глутамату натрію. За використаної моделі показник вмісту тригліцеридів підвищувався в 3 рази ($p < 0,01$), загального холестерину на 57,0% ($p < 0,01$) щодо інтактних щурів (табл. 3.3). Реєстрували зміщення концентрації ліпопротеїдів в бік ЛПДНЩ, концентрація яких збільшувалася в 3,1 рази ($p < 0,01$) порівняно з інтактними тваринами, а ЛПНЩ при цьому зростала на 84,1% ($p < 0,01$) у щурів з ожирінням. Разом з тим у цих тварин спостерігали суттєве зменшення ЛПВЩ на 37,7 ($p < 0,01$) у порівнянні з

інтактними щурами. Отримані дані свідчать про погіршення ліпідного обміну у щурів з ожирінням гіпоталамічного генезу.

Періодичне введення пробіотиків двотижневими курсами мало суттєвий вплив на обмін ліпідів у дослідних тварин. Значення рівня тригліцеридів були меншими при введенні моноштамних пробіотиків, проте це зменшення не мало статистично значущої різниці порівняно з контрольними щурами з ожирінням. Проте застосування пробіотичної суміші *Bifidobacterium animalis* VKL і VKB та *Lactobacillus casei* IMVB-7280 (1:1:2) призвело до зниження рівня тригліцеридів на 17,1% ($p < 0,05$) щодо щурів з ожирінням. Хоча концентрація тригліцеридів в цій групі тварин перевищувала показники інтактних щурів в 2,48 рази (табл. 4.1).

Концентрація холестерину в сироватці крові щурів після курсів пробіотикотерапії значно знижувалася. Так, монопробіотики зменшували даний показник на 27,2% ($p < 0,01$), 22,8% ($p < 0,01$) та 30,8% ($p < 0,01$) при застосуванні *Bifidobacterium animalis* VKL, *Bifidobacterium animalis* VKB та *Lactobacillus casei* IMVB-7280 відповідно. При цьому відновлення до показників інтактних щурів не було виявлено: при введенні *Bifidobacterium animalis* VKL вміст холестерину був вищий на 14,3% ($p < 0,05$), при введенні *Bifidobacterium animalis* VKB — на 21,2% ($p < 0,05$), при введенні *Lactobacillus casei* IMVB-7280 — на 8,6% ($p < 0,05$) щодо інтактних тварин. Найбільш виражений вплив на рівень холестерину здійснював трьохштамний пробіотик, який зменшував даний показник на 33,2% ($p < 0,01$) порівняно зі щурами з ожирінням. Варто зауважити, що значущих відмінностей між цією групою тварин та інтактними щурами не було виявлено, отже, рівень холестерину в групі тварин, що отримували комбінований пробіотик був в нормі.

Таблиця 4.1

Біохімічні показники ліпідного обміну в сироватці крові щурів за умов глутамат-індукованого ожиріння та корекції пробіотиками (M±m, n=10 у кожній групі).

Показники	Інтактні щури	Контрольні щури з ожирінням	Щури з ожирінням			
			<i>B. animalis</i> VKL і VKB та <i>L. casei</i> IMVB-7280 (1:1:2)	<i>B. animalis</i> VKL	<i>B. animalis</i> VKB	<i>L. casei</i> IMVB-7280
Тригліцериди, ммоль/л	1,17±0,09	3,52±0,16**	2,91±0,23*#	3,11±0,19*	3,07±0,19*	2,80±0,18*#
Загальний холестерин, ммоль/л	4,54±0,09	7,12±0,06**	4,75±0,12##	5,19±0,13*##	5,50±0,15*##	4,93±0,15*##
Ліпопротеїди дуже низької щільності, ммоль/л	0,51±0,04	1,57±0,03**	1,09±0,12*#	1,23±0,13*#	1,25±0,12*#	1,21±0,11*#
Ліпопротеїди низької щільності, ммоль/л	2,36±0,07	4,34±0,07**	2,98±0,15*##	3,58±0,16*#	3,27±0,14*#	3,11±0,13*#
Ліпопротеїди високої щільності, ммоль/л	1,65±0,05	1,03±0,06**	1,44±0,04*#	1,20±0,04*#	1,26±0,04*#	1,31±0,04*#

*, ** — p<0,05, p<0,001 порівняно з інтактними щурами

#, ## — p<0,05, p<0,001 порівняно з контрольними щурами з ожирінням

Концентрація ЛПДНЩ у групах тваринах, яким вводили монопробіотики, знаходилася приблизно на одному рівні і була нижчою на 21,6% (p<0,05) при введенні *Bifidobacterium animalis* VKL, на 20,5% (p<0,05) при введенні *Bifidobacterium animalis* VKB та 23,3% (p<0,05) при введенні *Lactobacillus casei* IMVB-7280 у порівнянні з контрольними тваринами з ожирінням (табл. 4.1). Схожа тенденція була виявлена і для показника

ЛПНЩ, який зменшувався в групі тварин, що отримувала *Bifidobacterium animalis* VKL на 17,5% ($p < 0,05$), *Bifidobacterium animalis* VKB — на 24,7% ($p < 0,05$), *Lactobacillus casei* IMVB-7280 — на 28,3% ($p < 0,05$) порівняно з показниками щурів з ожирінням. Проте відновлення ЛПДНЩ та ЛПНЩ до показників інтактних щурів при введенні монопробіотиків не було виявлено. Рівень ЛПВЩ частково підвищувався при введенні моноштамів: *Bifidobacterium animalis* VKL на 16,2% ($p < 0,05$), *Bifidobacterium animalis* VKB — на 22,6% ($p < 0,05$), *Lactobacillus casei* IMVB-7280 — на 27,7% ($p < 0,05$) порівняно з тваринами, у яких моделювали ожиріння.

Вміст даного ліпопротеїду при введенні *Bifidobacterium animalis* VKL був меншим на 27,6% ($p < 0,05$) щодо інтактних щурів, при введенні *Bifidobacterium animalis* VKB — на 23,5% ($p < 0,05$), *Lactobacillus casei* IMVB-7280 — на 20,4% ($p < 0,05$).

Найбільш значний вплив на рівень ліпопротеїдів був виявлений в групі щурів, яким вводили трьохштамний пробіотик *Bifidobacterium animalis* VKL і VKB та *Lactobacillus casei* IMVB-7280 (1:1:2). ЛПДНЩ та ЛПНЩ при введенні комбінованого пробіотика зменшувалися на 30,7% ($p < 0,05$) та 31,3% ($p < 0,01$) відповідно порівняно з контрольними щурами з ожирінням. Показник концентрації ЛПВЩ при застосуванні цього пробіотика збільшувався на 40,3% ($p < 0,05$). Незважаючи на високу ефективність біохімічні параметри ліпідного обміну не нормалізувалися до рівня інтактних щурів. Так, рівень ЛПДНЩ перевищував контрольні показники в 2,14 рази ($p < 0,05$), ЛПНЩ — на 26,3% ($p < 0,05$), а рівень ЛПВЩ був нижчим на 12,5% ($p < 0,05$).

Отже, підсумовуючи одержані результати, можна стверджувати, що введення пробіотичних штамів запобігало суттєвим порушенням ліпідного обміну у щурів з ожирінням гіпоталамічного генезу. Найбільш виражений вплив був виявлений в групі щурів, яким вводили комбінований пробіотик *Bifidobacterium animalis* VKL і VKB та *Lactobacillus casei* IMVB-7280 (1:1:2), який значно зменшував концентрацію тригліцеридів, нормалізовував рівень

холестерину, знижував рівень ЛПДНЩ, ЛПНЩ та підвищував концентрацію ЛПВЩ практично до показників інтактних тварин.

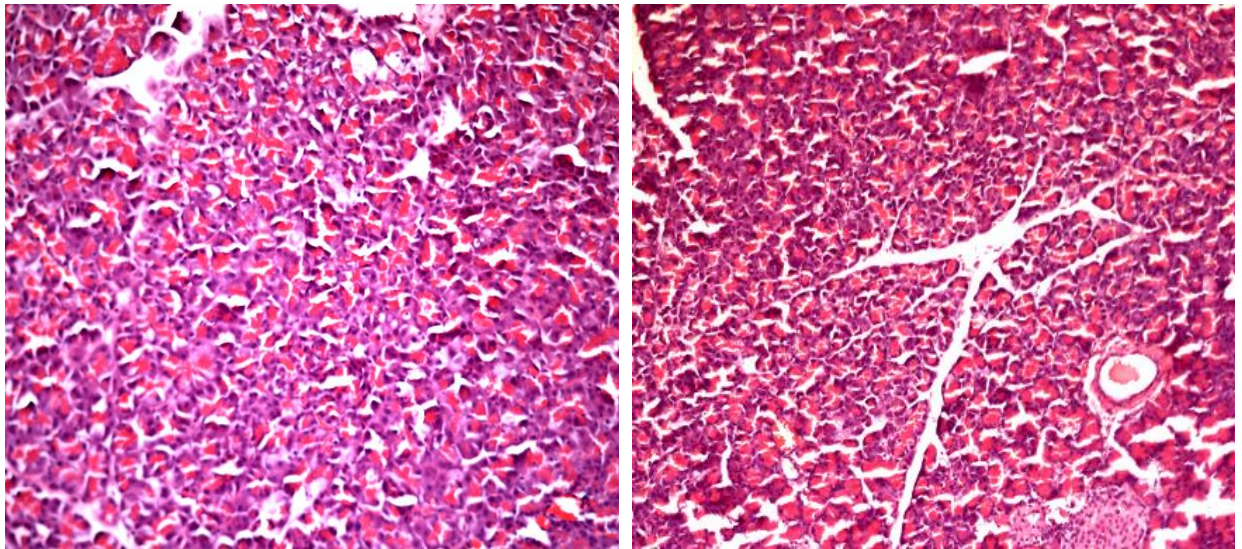
Результати представлені в третьому розділі свідчать про значний лікувально-профілактичний вплив пробіотичних моноштамів *Bifidobacterium animalis* VKL, *Bifidobacterium animalis* VKB та *Lactobacillus casei* IMVB-7280 та комбінованого пробіотика на основі досліджуваних трьох штамів при ожирінні у щурів, викликаному неонатальним введенням глютамату натрію. Серед пробіотиків найбільш ефективним був мультиштамний.

4.4 Структурно-функціональний стан підшлункової залози у щурів за умов експериментального ожиріння, викликаного неонатальним введенням глютамату натрію, та профілактично-лікувального введення пробіотичних штамів лактобацил та біфідобактерій

Ожиріння і виникаючі при ньому метаболічні порушення є одним з етіологічних факторів хвороб підшлункової залози. За останні 30 років відзначено більш ніж двократне зростання частоти панкреатитів. Якщо на початку XX сторіччя захворюваність на гострий панкреатит була низькою, то вже на межі XX-XXI століть за кількістю випадків це захворювання наздогнало гострий апендицит. Незважаючи на досягнуті успіхи в діагностиці та лікуванні панкреатитів, останніми роками відзначено зростання кількості людей із цією патологією, збільшення частоти рецидивів, тривалості загострень, активності клінічних проявів. Значна частина лікарів пов'язує це з порушенням характеру харчування та ожирінням. Механізми взаємозв'язку ожиріння і захворювань підшлункової залози поки залишаються до кінця неясними і вимагають детального вивчення. У зв'язку з цим метою роботи

було дослідити морфофункціональний стан підшлункової залози щурів за умов експериментального ожиріння.

У 4-х місячних щурів інтактної групи та групи плацебо (фізіологічний розчин) підшлункова залоза щурів мала типову будову. Ациноси екзокринної частини підшлункової залози нормальної будови, ациноцити мали конічну форму та виражену полярність - апікальну (зимогенну) та базальну (гомогенну) зони. У базальній частині ациноцитів розміщені ядра з чітко окресленими ядерцями (рис. 4.9). Показники ферментів (амілаза, панкреатична амілаза, ліпаза), що характеризують стан підшлункової залози були в межах норми (Табл. 4.2).



Група 1

Група 2

Рис. 4.9. Мікрофотографії підшлункової залози контрольних груп. – нормальна гістологічна будова екзокринної паренхіми. Заб. гематоксиліном-еозином. Зб. $\times 200$.

Рівень ферментів (амілаза, панкреатична амілаза, ліпаза), що характеризують стан підшлункової залози, був в межах норми (табл. 4.2).

У підшлунковій залозі цієї групи спостерігався виражений міждольковий набряк, міждольковий (рис. 4.10 А) та периваскулярний ліпоматоз (рис. 4.10 Б). Судини були різко розширені, спостерігалось повнокрів'я, утворювалися екстравазати.

Концентрація ферментів в сироватці крові в III групі щурів була збільшена у порівнянні з контрольною групою, а саме амілаза — на 92% ($p < 0,001$), амілаза панкреатична – на 168% ($p < 0,001$) та ліпаза — на 312% ($p < 0,001$) (див. табл. 4.1).

Таблиця 4.2

Активність ферментів у сироватці крові щурів

Показники / Групи тварин	Амілаза	Панкреатична амілаза	Ліпаза
Інтактний контроль	61±4,80	22±1,51	17±1,53
Плацебо (фіз. розчин)	60±4,80	23±1,45	17±1,91
Глутамат натрію	115±9,20*#	59±6,67*#	70±5,60*#
Глутамат натрію + Комбінований пробіотик	86±6,88*	37±2,29*	21±1,91*

Примітка: * — $p < 0,05$ щодо контролю, # — $p < 0,05$ щодо гіперосмолярного розчину хлориду натрію.

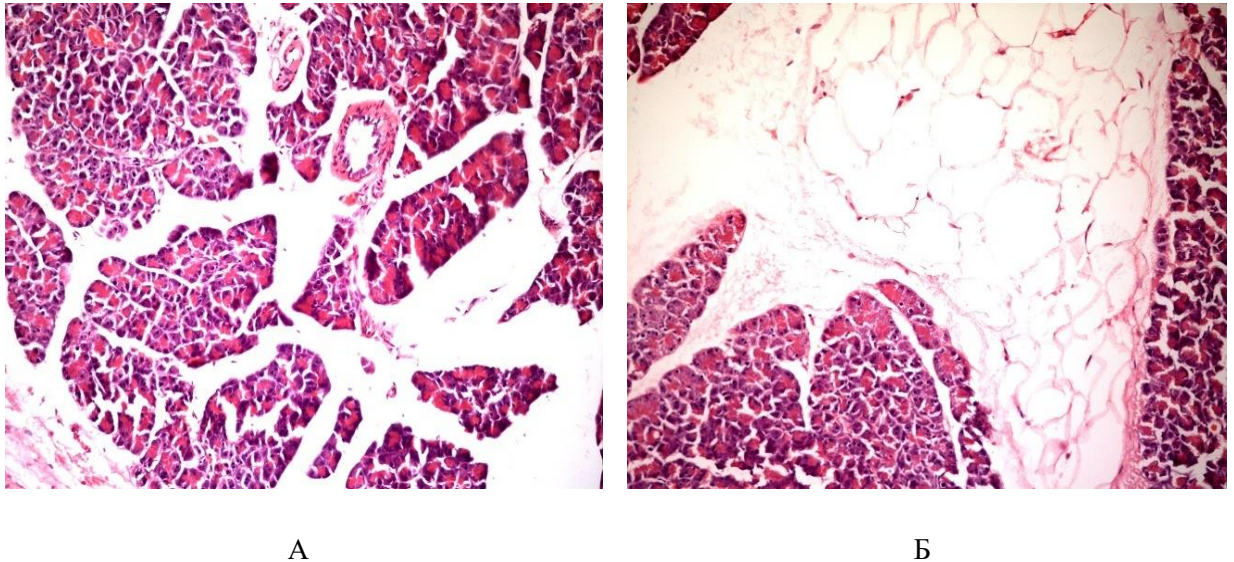


Рис. 4.10. Мікрофотографії підшлункової залози III групи — міждольковий набряк (А), виражений міждольковий ліпоматоз (Б). Заб. гематоксиліном-еозином. Зб. $\times 200$.

У 4-х місячних щурів (IV група), що отримували глютамат натрію (4 мг/г) на 2, 4, 6, 8, 10 день життя, періодичне профілактичне введення трьохштамного пробіотику *Bifidobacterium animalis* VKL і VKB та *Lactobacillus casei* IMVB-7280 (1:1:2) призводило до зменшення маси тіла щурів на 20% ($p < 0,05$) та маси вісцерального жиру на 52% ($p < 0,05$) у порівнянні з групою глютамат натрію (рис. 4.10). Введення пробіотику також знижувало рівень ферментів підшлункової залози, а саме амілазу на 25% ($p < 0,05$), панкреатичну амілазу на 37% ($p < 0,05$) та ліпазу на 70% ($p < 0,05$) у порівнянні з групою глютамат натрію (табл. 4.1).

Введення пробіотику запобігало порушенню морфогенезу підшлункової залози у тварин з глютамат-індукованим ожирінням. В межах екзокринної частини підшлункової залози виявлялися лише поодинокі макрофаги, ознаки значущої лейкоцитарної інфільтрації були відсутні. Ендокринні острівці мали розміри, порівнянні з такими в контрольній групі. Кількість ендокринних

клітин в межах одного острівця була статистично значимо нижчою за показник у тварин з глютамаат-індукованим ожирінням (рис.4.11).

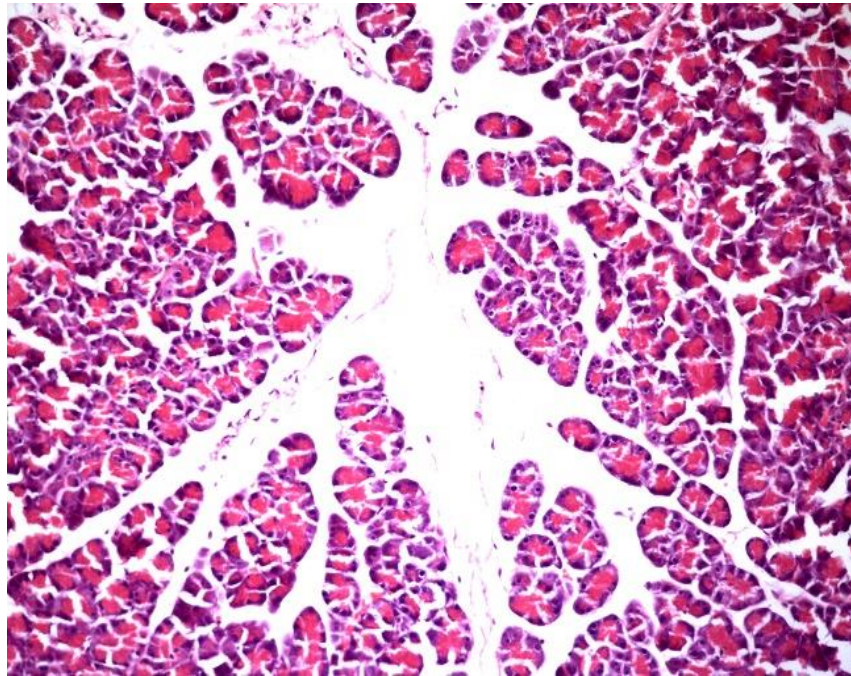


Рис. 4.11. Мікрофотографії підшлункової залоза IV групи (міждольковий набряк). Заб. гематоксиліном-еозином. Зб. x200.

Отримані дані підтверджують результати інших дослідників, які встановили, що введення новонародженим гризунам глютамаату натрію індукує розвиток вісцерального ожиріння у дорослих тварин та є моделлю ожиріння у гризунів [17]. Було доведено, що введення глютамаату натрію викликає ураження в дугоподібному та вентромедіальному ядрах гіпоталамуса, які стають менш чутливими до лептину та інсуліну, в результаті чого розвивається гіперлептинемія та гіперінсулінемія [18]. В той же час глютамаат натрію суттєво стимулює секрецію шлунковими залозами греліну, який запасється в гіпоталамусі та стимулює центри голоду, що призводить до посилення апетиту.

Зміни структури і функції підшлункової залози розвиваються при глютамаат-натрієвому ожирінні. Натрієва сіль глютамінової кислоти є

класичним орексигеном (збільшує вживання їжі та її засвоєння). Механізм її дії зв'язаний перш за все з дугоподібними ядрами гіпоталамуса, нейрони яких синтезують орексигенні речовини — нейропептид Y (NPY-нейрони) і меланін-опосередковий білок (AGRP-нейрони). Наростання їх концентрації в організмі різко підвищує засвоєння їжі, знижує витрати енергії, приводить до вираженого ожиріння. Глутамат натрію призводить до ураження дугоподібних та вентромедіальних ядер гіпоталамуса, викликаючи їх нечутливість до лептину та інсуліну (гормонів насичення), в результаті чого розвивається гіперлептинемія та гіперінсулінемія [18].

Важливу роль в механізмах ожиріння виконує гастроінтестинальний гормон грелін, який виділяється парієтальними клітинами шлунку, слизовою оболонкою ясен і пародонту та в значно меншій кількості кишками. Рівень греліну в крові підвищується натщесерце перед і в перші хвилини після вживання їжі (особливо із ясен). Це дало можливість трактувати його як гормон апетиту, стимулятор вживання і засвоєння їжі.

У нашому дослідженні за умов ожиріння в підшлунковій залозі ми спостерігали виражений міждольковий набряк, міждольковий і периваскулярний ліпоматоз та запалення, характерні для гострого панкреатиту. Судини були різко розширені, спостерігалось повнокрів'я, утворювалися екстравазати. Площа поперечного перерізу ацинусів у порівнянні з інтактним контролем була знижена, що є ознакою стимуляції секреторних процесів у екзокринних клітинах. Площа поперечного перерізу ядер ациноцитів і відстань між часточками підшлункової залози була збільшена, що свідчить про інтенсифікацію синтетичних процесів у клітинах підшлункової залози. І дійсно, рівень ферментів амілази та ліпази значно перевищував контрольні показники. Описані зміни є характерними для гострого панкреатиту.

Ожиріння і виникаючі при ньому метаболічні порушення є одним з патогенетичних факторів хвороб підшлункової залози. За останні 30 років

відзначено більш ніж двократне зростання частоти панкреатитів, схильність до їх ускладнень, особливо у людей з надлишковою вагою [89, 231]. Але деякі дані є суперечливими не дивлячись на численні дослідження. Це певною мірою може бути зумовлено використанням різних діагностичних критеріїв та класифікацій, при цьому точний механізм взаємозв'язку ожиріння та панкреатиту поки що не встановлено [231].

Ми дійшли висновку, що розвиток панкреатиту у щурів, яким в неонатальному періоді вводили глютамат натрію, є результатом не лише накопиченням жирової тканини в підшлунковій залозі, але й обумовлений посиленням інтенсивності синтетичних і секреторних процесів в панкреатичних клітинах.

Таким чином, отримані результати можуть слугувати експериментальним обґрунтуванням та поясненням збільшення захворюваності на панкреатит, особливо тієї частини населення, що харчується в закладах «фаст-фуд», які широко використовують харчові добавки, в тому числі глютамат натрію.

Одержані дані слід враховувати кожній людині при формуванні щоденного раціону, так як харчова сіль і глютамат натрію широко використовуються в багатьох харчових виробництвах і користуються великою популярністю в світі.

Таким чином, неонатальне введення глютамату натрію призводило до ожиріння в дорослому віці та розвитку гострого панкреатиту, що підтверджувалося зміною морфометричних показників підшлункової залози та зростанням концентрації її ферментів в сироватці крові.

Результати представлені в цьому підрозділі свідчать про те, що профілактичне введення комбінованого пробіотика, що складається з *Bifidobacterium animalis* VKL, *Bifidobacterium animalis* VKB та *Lactobacillus casei* IMVB-7280 запобігало порушенню морфогенезу підшлункової залози у тварин з глютамат-індукованим ожирінням.

РОЗДІЛ 5

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ

Ожиріння та надмірна маса тіла не є окремою проблемою, бо можуть підвищувати ризик виникнення таких захворювань, як артеріальна гіпертензія та інсульт, ішемічна хвороба серця, цукровий діабет II типу, порушення ліпідного обміну, захворювання системи дихання, деякі форми раку, хронічна лімфовенозна недостатність, остеоартрит, подагра, репродуктивна дисфункція, жовчнокам'яна хвороба, геморої, місцеві ускладнення [211-215].

Від захворювань, які пов'язані з ожирінням, в світі щорічно помирає 2,5 млн. людей. При схудненні на 10% ризик розвитку серцево-судинної патології знижується на 9%, цукрового діабету — на 44%, смертність від онкологічних захворювань, асоційованих з ожирінням — на 40%, загальна смертність — на 20% [166]. Донедавна жирова тканина вважалася органом для збереження енергії, але протягом останнього десятиліття стало відомо, що вона може синтезувати значну кількість гормонів, серед яких лептин, резистин, адипонектин та ін. [243-246]. Вісцеральний жир (мезентеріальні адипоцити) набагато активніший в ендокринологічному плані, ніж підшкірний [247]. При надмірній масі тіла відбувається не тільки проліферація і гіпертрофія адипоцитів, але і їх інфільтрація макрофагами з подальшим розвитком запальних реакцій, внаслідок чого змінюється метаболічна активність жирової тканини [248]

Дослідження, що проводяться у країнах Європи, північної та південної Америки вказують на те, що ожиріння, що супроводжує гострий панкреатит різної етіології, сприяє виникненню важкої форми панкреатиту, підвищує ризик виникнення ускладнень та збільшує смертність [216-222]. Дослідники вважають, що більша смертність у пацієнтів з ожирінням пов'язане з адитивним ефектом обширного некрозу, регуляцією хронічної запальної

відповіді [223], з наступним підвищеним ризиком поліорганної недостатності і абдомінального компартмент-синдромом [224]. Але деякі дослідники не погоджуються з даними фактами, тому це питання залишається дискусійним [217, 218]. Крім того було встановлено, що вік пацієнтів був найзначнішим фактором, пов'язаним зі смертністю у хворих, які страждали від важкого гострого панкреатиту [225].

Тим не менше, в кількох клінічних дослідженнях було показано, що ожиріння посилює тяжкість захворювання, за рахунок місцевих ускладнень в ПЗ і травм у віддалених органах [226]. Ожиріння збільшує кількість випадків раннього шоку, захворюваність нирок і легеневої недостатності [227] і збільшує час госпіталізації [228]. В дослідженнях проведених на пацієнтах, яке тривало близько трьох років, була встановлена кореляція між ожирінням та тяжкістю гострого панкреатиту [229, 230].

Проведене дослідження на тваринах [231] розглянуло вплив ожиріння на важкість експериментального гострого панкреатиту. У цьому дослідженні порівнювали тварин з генетичним ожирінням (щери лінії Zucker) та тварин з нормальною масою тіла (контроль). Гострий панкреатит викликався введенням у протоку ПЗ натрію таурохолату. Результати показали, що виживаність серед тварин з ожирінням складає 25%, тоді як серед худих — 100%.

Механізми дії ожиріння на тяжкість гострого панкреатиту до кінця не встановлений. Була припущена гіпотеза, що у пацієнтів з ожирінням мають підвищену запальну відповідь в ПЗ [184, 232]. В дослідженні Sempere L. та співавт. було визначено, що концентрація в сироватці інтерлейкіну-1 α (IL-1 α), антагоніста IL-1 рецептора (IL1-RA), IL-6, IL-8, IL-10 і IL-12p70 була значно вища у пацієнтів з гострим панкреатитом у порівнянні з добровольцями, та підвищена концентрація була у пацієнтів з ожирінням [233]. Одним з пояснень є те, що ожиріння саме по собі викликає хронічний запальний процес [104, 232]. Друга гіпотеза полягає в тому, що у пацієнтів з ожирінням підвищена

здатність відкладення жиру всередині і навколо ПЗ, де часто виникає некроз. Ризик виникнення підшлункової інфекції і запалення буде пропорційно підвищений кількості пери-підшлункового жиру. Відповідно, пацієнти з внутрішньо-підшлунковим жиром, більш схильні до розвитку місцевих ускладнень після хірургічних втручань на ПЗ [232, 234]. Цікавий є той факт, що експресія цитокінів в жировій тканині вища за умов ожиріння, ніж у худих суб'єктів [235]. Третя гіпотеза припускає, що за умов ожиріння в ПЗ знижена мікроциркуляція, ніж у пацієнтів, які не страждають ожирінням, що підвищує ризик ішемічного пошкодження з наступним виникненням місцевих інфекцій. Крім того, пацієнти з ожирінням можуть мати імунодефіцит, умова, яка збільшує ризик місцевих інфекцій [236]. Нарешті, оскільки ожиріння обмежує рух грудної стінки і діафрагми, ємність вдиху у пацієнтів з ожирінням, зменшується. Це може призвести до гіпоксії, що, в поєднанні з низьким кровотоком, додатково зменшує насичення тканин киснем в ПЗ.

Встановлений патогенетичний взаємозв'язок між ожирінням і тісно пов'язаним з ним метаболічним синдромом з одного боку та панкреатитом — з іншого [237].

Клер та співавт. висунули гіпотезу, що хронічний панкреатит і зовнішньо секреторна недостатність ПЗ в ряді випадків розвиваються як результат метаболічного синдрому [238]. Перш за все, розвитку метаболічного синдрому і панкреатиту (як гострого, так і хронічного) сприяє надмірне споживання жирної їжі, глютамату натрію та алкоголю. Цьому ж сприяє сучасний «американський» стиль харчування в закладах швидкого харчування.

Під час розвитку метаболічного синдрому порушується гормональний фон з підвищенням в крові рівня естрогенів або андрогенів. При збільшенні в крові вмісту естрогенів формується антиатерогенний ліпідний профіль, а холестерин який надходить з їжею в основному виділяється в жовч. Внаслідок цього жовч перенасичується холестерином, в ній утворюються мікроліти, а потім і конкременти [239]. При тривалому травмуванні мікролітами області

фатерова сосочка формується папілlostеноз, який, в свою чергу, сприяє розвитку внутрішньопротокової панкреатичної гіпертензії, обструктивного хронічного панкреатиту. При панкреатиті прогресує функціональна недостатність ПЗ, в тому числі ендокринна [240]. Вона включається в патогенез метаболічного синдрому, посилюючи прояви цукрового діабету. Таким чином замикається перше патогенетичне кільце [238].

Ожиріння і гіперліпідемія є незалежними достовірними факторами, що погіршують перебіг гострого та хронічного панкреатиту: збільшується тяжкість захворювання, підвищується ризик ускладнень, смертності. Причому цей ризик тим більший, чим більший ступінь ожиріння [256]. Є дані, що вказують на те, що тип ожиріння також має значення. Особливо небезпечним в цьому відношенні є абдомінальний тип ожиріння [258]. Так, було показано, що пацієнти з андроїдним типом ожиріння мають більше шансів на розвиток важких форм гострого панкреатиту внаслідок підвищення системної запальної відповіді [259, 260]. Вісцеральний жир продукує більше запальних медіаторів ніж підшкірний [2].

Отже, багаточисленними дослідженнями доведено тісний взаємозв'язок між ожирінням та розвитком запалення ПЗ.

На сьогодні глутамат натрію є найбільш вживаною харчовою добавкою (посилювач смаку, Е 621). Важко знайти консерви, напівфабрикати або готові продукти, вироблені промисловим шляхом, в яких не було б глутамату натрію. Феномен цієї добавки в тому, що вона сама по собі не смаку, проте здатна підсилювати смак інших продуктів, тобто якщо додати її в любий продукт, то він буде дуже смачним. При цьому допустимі норми можуть бути значно перевищені, що може призводити до захворювань травного тракту та ожиріння [299, 300].

Встановлено, що прийом харчової добавки глутамату натрію в кількості 3 грами на день може викликати ознаки «синдрому китайського ресторану» [272]. В дисертаційній роботі Фалалєєвої Т.М., 2011 було показано, що

щоденне введення глютамату натрію щурам у дозах 15 і 30 мг/кг, які відповідають 1 і 2 грамам на середньостатистичну людину (безпечні для здоров'я людини дози), впродовж 20-ти і 30-ти днів приводило до збільшення маси тіла тварин, секреції гідрохлоридної кислоти та ураження слизової оболонки шлунку, що проявлялося у розвитку крововиливів, ерозій і виразок) [262]. Оскільки в ендокринній і екзокринній частині підшлункової залози щурів знайдені для L-глютамату везикулярні глютаMATні транспортери першого та другого типу та іонотропні і метаботропні глютаMATні рецептори [263, 264], то в цій дисертаційній роботі ми вирішили дослідити вплив тривалого введення глютамату на підшлункову залозу. Тому ми відтворили експеримент з тривалим, а саме 10-ти, 20-ти, 30-ти денним введенням глютамату натрію статевозрілим щурам [300].

Тварини в першій частині експерименту протягом 10, 20 та 30 днів отримували 15 та 30 мг/кг глютамату натрію, що відповідало 1 та 2 г/на день на середньостатистичну людину (0,5 мл *per os*, один раз на день) відповідно. У щурів усіх досліджуваних груп ми аналізували приріст маси тіла. Щоденне введення глютамату натрію щурам в дозі 15 мг/кг (1 грам на середньостатистичну людину) впродовж 20-ти та 30-ти днів викликало до збільшення маси тіла майже в два рази. Збільшення щоденної дози глютамату натрію вдвічі (30 мг/кг) також значно збільшувало масу тіла щурів в середньому в два з половиною рази.

У підшлунковій залозі щурів, що отримували глютаMAT натрію протягом 10-ти днів у дозі 15 мг/кг, виявлені дистрофічні зміни екзокриноцитів та повнокрів'я судин. У щурів, які отримували 30 мг/кг харчової добавки спостерігалися стази в просвіті судин.

20-ти денне введення глютамату натрію в дозі 15 мг/кг викликало в тканині підшлункової залози некробіотичні зміни екзокриноцитів, помірний периваскулярний фіброз та лімфоїдну інфільтрацію. Збільшення щоденної дози харчової добавки вдвічі (30 мг/кг) справляло значно сильніший вплив на

підшлункову залозу. Спостерігалися виражені некробіотичні і некротичні зміни екзокриноцитів, дистрофічні зміни ендокриноцитів та стаз в просвіті судин ендокринної частини. 10-ти та 20-ти денне глютамату натрію вірогідно не змінювало морфометричні показники підшлункової залози.

При подовженні введення глютамату натрію (15 мг/кг) до 30-ти днів ступінь ураженості тканини підшлункової залози зростала ще в більший мірі: були наявні некротичні, некробіотичні та дистрофічні зміни екзо- і ендокриноцитів, виражена лімфоїдна інфільтрація, інтерстиційний набряк. Виявлений помірний периваскулярний і інтерстиціальний фіброз. Після 30-ти денного введення глютамату натрію в дозі 30 мг/кг у підшлунковій залозі спостерігались аналогічні зміни, як і при 30-ти денному введенні в дозі 15 мг/кг, однак були більш виражені некротичні, некробіотичні та дистрофічні зміни екзо- і ендокриноцитів, збільшувалась лейкоцитарна і лімфоїдна інфільтрація, виявлений периваскулярний і інтерстиціальний фіброз, виражений інтерстиційний набряк та дисциркуляторні розлади.

Отже, введення глютамату натрію протягом 30 днів у дозах 15 і 30 мг/кг (що відповідає 1 і 2 грамам глютамату натрію для середньостатистичної людини) викликає некротичні, некробіотичні та дистрофічні зміни екзо- і ендокриноцитів, лейкоцитарну і лімфоїдну інфільтрацію, периваскулярний і інтерстиціальний фіброз, набряк та дисциркуляторні розлади. Введення глютамату натрію призводить також до збільшення площі поперечного перерізу ядер ендокриноцитів та екзокриноцитів, що свідчить про інтенсифікацію синтетичних процесів у клітинах підшлункової залози, а також зменшення площі поперечного перерізу екзокринних клітин підшлункової залози, що є ознакою стимуляції секреторних процесів у екзокринних клітинах. Описані зміни є характерними для гострого панкреатиту.

Таким чином, отримані нами дані ставлять під сумнів традиційні твердження про те, що використання харчової добавки глютамату натрію в розумних межах (1 грам на день) є безпечним [272, 276]. Ми показали, що

щоденне введення глютамату натрію щурам в дозі 15 і 30 мг/кг протягом 30 днів призводить до запалення підшлункової залози. Можна припустити, що споживання глютамату натрію не тільки в кількості 3 г на день є небезпечним для здоров'я людини [274, 275, 280]. Небезпечними можуть бути і низькі дози глютамату натрію (1 і 2 грами на день для середньостатистичної людини) тому, що введення глютамату натрію щурам в дозах 15 і 30 мг/кг (в порівнянні на 1 і 2 грами глютамату натрію для середньостатистичної людини) протягом 30 днів, призводить до збільшення площі поперечного перерізу ядер ендокринних та екзокринних клітин підшлункової залози. Ці факти свідчать про інтенсифікацію синтетичних процесів у клітинах підшлункової залози з одночасним зменшенням площі поперечного перерізу екзокринних клітин, тобто про стимуляцію секреторних процесів у екзокринних клітинах.

Підсумовуючи результати отримані в першій частині дисертаційної роботи можна узагальнити, що глютамат натрію, попадаючи до ротової порожнини збуджує аферентний (чутливий) шлях парасимпатичної нервової системи (трійчастий (V пара черепно-мозкових нервів), лицевий (VII пара черепно-мозкових нервів) та язикоглотковий (IX пара черепно-мозкових нервів) нерви) який іде до довгастого мозку, потім до гіпоталамусу, наслідком чого є збільшення не лише шлункової, а й і підшлункової секреції (перша фаза секреції). Після ротової порожнини, глютамат натрію через глотку та стравохід потрапляє до шлунку і також збуджує аферентний (чутливий) шлях парасимпатичної нервової системи (блукаючий нерв X пара черепно-мозкових нервів) який іде до довгастого мозку, потім до гіпоталамусу, наслідком чого є збільшення не лише шлункової, а й і підшлункової секреції (друга фаза секреції).

Також глютамату натрію може діяти безпосередньо на підшлункову залозу, так як глютамат/аспартат поглинаюча система, аналогічна описаній в центральній нервовій системі, була знайдена в тканині підшлункової залози

[263]. Крім того, численні дослідження показали наявність глутаматних рецепторів в ендо- та екзокринних клітинах підшлункової залози [264].

Таким чином, глутамат натрію може стимулювати секрецію підшлункової залози через першу і другу фази секреції та активуючи глутаматні рецептори в ендо- та екзокринних клітинах підшлункової залози (рис 5.1). Тому, тривале щоденне введення глутамату натрію призводить до надмірного збільшення синтетичних і секреторних процесів у клітинах підшлункової та до розвитку панкреатиту. Для інтерпретації одержаних результатів на людину, слід взяти до уваги той факт, що вік щурів набагато менший ніж у людини та метаболічні процеси проходять набагато швидше. Більшість дослідників вважають, що 10 днів щурів, відповідають 3 місяцям людини, 20 днів та 30 днів відповідно 6 і 9 місяцям [281]. Таким чином, глутамат можна включити до групи речовин, що стимулюють секрецію підшлункової залози, а отримані результати можуть слугувати експериментальним обґрунтуванням та поясненням погіршення захворюваності на панкреатит, особливо тієї частини населення, що зловживає харчуванням в закладах «фаст-фуд». Одержані дані слід враховувати кожній людині при формуванні щоденного раціону, так як глутамат натрію широко використовується в багатьох харчових виробництвах і користується великою популярністю в світі.

Наукові дослідження останніх років свідчать про зміну не лише раціону харчування, але й подальшу зміну мікрофлори шлунково-кишкового тракту. Протягом останнього десятиліття проведено декілька наукових досліджень, спрямованих на вивчення ролі мікрофлори у процесах метаболізму макроорганізму.

В сучасній науковій літературі активно дискутується питання впливу пробіотиків на жировий обмін та ожиріння [204, 205, 207]. Backhed F. та співавт. у 2004 були піонерами в дослідженні ролі мікрофлори товстої кишки у регуляції обміну речовин [21]. Вказана публікація була поштовхом для досліджень у цій області які показали, що мікрофлора кишечника змінюється

у людей з надмірною масою тіла, і що мікробіоценоз кишки можна вважати екологічним чинником, який модулює розвиток ожиріння.

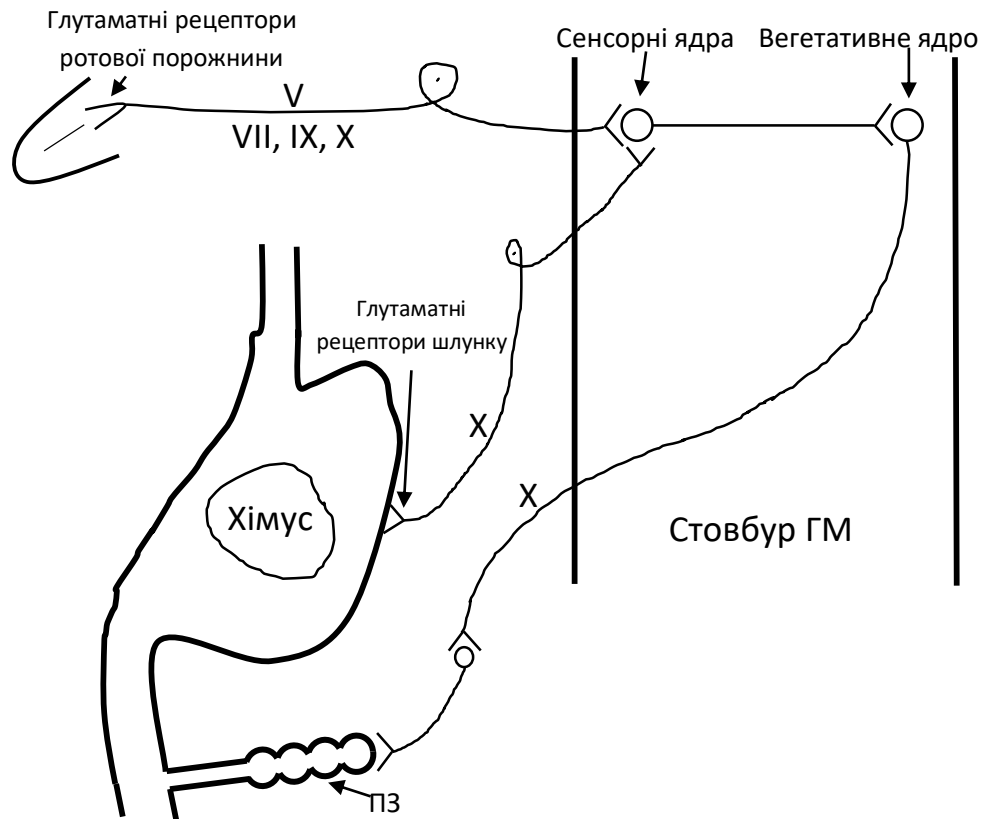


Рис 5.1. Схематичне зображення участі глутамату натрію в стимуляції секреції підшлункової залози

Так, у 2010 р. проведено дослідження, в якому порівнювали мікрофлору кишечника у дітей, які проживають у Буркіна-Фасо та харчуються переважно їжею, багатою на харчові волокна, з мікрофлорою кишечника у дітей, що мешкають в Італії. Використання методу секвенування генів *16S* рибосомальної РНК і біохімічного аналізу дозволило виявити суттєві відмінності у складі інтестинальної мікрофлори та рівня коротколанцюгових жирних кислот між двома групами дітей. У дітей Буркіна-Фасо переважали мікроорганізми роду *Bacteroides spp.*, у дітей з Італії — *Firmicutes spp.* [199].

В іншому дослідженні порівнювали мікробіоценоз мишей із недостатньою масою тіла і мишей із генетично детермінованим ожирінням.

Обидві групи мишей утримувались на однаковій вуглеводній дієті. Згідно з даними дослідження, у мишей з ожирінням відзначали зменшення на 50% кількості бактерій роду *Bacteroides spp.* та пропорційне збільшення кількості бактерій роду *Firmicutes spp.* Також у мишей з ожирінням виявляли мікроорганізми класу *Archaea spp.* (вид *Methanobrevibacter smithii*), що мають здатність підвищувати процес ферментації полісахаридів та продукують метан [203]. Калорійність фекалій мишей з ожирінням була вищою, ніж у мишей з недостатньою масою тіла, що свідчить про підвищену утилізацію калорій з їжі. Таким чином, мікрофлора може бути одним із факторів, що спричиняють ожиріння. Також, в роботах останніх років були встановлені позитивні ефекти пробіотичних бактерій на розвиток ожиріння. Показано, що застосування *Lactobacillus gasseri* SBT₂₀₅₅ та *Lactobacillus paracasei* SSP *paracasei* F19 (F19) попередило розвиток дієт-індукованого ожиріння [208].

Зважаючи на зростання поширеності ожиріння, в тому числі пов'язаного з погіршенням характеру харчування, наслідком чого є не лише серйозні патологічні зміни травної системи, але й її мікробіому та стану цілого організму, корекція дієти пробіотичними препаратами надзвичайно актуальна. Залишається неповністю вирішеним завдання пошуку та відбору ефективних штамів та порівняння ефективності монопробіотиків та комбінованих пробіотиків на основі декількох штамів мікроорганізмів для корекції метаболічних змін. У зв'язку з зазначеним метою другої частини дисертаційної роботи було дослідити вплив моно-, полі- та комбінованих пробіотиків на розвиток експериментального ожиріння у щурів, викликаного неонатальним введенням глютаматом натрію.

В цій частині роботи ми використали загальновизнану модель вісцерального ожиріння, а саме неонатального введення глютамату натрію. Ще у 70-тих роках минулого сторіччя було показано, що введення глютамату натрію новонародженим щурам викликало затримку росту, зміни функції кори надниркових залоз, розвиток толерантності до глюкози [17, 301]. Через кілька

років був зроблений висновок про те, що введення глютамаму новонародженим щурам уражає головним чином гіпоталамус, зокрема, дугоподібні і паравентрикулярні ядра [302, 303], які стають менш чутливими до лептину та інсуліну, в результаті чого розвивається гіперлептинемія та гіперінсулінемія [18], що в свою чергу викликає порушення ендокринної функції та розвиток вісцерального ожиріння.

В той же час глютамаму натрію суттєво стимулює секрецію шлунковими залозами греліну, який запасається в гіпоталамусі та стимулює центри голоду, що призводить до посилення апетиту [303].

Так, новонародженим щурам II-VI груп підшкірно у об'ємі 8 мкл/г вводили глютамаму натрію (4 мг/г) відповідно на 2, 4, 6, 8, 10 день життя і через 4 місяці їх брали в експеримент. Встановлено, що через 4 місяці після народження у щурів, яким на 2-10 добу життя підшкірно вводили глютамаму натрію у дозі 4 мг/г, розвивалося суттєве вісцеральне ожиріння. Встановлено, що у тварин з ожирінням уповільнюється ріст, при цьому маса тіла не відрізняється від показників інтактних тварин. Хоча тварини, яким вводили глютамаму натрію, були коротші, вони були більш округлої форми, що пояснює відсутність різниці маси. Отже, за даною моделі глютамаму-індукованого вісцерального ожиріння, уповільнюється розвиток і ріст тварин з одночасним набором надлишкової маси тіла.

За умов введення пробіотичних штамів не було зафіксовано відмінностей у масі тіла дослідних тварин. Проте, при вимірюванні довжини тіла було встановлено, що хоча всі щури, що отримували впродовж 3 місяців (з віку 1 місяць до 4-місячного віку) курсами комбінований пробіотик (*Bifidobacterium animalis* VKL і VKB та *Lactobacillus casei* IMVB-7280 (1:1:2)) та 3 монопробіотики (*Bifidobacterium animalis* VKL, *Bifidobacterium animalis* VKB, *Lactobacillus casei* IMVB-7280), були значущо коротшими за довжиною тіла щодо інтактних тварин, група тварин, яким вводили комбінований пробіотик, мала більшу довжину тіла на 12,2% ($p < 0,05$) порівняно з

контрольними щурами з ожирінням. Це свідчить, що пробіотик на основі 3 штамів мікроорганізмів частково відновлював нормальні процеси росту тварин за умов лікувально-профілактичного введення курсами.

Хоча вимірювання маси та довжини тіла і відображають зміни параметрів тіла при ожирінні, проте більш інформативним є обчислення співвідношення між цими показниками. Найбільш зручними для представлення результатів по ожирінню у щурів є індекс маси тіла (ІМТ) та індекс Лі.

Було встановлено, що ІМТ зростає на 54,4% ($p < 0,05$) у щурів, яким неонатально вводили глютамат натрію, що підтверджує ожиріння тварин цієї групи.

В групах щурів, яким вводили пробіотики, також спостерігали перевищення ІМТ контрольних показників: на 17,8% ($p < 0,05$) в групі, що отримувала *Bifidobacterium animalis* VKL і VKB та *Lactobacillus casei* IMVB-7280 (1:1:2), 31,8% ($p < 0,05$) — за умов введення *Bifidobacterium animalis* VKL, 38,2% ($p < 0,05$) — *Bifidobacterium animalis* VKB, 33,2% ($p < 0,05$) — *Lactobacillus casei* IMVB-7280. Проте, необхідно відмітити, що цей показник за умов застосування пробіотиків був суттєво нижчим, ніж в групі контрольних щурів з ожирінням. Так, щури, що отримували комбінований пробіотик, мали ІМТ на 23,7% ($p < 0,05$) менший ніж у контрольних щурів з ожирінням. При введенні *Bifidobacterium animalis* VKL, *Bifidobacterium animalis* VKB, *Lactobacillus casei* IMVB-7280 показники ІМТ виявилися меншими на 14,7% ($p < 0,05$), 10,5% ($p < 0,05$) та 13,8% ($p < 0,05$) порівняно зі щурами з ожирінням. Отже, пробіотичні штами виявилися ефективними в попередженні розвитку ожиріння гіпоталамічного генезу.

Іншим, без сумніву, важливим індексом для оцінки ступеня ожиріння є індекс Лі. Використання цього критерію дозволяє більш точно оцінити відмінності між групами та виявити відмінності, які не були значущими при застосуванні інших критеріїв, за рахунок меншого розкиду значень.

Встановлено, що глутамат-індуковане ожиріння зумовлює суттєве зростання індексу Лі. У щурів, яким неонатально вводили глутамат натрію, цей показник перевищував на 23,8% ($p < 0,01$) значення інтактних тварин. Застосування пробіотиків зумовило значне зниження індексу Лі, що підтверджує їх позитивний вплив на обмін речовин та попередження розвитку ожиріння, обумовленого нейротоксичним ефектом глутамату натрію на гіпоталамус. При введенні *Bifidobacterium animalis* VKL, *Bifidobacterium animalis* VKB, *Lactobacillus casei* IMVB-7280 індекс Лі знизився на 7,2% ($p < 0,05$), 4,9% ($p < 0,05$) та 7,1% ($p < 0,05$) порівняно зі щурами з ожирінням. Найбільш значущим було зменшення індексу Лі за умов введення комбінованого трьохштамного пробіотика: цей показник зменшувався на 12,1% ($p < 0,05$) щодо рівня контрольних тварин з ожирінням.

Застосування індексу Лі також дозволило оцінити поширеність ожиріння в кожній групі тварин — відсоток тварин, що страждають на цю патологію. Показник індексу Лі 0,3 вважали межею: індекс Лі $> 0,3$ — ожиріння є, індекс Лі $< 0,3$ — ожиріння немає. В групі контрольних щурів глутамат натрію, введений у вигляді неонатальної підшкірної ін'єкції, зумовлював розвиток ожиріння у 100% тварин.

Введення пробіотичних штамів зумовлює практично двократне зменшення поширеності ожиріння у щурів. Найменший показник відсотка тварин з індексом Лі більше 0,3 спостерігали в групі тварин, що отримували комбінований пробіотик *Bifidobacterium animalis* VKL і VKB та *Lactobacillus casei* IMVB-7280 (1:1:2). В цій групі показник поширеності ожиріння складав лише 40%.

Неонатальне введення глутамату натрію призводило до значного накопичення вісцерального жиру в черевній порожнині, що в 5,8 разів ($p < 0,05$) перевищувало показники інтактних щурів. За умов застосування моноштамів, маса жиру виявилася меншою на 32,3% ($p < 0,05$) в групі щурів, яким вводили *Bifidobacterium animalis* VKL, на 38,7% ($p < 0,05$) при введенні *Bifidobacterium*

animalis VKB та 43,4% ($p < 0,05$) при введенні *Lactobacillus casei* IMVB-7280 у порівнянні з контрольними тваринами з ожирінням. Найменший показник маси жиру був виявлений в групі щурів, які отримували комбінований пробіотик. Зменшення маси жиру в цій групі становило 48,6% ($p < 0,05$) порівняно з групою щурів з ожирінням. Проте показників інтактних тварин при введенні трьохштамного пробіотика не було досягнуто: маса жиру перевищувала значення інтактних тварин в 2,5 разів ($p < 0,05$).

Отже, застосування моделі глутамат-індукованого ожиріння на щурах дозволило отримати значне вісцеральне ожиріння у тварин. Отримані показники підтверджують результати інших дослідників, які встановили, що введення новонародженим гризунам глутамату натрію індукує розвиток вісцерального ожиріння у дорослих тварин та є моделлю ожиріння у цих тварин [17, 18].

Натрієва сіль глутамінової кислоти є класичним орексигеном (збільшує вживання їжі та її засвоєння). Механізм її дії пов'язаний перш за все з дугоподібними ядрами гіпоталамуса, нейрони яких синтезують орексигенні речовини — нейропептид Y (NPY-нейрони) і меланін-опосередковий білок (AGRP-нейрони). Наростання їх концентрації в організмі різко підвищує засвоєння їжі, знижує витрати енергії, приводить до вираженого ожиріння. Глутамат натрію призводить до ураження дугоподібних та вентромедіальних ядер гіпоталамуса, викликаючи їх нечутливість до лептину та інсуліну (гормонів насичення), в результаті чого розвивається гіперлептинемія та гіперінсулінемія [18].

Важливу роль в механізмах ожиріння відіграє гастроінтестинальний гормон грелін, який виділяється парієтальними клітинами шлунку, слизовою оболонкою ясен і пародонту та в значно меншій кількості кишками. Рівень греліну в крові підвищується натщесерце, перед і в перші хвилини після вживання їжі (особливо із ясен). Такі дані підтверджують, що грелін — гормон

апетиту, стимулятор вживання і засвоєння їжі. Його секреція суттєво зростає в умовах стимуляції глутаматом натрію, а накопичення в ядрах гіпоталамуса посилює нейротоксичну дію глутамату натрію.

Отже, можна стверджувати про ефективність застосування пробіотичних штамів біфідобактерій та лактобацил для попередження розвитку ожиріння гіпоталамічного генезу. Найбільш суттєвий ефект був виявлений в групі тварин, які отримували композицію трьох пробіотичних штамів *Bifidobacterium animalis* VKL і VKB та *Lactobacillus casei* IMVB-7280 (1:1:2). Отримані дані стали поштовхом для подальшого вивчення фізіологічних механізмів дії досліджуваних пробіотичних штамів за умов ожиріння.

Аналіз наукової літератури останніх років свідчить про перспективу застосування пробіотиків у комплексному лікуванні хворих на ЦД2 та ожиріння [296, 297]. Особливий інтерес представляють специфічні мікробні препарати з «власної» симбіотичної мікрофлори людини. Вони модулюють різні фізіологічні функції організму, мають гіпохолестеринемічну детоксикаційну дію, регулюють імунітет, здійснюють вазоактивний вплив [298]. У зв'язку з цим далі ми вирішили з'ясувати вплив пробіотичних штамів на інсулінорезистентність, викликану глутамат-індукованим ожирінням у щурів.

Встановлено, що через 4 місяці після народження, у щурів, яким на 2-10 добу життя підшкірно вводили глутамат натрію у дозі 4 мг/г, виявили суттєве порушення обміну вуглеводів. Так, в крові щурів з ожирінням було зареєстровано зростання на 41,6% ($p < 0,05$) вмісту глюкози порівняно з показниками інтактних щурів. Одночасно зростав рівень інсуліну в крові в 2,1 рази ($p < 0,05$) порівняно з інтактним контролем, що свідчить про розвиток діабету у щурів з ожирінням. Визначення індексу НОМА показало розвиток інсулінорезистентності у тварин, яким неонатально вводили глутамату натрію. Так, цей параметр зростав в 2,9 рази ($p < 0,05$) при глутаматному ожирінні щодо

контрольних тварин. Отже, отримані дані свідчать про розвиток діабету 2 типу за умов ожиріння гіпоталамічного генезу.

Введення пробіотичних штамів справляло значний превентивний вплив на стан вуглеводного обміну та запобігало розвитку його порушень. Вміст глюкози за умов застосування моноштамів виявився меншим на 21,1% ($p < 0,05$) в групі щурів, яким вводили *Bifidobacterium animalis* VKL, на 28,1% ($p < 0,05$) при введенні *Bifidobacterium animalis* VKB та 21,4% ($p < 0,05$) при введенні *Lactobacillus casei* IMVB-7280 у порівнянні з контрольними тваринами з ожирінням. При цьому при застосуванні монопробіотика *Bifidobacterium animalis* VKL рівень глюкози у щурів значущо не відрізнявся від показників інтактних тварин. Введення трьохштамного пробіотика *Bifidobacterium animalis* VKL і VKB та *Lactobacillus casei* IMVB-7280 (1:1:2) призводило до зменшення рівня глюкози на 23,1% ($p < 0,05$) порівняно зі щурами з ожирінням. При цьому введення цього комбінованого пробіотика відновлювало вміст глюкози до рівня контрольних значень.

Оцінка рівня інсуліну при введенні монопробіотиків показала зменшення цього показника на 17,6% ($p < 0,05$) в групі щурів, яким вводили *Bifidobacterium animalis* VKL, на 15,0% ($p < 0,05$) при введенні *Bifidobacterium animalis* VKB та 26,0% ($p < 0,05$) при введенні *Lactobacillus casei* IMVB-7280 порівняно з контрольними тваринами з ожирінням. При цьому досягнення рівня інтактних щурів при застосуванні моноштамних пробіотиків не спостерігали.

За умов застосування комбінованого пробіотика *Bifidobacterium animalis* VKL і VKB та *Lactobacillus casei* IMVB-7280 (1:1:2) рівень інсуліну зменшувався на 28,1% ($p < 0,05$) порівняно зі щурами з ожирінням. Вплив даного пробіотика був найсильнішим серед досліджуваних, хоча показник вмісту інсуліну не досягав рівня інтактних щурів.

Індекс інсулінорезистентності НОМА був на 36,5% ($p < 0,05$) меншим при введенні *Bifidobacterium animalis* VKL, на 39,1% ($p < 0,05$) при введенні

Bifidobacterium animalis VKB та 41,9% ($p < 0,05$) при введенні *Lactobacillus casei* IMVB-7280 у порівнянні з контрольними тваринами з ожирінням. Введення трьохштамного пробіотика *Bifidobacterium animalis* VKL і VKB та *Lactobacillus casei* IMVB-7280 (1:1:2) призводило до зменшення індексу інсулінорезистентності НОМА на 44,4% ($p < 0,05$) порівняно зі щурами з ожирінням, що свідчить про найбільший вплив комбінованого пробіотика на даний показник. Проте застосування пробіотиків не відновлювало індекс НОМА до значень інтактних щурів.

Підсумовуючи результати впливу пробіотичних штамів на вуглеводний обмін за умов ожиріння, можна зробити висновок про ефективний вплив пробіотиків на вміст глюкози, рівень інсуліну та індекс інсулінорезистентності НОМА. Пробіотичні штами знижували ці показники, проте відновлення до рівня інтактних тварин не реєстрували. Параметри вуглеводного обміну у щурів з ожирінням свідчать про розвиток інсулінорезистентності у тварин та діабету II типу. Застосування пробіотиків запобігало розвитку даного патологічного процесу та підтримувало нормальну чутливість до інсуліну тканин, що відображає індекс інсулінорезистентності. Найсильніший вплив на вказані показники здійснював комбінований пробіотик з трьох штамів *Bifidobacterium animalis* VKL і VKB та *Lactobacillus casei* IMVB-7280 (1:1:2). Це може свідчити про синергетичний ефект дії пробіотичних штамів, коли ефект їх суми більший, ніж ефекти окремих штамів.

Таким чином, отримані результати свідчать про ефективність застосування пробіотичних штамів біфідобактерій та лактобацил для попередження розвитку цукрового діабету 2 типу асоційованого з ожирінням та нормалізації вуглеводного обміну.

Загально відомим є факт, що за умов ожиріння відбуваються зміни ліпідного обміну: в крові наростає рівень тригліцеридів, холестерину, ліпопротеїдів дуже низької щільності (ЛПДНЩ) та знижується вміст ліпопротеїдів високої щільності (ЛПВЩ). Зазначені показники були нами

вимірянні за умов ожиріння гіпоталамічного генезу, викликаного неонатальним введенням глютаму натрію. За використаної моделі показник вмісту тригліцеридів підвищувався в 3 рази ($p < 0,01$), загального холестерину на 57,0% ($p < 0,01$) щодо інтактних щурів. Реєстрували зміщення концентрації ліпопротеїдів в бік ЛПДНЩ, концентрація яких збільшувалася в 3,1 рази ($p < 0,01$) порівняно з інтактними тваринами, а ЛПНЩ при цьому зростала на 84,1% ($p < 0,01$) у щурів з ожирінням. Разом з тим у цих тварин спостерігали суттєве зменшення ЛПВЩ на 37,7 ($p < 0,01$) у порівнянні з інтактними щурами. Отримані дані свідчать про погіршення ліпідного обміну у щурів з ожирінням гіпоталамічного генезу.

Періодичне введення пробіотиків двотижневими курсами мало суттєвий вплив на обмін ліпідів у дослідних тварин. Значення рівня тригліцеридів були меншими при введенні моноштамних пробіотиків, проте це зменшення не мало статистично значущої різниці порівняно з контрольними щурами з ожирінням. Проте застосування пробіотичної суміші *Bifidobacterium animalis* VKL і VKB та *Lactobacillus casei* IMVB-7280 (1:1:2) призвело до зниження рівня тригліцеридів на 17,1% ($p < 0,05$) щодо щурів з ожирінням. Хоча концентрація тригліцеридів в цій групі тварин перевищувала показники інтактних щурів в 2,48 рази.

Концентрація холестерину в сироватці крові щурів після курсів пробіотикотерапії значно знижувалася. Так, монопробіотики зменшували даний показник на 27,2% ($p < 0,01$), 22,8% ($p < 0,01$) та 30,8% ($p < 0,01$) при застосуванні *Bifidobacterium animalis* VKL, *Bifidobacterium animalis* VKB та *Lactobacillus casei* IMVB-7280 відповідно. При цьому відновлення до показників інтактних щурів не було виявлено: при введенні *Bifidobacterium animalis* VKL вміст холестерину був вищий на 14,3% ($p < 0,05$), при введенні *Bifidobacterium animalis* VKB — на 21,2% ($p < 0,05$), при введенні *Lactobacillus casei* IMVB-7280 — на 8,6% ($p < 0,05$) щодо інтактних тварин. Найбільш виражений вплив на рівень холестерину здійснював трьохштамний

пробіотик, який зменшував даний показник на 33,2% ($p < 0,01$) порівняно зі щурами з ожирінням. Варто зауважити, що значущих відмінностей між цією групою тварин та інтактними щурами не було виявлено, отже, рівень холестерину в групі тварин, що отримували комбінований пробіотик був в нормі.

Концентрація ЛПДНЩ у групах тваринах, яким вводили монопробіотики, знаходилася приблизно на одному рівні і була нижчою на 21,6% ($p < 0,05$) при введенні *Bifidobacterium animalis* VKL, на 20,5% ($p < 0,05$) при введенні *Bifidobacterium animalis* VKB та 23,3% ($p < 0,05$) при введенні *Lactobacillus casei* IMVB-7280 у порівнянні з контрольними тваринами з ожирінням. Схожа тенденція була виявлена і для показника ЛПНЩ, який зменшувався в групі тварин, що отримувала *Bifidobacterium animalis* VKL на 17,5% ($p < 0,05$), *Bifidobacterium animalis* VKB — на 24,7% ($p < 0,05$), *Lactobacillus casei* IMVB-7280 — на 28,3% ($p < 0,05$) порівняно з показниками щурів з ожирінням. Проте відновлення ЛПДНЩ та ЛПНЩ до показників інтактних щурів при введенні монопробіотиків не було виявлено. Рівень ЛПВЩ частково підвищувався при введенні моноштамів: *Bifidobacterium animalis* VKL на 16,2% ($p < 0,05$), *Bifidobacterium animalis* VKB — на 22,6% ($p < 0,05$), *Lactobacillus casei* IMVB-7280 — на 27,7% ($p < 0,05$) порівняно з тваринами, у яких моделювали ожиріння.

Вміст даного ліпопротеїду при введенні *Bifidobacterium animalis* VKL був меншим на 27,6% ($p < 0,05$) щодо інтактних щурів, при введенні *Bifidobacterium animalis* VKB — на 23,5% ($p < 0,05$), *Lactobacillus casei* IMVB-7280 — на 20,4% ($p < 0,05$).

Найбільш значний вплив на рівень ліпопротеїдів був виявлений в групі щурів, яким вводили трьохштамний пробіотик *Bifidobacterium animalis* VKL і VKB та *Lactobacillus casei* IMVB-7280 (1:1:2). ЛПДНЩ та ЛПНЩ при введенні комбінованого пробіотика зменшувалися на 30,7% ($p < 0,05$) та 31,3% ($p < 0,01$) відповідно порівняно з контрольними щурами з ожирінням. Показник

концентрації ЛПВЩ при застосуванні цього пробіотика збільшувався на 40,3% ($p < 0,05$). Незважаючи на високу ефективність біохімічні параметри ліпідного обміну не нормалізувалися до рівня інтактних щурів. Так, рівень ЛПДНЩ перевищував контрольні показники в 2,14 рази ($p < 0,05$), ЛПНЩ — на 26,3% ($p < 0,05$), а рівень ЛПВЩ був нижчим на 12,5% ($p < 0,05$).

Отже, підсумовуючи одержані результати, можна стверджувати, що введення пробіотичних штамів запобігало суттєвим порушенням ліпідного обміну у щурів з ожирінням гіпоталамічного генезу. Найбільш виражений вплив був виявлений в групі щурів, яким вводили комбінований пробіотик *Bifidobacterium animalis* VKL і VKB та *Lactobacillus casei* IMVB-7280 (1:1:2), який значно зменшував концентрацію тригліцеридів, нормалізовував рівень холестерину, знижував рівень ЛПДНЩ, ЛПНЩ та підвищував концентрацію ЛПВЩ практично до показників інтактних тварин.

Ожиріння і виникаючі при ньому метаболічні порушення є одним з етіологічних факторів хвороб підшлункової залози. За останні 30 років відзначено більш ніж двократне зростання частоти панкреатитів. Якщо на початку ХХ сторіччя захворюваність на гострий панкреатит була низькою, то вже на межі ХХ-ХХІ століть за кількістю випадків це захворювання наздогнало гострий апендицит. Незважаючи на досягнуті успіхи в діагностиці та лікуванні панкреатитів, останніми роками відзначено зростання кількості людей із цією патологією, збільшення частоти рецидивів, тривалості загострень, активності клінічних проявів. Значна частина лікарів пов'язує це з порушенням характеру харчування та ожирінням. Механізми взаємозв'язку ожиріння і захворювань підшлункової залози поки залишаються до кінця неясними і вимагають детального вивчення. Далі ми досліджували морфофункціональний стан підшлункової залози щурів за умов експериментального ожиріння.

У 4-х місячних щурів, яким неонатально вводили глютамат натрію, у підшлунковій залозі спостерігався виражений міждольковий набряк,

міждольковий та периваскулярний ліпоматоз. Судини були різко розширені, спостерігалось повнокрів'я, утворювалися екстравазати. Концентрація ферментів в сироватці крові щурів була збільшена у порівнянні з контрольною групою, а саме амілаза — на 92% ($p < 0,001$), амілаза панкреатична – на 168% ($p < 0,001$) та ліпаза — на 312% ($p < 0,001$).

Шляхом попередніх досліджень, описаних вище, найкращий лікувально-профілактичний вплив для попередження ожиріння виявив трьохштамний пробіотик *Bifidobacterium animalis* VKL і VKB та *Lactobacillus casei* IMVB-7280 (1:1:2), тому в подальших дослідженнях ми використовували лише його.

У 4-х місячних щурів, що отримували глютамат натрію (4 мг/г) на 2, 4, 6, 8, 10 день життя, періодичне профілактичне введення комбінованого пробіотику призводило до зменшення маси тіла щурів на 20% ($p < 0,05$) та маси вісцерального жиру на 52% ($p < 0,05$) у порівнянні з групою глютамат натрію. Введення пробіотику також знижувало рівень ферментів підшлункової залози, а саме амілазу на 25% ($p < 0,05$), панкреатичну амілазу на 37% ($p < 0,05$) та ліпазу на 70% ($p < 0,05$) у порівнянні з групою глютамат натрію.

Також встановлено, що введення пробіотику запобігало порушенню морфогенезу підшлункової залози у тварин з глютамат-індукованим ожирінням, що підтверджувалося морфометричними показниками. В межах екзокринної частини підшлункової залози виявлялися лише поодинокі макрофаги, ознаки значущої лейкоцитарної інфільтрації були відсутні. Ендокринні островці мали розміри, порівнянні з такими в контрольній групі. Кількість ендокринних клітин в межах одного островця була статистично значимо нижчою за показник у тварин з глютамат-індукованим ожирінням.

Отримані нами дані підтверджують результати інших дослідників, які встановили, що введення новонародженим гризунам глютамату натрію індукує розвиток вісцерального ожиріння у дорослих тварин та є моделлю вісцерального ожиріння у гризунів [17, 18].

Підсумовуючи результати отримані в другій частині дисертаційної роботи можна узагальнити, що відбуваються зміни структури і функції підшлункової залози за умов глутамат-індукованому ожирінні. Натрієва сіль глутамінової кислоти є класичним орексигеном (збільшує вживання їжі та її засвоєння). Механізм її дії зв'язаний перш за все з дугоподібними ядрами гіпоталамуса, нейрони яких синтезують орексигенні речовини – нейропептид Y (NPY-нейрони) і меланін-опосередковий білок (AGRP-нейрони). Наростання їх концентрації в організмі різко підвищує засвоєння їжі, знижує витрати енергії, приводить до вираженого ожиріння. Глутамат натрію призводить до ураження дугоподібних та вентромедіальних ядер гіпоталамуса, викликаючи їх нечутливість до лептину та інсуліну (гормонів насичення), в результаті чого розвивається гіперлептинемія та гіперінсулінемія [18].

Важливу роль в механізмах ожиріння виконує гастроінтестинальний гормон грелін, який виділяється парієтальними клітинами шлунку, слизовою оболонкою ясен і пародонту та в значно меншій кількості кишками. Рівень греліну в крові підвищується натщесерце перед і в перші хвилини після вживання їжі (особливо із ясен). Це дало можливість трактувати його як гормон апетиту, стимулятор вживання і засвоєння їжі.

У нашому дослідженні за умов ожиріння в підшлунковій залозі ми спостерігали виражений міждольковий набряк, міждольковий і периваскулярний ліпоматоз та запалення, характерні для гострого панкреатиту. Судини були різко розширені, спостерігалось повнокрів'я, утворювалися екстравазати. Площа поперечного перерізу ацинусів у порівнянні з інтактним контролем була знижена, що є ознакою стимуляції секреторних процесів у екзокринних клітинах. Площа поперечного перерізу ядер ациноцитів і відстань між часточками підшлункової залози була збільшена, що свідчить про інтенсифікацію синтетичних процесів у клітинах підшлункової залози. І дійсно, рівень ферментів амілази та ліпази значно

перевищував контрольні показники. Описані зміни є характерними для гострого панкреатиту.

Таким чином, ожиріння і виникаючі при ньому метаболічні порушення є одним з патогенетичних факторів хвороб підшлункової залози. За останні 30 років відзначено більш ніж двократне зростання частоти панкреатитів, схильність до їх ускладнень, особливо у людей з надлишковою вагою [89, 231]. Але деякі дані є суперечливими не дивлячись на численні дослідження. Це певною мірою може бути зумовлено використанням різних діагностичних критеріїв та класифікацій, при цьому точний механізм взаємозв'язку ожиріння та панкреатиту поки що не встановлено [231]. Отже, в нашій дисертаційній роботі ми довели прямий зв'язок з ожирінням та запаленням в підшлунковій залозі.

Ми дійшли висновку, що розвиток панкреатиту у щурів, яким в неонатальному періоді вводили глютамат натрію, є результатом не лише накопиченням жирової тканини в підшлунковій залозі, але й обумовлений посиленням інтенсивності синтетичних і секреторних процесів в панкреатичних клітинах.

Таким чином, отримані результати можуть слугувати експериментальним обґрунтуванням та поясненням збільшення захворюваності на панкреатит, особливо тієї частини населення, що харчується в закладах «фаст-фуд», які широко використовують харчові добавки, в тому числі глютамат натрію.

Одержані дані слід враховувати кожній людині при формуванні щоденного раціону, так як харчова сіль і глютамат натрію широко використовуються в багатьох харчових виробництвах і користуються великою популярністю в світі.

Періодичне введення пробіотичної суміші, що складається з *Bifidobacterium animalis* VKL, *Bifidobacterium animalis* VKB та *Lactobacillus casei* IMVB-7280 щурам, що отримували глютамат натрію в неонатальному періоді, попередило розвиток ожиріння у щурів та запобігало порушенню

морфогенезу підшлункової залози, що свідчить про ефективність пробіотикотерапії для попередження ожиріння.

Аналізуючи викладені вище результати дослідження, можна запропонувати наступну схему механізмів дії пробіотичних штамів за умов ожиріння та запалення підшлункової залози, викликаного глутаматом (Рис.5.2).

Основними метаболітами пробіотичних штамів лактобацил та біфідобактерій є коротколанцюгові жирні кислоти (КЛЖК): лактат і ацетат, в меншій кількості пропіонат та бутират. В кандидатській дисертації Фалалєєвої Т.М., 2004 було показано, що всі КЛЖК гальмують шлункову секрецію шляхом [304]. Було показано, що лактат натрію і пропіонат натрію збільшують концентрацію глюкози в крові, а гіперглікемія, як відомо, гальмує активність ядер блукаючих нервів [305] наслідком чого є зменшення секреції підшлункової залози.

Стосовно міркувань щодо механізму дії оцтової і масляної кислоти на парасимпатичну активність в нагоді нам стали дані літератури про механізм гальмівної дії КЛЖК з товстої кишки на моторику шлунку та проксимального відділу тонкої кишки. Показано [306, 307], що КЛЖК вивільняють з L-клітин кишечнику гальмівний пептид YY, який, як відомо [308, 309], зменшує виділення соляної кислоти з шлунковим соком та секрецію підшлункової залози.

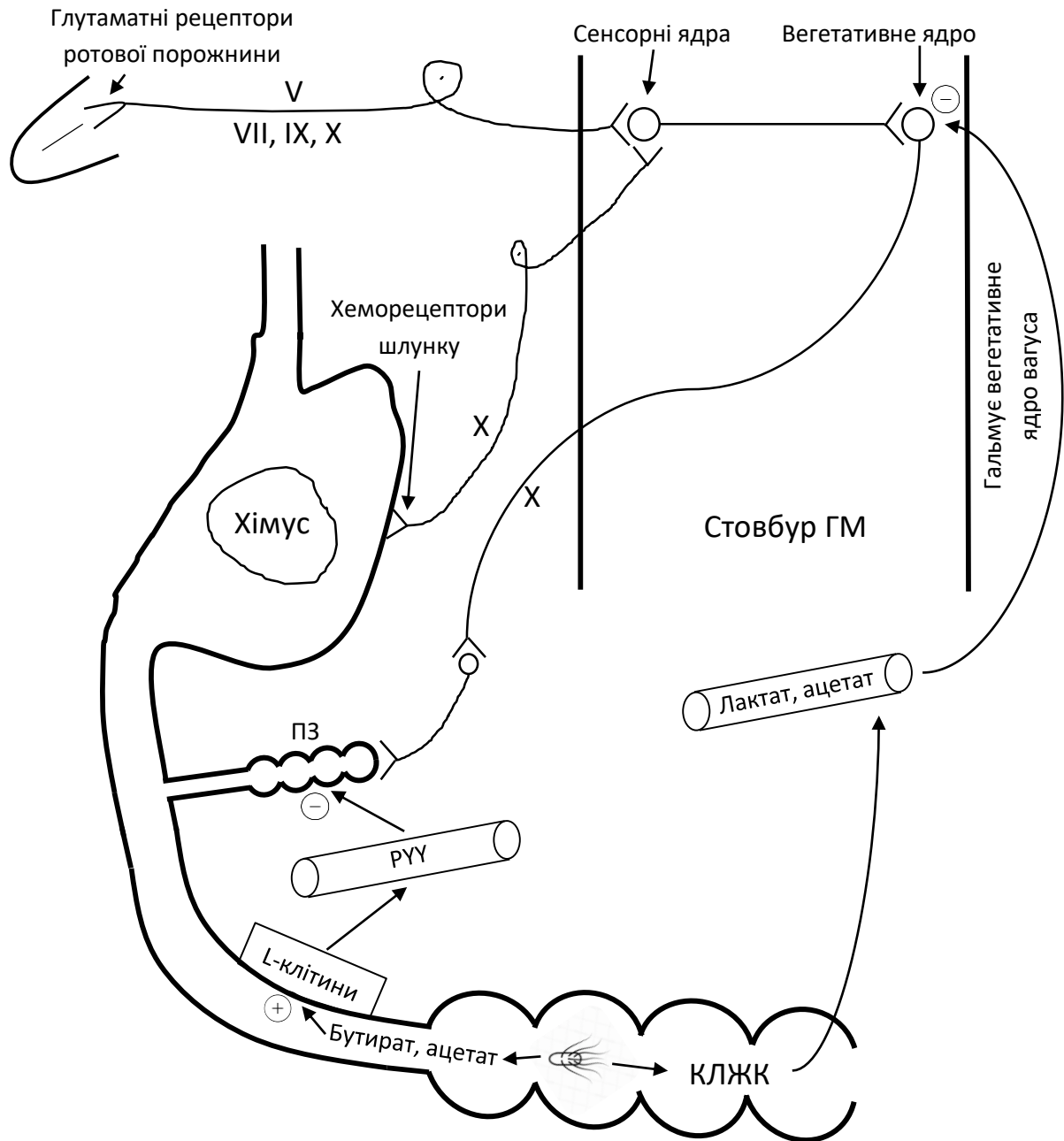


Рис. 5.2 Схеми механізмів дії пробіотичних штамів за умов ожиріння та запалення підшлункової залози викликаного глутаматом

Наступним механізмом дії пробіотиків при ожирінні з супутнім запаленням підшлункової залози є антизапальні властивості пробіотиків. З огляду на важливу роль мікробіоти в порушенні обміну речовин, перспективним є використання для профілактики та лікування хворих з

ожирінням природніх та безпечних біологічних препаратів на основі коменсальної мікробіоти слизових оболонок людини — пробіотиків, для яких є доведеною здатність нормалізувати кишкову мікрофлору; впливати на обмін білків, ліпідів, вуглеводів; балансувати запальну реакцію організму за рахунок впливу на продукцію про- та протизапальних цитокінів та змінювати мікроекологічні оточення різних органів та систем організму. Обґрунтуванням для використання пробіотиків є також характер порушення мікробіоти шлунково-кишкового тракту при метаболічних синдромах, що виявляється в суттєвому зниженні кількості *Bifidobacterium* та *Lactobacillus* на тлі підвищення кількості *Firmicutes* і *Proteobacteria* (238, 239). На сьогодні на фармацевтичному ринку розвинених країн світу представлено декілька сотень пробіотичних препаратів з декларацією досить високого рівня імунологічних властивостей, спрямованих на індукцію прозапальних цитокінів.

Проведеними дослідженнями в ННЦ «Інститут біології та медицини» було показано, що 2-х тижневе введення пробіотичної суміші, що складається з *Bifidobacterium animalis* VKL, *Bifidobacterium animalis* VKB та *Lactobacillus casei* IMVB-7280 щурам (впродовж 2 тижнів 1 раз на місяць) зумовлювало зменшення запалення, підвищення рівня адипонектину в крові, зниження концентрації лептину в жировій тканині тварин, яким у неонатальному періоді вводили глутамат [301-312].

Таким чином, відповідно до мети було вирішене актуальне наукове питання, а саме оцінений структурно-функціональний стан підшлункової залози за умов розвитку глутамат-індукованого ожиріння та доведена ефективність корекції пробіотичними штамами лактобацил та біфідобактерій для попередження розвитку ожиріння та запалення підшлункової залози.

ВИСНОВКИ

Результати дисертаційної роботи свідчать про те, що глутамат натрію викликає ожиріння щурів та розвиток запалення підшлункової залози. Доведена ефективність застосування пробіотичних штамів біфідобактерій (*Bifidobacterium animalis VKL i VKB*) та лактобацил (*Lactobacillus casei IMVB-7280*) для попередження розвитку ожиріння гіпоталамічного генезу та запалення підшлункової залози. Найбільш суттєвий ефект був виявлений в групі тварин, які отримували композицію трьох пробіотичних штамів *Bifidobacterium animalis VKL i VKB* та *Lactobacillus casei IMVB-7280* (1:1:2). На основі результатів зроблені наступні висновки:

1. 30-ти денне введення глутамату натрію в дозах 15 і 30 мг/кг (відповідає 1 і 2 г/людину) викликає некротичні, некробіотичні та дистрофічні зміни екзо- і ендокриноцитів, лейкоцитарну і лімфоїдну інфільтрацію, периваскулярний і інтерстиціальний фіброз, набряк та дисциркуляторні розлади.

2. Встановлено, що через 4 місяці після народження у щурів, яким на 2-10 добу життя підшкірно вводили глутамат натрію у дозі 4 мг/г, спостерігається припинення росту і розвитку з супутнім накопичення жиру в організмі, зростання індексу маси тіла, індексу Лі порівняно з контрольними щурами, що свідчить про вісцеральне ожиріння. У 4-х місячних щурів відмічалось порушення толерантності до глюкози та ліпідного обміну. Неонатальне введення глутамату натрію призводило до розвитку запалення підшлункової залози (ознаки притаманні гострому панкреатиту), що підтверджувалося зростанням активності її ферментів в сироватці крові.

3. На моделі глутаматного ожиріння показано, що пробіотичні моноштами *Bifidobacterium animalis VKL*, *Bifidobacterium animalis VKB* та *Lactobacillus casei IMVB-7280* та комбінований пробіотик *Bifidobacterium animalis VKL, VKB та Lactobacillus casei IMVB-7280* (1:1:2) попереджають затримку росту, зменшують індекс маси тіла та індекс Лі та захищають від

надлишкового накопичення вісцерального жиру у щурів. Найбільш суттєвий вплив здійснював трьохштамний пробіотик.

4. За умов профілактично-лікувального введення пробіотиків спостерігається нормалізація вуглеводного обміну, що супроводжується зменшенням концентрації глюкози та інсуліну в крові щурів та зниженням значення індексу інсулінорезистентності НОМА.

5. Під впливом пробіотичних штамів реєстрували покращення ліпідного обміну у щурів, що підтверджувалося зменшенням концентрації тригліцеридів, холестерину, ліпопротеїдів низької і дуже низької щільності, а також збільшенням концентрації ліпопротеїдів високої щільності.

6. Профілактичне введення комбінованого пробіотика, що складається з *Bifidobacterium animalis VKL*, *Bifidobacterium animalis VKB* та *Lactobacillus casei IMVB-7280* запобігало порушенню морфогенезу підшлункової залози у тварин з глютамат-індукованим ожирінням.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Ranabhat CL, Atkinson J, Park M-B, Kim C-B, Jakovljevic M. The Influence of Universal Health Coverage on Life Expectancy at Birth (LEAB) and Healthy Life Expectancy (HALE): A Multi-Country Cross-Sectional Study. *Front Pharmacol*. 2018 Sep 18;9:960.
2. Nishida C, Uauy R. WHO Scientific Update on health consequences of trans fatty acids: introduction. *Eur J Clin Nutr*. 2009 May;63 Suppl 2:S1-4.
3. Rome Declaration on Nutrition. Second International Conference on Nutrition. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization; 2014.
4. Framework for Action. Second International Conference on Nutrition. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization; 2014.
5. Thirteenth general programme of work, 2019-2023. Geneva: World Health Organization; 2018
6. Meier T, Gräfe K, Senn F, Sur P, Stangl GI, Dawczynski C, et al. Cardiovascular mortality attributable to dietary risk factors in 51 countries in the WHO European Region from 1990 to 2016: a systematic analysis of the Global Burden of Disease Study. *Eur J Epidemiol*. 2019;34(1):37-55.
7. Visscher TL, Seidell JC. The Public Health Impact of Obesity. *Annu Rev Public Health*. 2001;22(1):355-75.
8. Flier JS. Obesity Wars. *Cell*. 2004;116(2):337-50.
9. Report of the Commission on Ending Childhood Obesity. Geneva: World Health Organization; 2016.
10. Hooper L, Abdelhamid A, Bunn D, Brown T, Summerbell CD, Skeaff CM. Effects of total fat intake on body weight. *Cochrane Database Syst Rev*. 2015 Aug 7;(8):CD011834.
11. Healthy diet World Health Organization 29 April 2020 <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/healthy-diet>
12. Haidar Y, Cosman B. Obesity Epidemiology. *Clin Colon Rectal Surg*. 2011;24(04):205-10.
13. Гинзбург ММ. Ожирение и метаболический синдром. Влияние на состояние здоровья, профилактика и лечение. Самара: Парус; 2000. 160 с.
14. Yang W, Kelly T, He J. Genetic Epidemiology of Obesity. *Epidemiol Rev*. 2007;29(1):49-61.

15. Fats and fatty acids in human nutrition: report of an expert consultation. FAO Food and Nutrition Paper 91. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations; 2010.
16. Falalieieva TM, Kukhars'kyi VM, Berehova TV. Effect of long-term monosodium glutamate administration on structure and functional state of the stomach and body weight in rats. *Fiziol Zh.* 2010;56(4):102-10.
17. Oida K, Nakai T, Hayashi T, Miyabo S, Takeda R. Plasma lipoproteins of monosodium glutamate-induced obese rats. *Int J Obes.* 1984;8(5):385-91.
18. Nakagawa T, Ukai K, Ohyama T, Gomita Y, Okamura H. Effects of Chronic Administration of Sibutramine on Body Weight, Food Intake and Motor Activity in Neonatally Monosodium Glutamate-Treated Obese Female Rats: Relationship of Antiobesity Effect with Monoamines. *Exp Anim.* 2000 Oct;49(4):239-49.
19. Wang SQ, Li SJ, Feng QX, Feng XY, Xu L, Zhao QC. Overweight is an additional prognostic factor in acute pancreatitis: a meta-analysis *Pancreatology.* 2011; 11 (2): 92-8.
20. Hou S, Tang X, Cui H, Liu C, Bai X, Shi L, Shi Y. Fatty liver disease is associated with the severity of acute pancreatitis: A systematic review and meta-analysis. *Int J Surg.* 2019 May;65:147-153.
21. Bäckhed F, Ding H, Wang T, Hooper LV, Koh GY, Nagy A, Semenkovich CF, Gordon JI. The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2004 Nov 2;101(44):15718-23.
22. Uc A, Husain SZ. Pancreatitis in Children. *Gastroenterology.* 2019 May;156(7):1969-78.
23. Musso G, Gambino R, Cassader M. Obesity, diabetes, and gut microbiota: the hygiene hypothesis expanded? *Diabetes Care.* 2010 Oct;33(10):2277-84.
24. Aggarwal A, Bala D. Role of probiotics in the treatment of oral diseases. *Indian J Oral Sci.* 2013; 4:3-7.
25. Boulangé CL, Neves AL, Chilloux J, Nicholson JK, Dumas ME. Impact of the gut microbiota on inflammation, obesity, and metabolic disease. *Genome Med.* 2016 Apr 20;8(1):42.
26. Kobyljak N, Virchenko O, Falalyeyeva T. Pathophysiological role of host microbiota in the development of obesity. *Nutr J.* 2016 Apr 23;15:43.
27. Kobyljak N, Falalyeyeva T, Mykhalchyshyn G, Molochek N, Savchuk O, Kyriienko D, et al. Probiotic and omega-3 polyunsaturated fatty acids supplementation reduces insulin resistance, improves glycemia and obesity

- parameters in individuals with type 2 diabetes: A randomised controlled trial. *Obes Med.* 2020;19:100248.
28. Kyriachenko Y, Falalyeyeva T, Korotkyi O, Molochek N, Kobyliak N. Crosstalk between gut microbiota and antidiabetic drug action. *World J Diabetes.* 2019 Mar 15;10(3):154-168
 29. Hildebrandt MA, Hoffmann C, Sherrill-Mix SA, Keilbaugh SA, Hamady M, Chen YY, Knight R, Ahima RS, Bushman F, Wu GD. High-fat diet determines the composition of the murine gut microbiome independently of obesity. *Gastroenterology.* 2009 Nov;137(5):1716-24.e1-2.
 30. Turnbaugh PJ, Bäckhed F, Fulton L, Gordon JI. Diet-Induced Obesity Is Linked to Marked but Reversible Alterations in the Mouse Distal Gut Microbiome. *Cell Host Microbe.* 2008;3(4):213-23.
 31. Павлов ИП. Физиология. Лекции по физиологии пищеварения. Москва: Познавательная книга плюс; 2002. 288с.
 32. Bernard C. Mémoire sur le pancréas et sur le rôle du suc pancréatique dans les phénomènes digestifs, particulièrement dans la digestion des matières grasse neutres. Miami: HardPress; 2017. 194.
 33. Uchiyama T, Tomono S, Utsugi T, Ohyama Y, Nakamura T. Constitutively active heat shock factor 1 enhances glucose-driven insulin secretion. *Metabolism.* 2011 Jun; 60(6):789-98.
 34. Lindkvist B. Diagnosis and treatment of pancreatic exocrine insufficiency. *World J Gastroenterol.* 2013 Nov 14;19(42):7258-66.
 35. El Sayed SA, Mukherjee S. Physiology, Pancreas. *StatPearls*; 2020.
 36. Марысаев ВБ, редактор. Атлас анатомии человека: Учебное пособие для медицинских учебных заведений. Москва: РИПОЛ классик, 2005. 528 с.
 37. Kamisawa T, Takuma K, Egawa N, Tsuruta K, Sasaki T. A new embryological theory of the pancreatic duct system. *Dig Surg.* 2010;27(2):132-6.
 38. Hendry C, Farley A, McLafferty E, Johnstone C. The digestive system: part 2. *Nurs Stand.* 2014 Feb 19-25;28(25): 37-44.
 39. Capurso G, Traini M, Piciocchi M, Signoretti M, Arcidiacono PG. Exocrine pancreatic insufficiency: prevalence, diagnosis, and management. *Clin Exp Gastroenterol.* 2019; 12:129-139.
 40. Leoni L, Roman BB MR imaging of pancreatic islets: tracking isolation, transplantation and function. *Curr Pharm Des* (2010): 16: 1582-1594.
 41. American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes. *Diabetes Care.* 2013;36 Suppl 1: S11-S66.

42. Melmed S, Auchus R, Goldfine A, Koenig R, Rosen C and Williams R, n.d. Williams Textbook of Endocrinology. 12th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2011: chap 34, Hypoglycemia.
43. Елецкий ЮК, Яглов ВВ. Эволюция структурной организации эндокринной части поджелудочной железы позвоночных. Москва: Наука, 1978. 165 с.
44. Movassat J, Calderari S, Fernández E, Martín MA, Escrivá F. Type 2 diabetes — a matter of failing beta-cell neogenesis? Clues from the GK rat model. *Diabetes Obes Metab*. 2007 Nov;9 Suppl 2:187-95.
45. Egerbacher M, Böck P. Morphology of the pancreatic duct system in mammals. *Microsc Res Tech*. 1997 Jun 1-15;37(5-6):407-17.
46. Bertelli E, Di Gregorio F, Bertelli L, Orazioli D, Bastianini A. The arterial blood supply of the pancreas: a review. IV. The anterior inferior and posterior pancreaticoduodenal aa., and minor sources of blood supply for the head of the pancreas. An anatomical review and radiologic study. *Surg Radiol Anat*. 1997;19(4):203-12.
47. Шмидт Р, Тевс Г, редакторы. Физиология человека в 3-х томах. Москва: Мир; 1996. 876 с.
48. Rodriguez-Diaz R, Caicedo A. Novel approaches to studying the role of innervation in the biology of pancreatic islets. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2013 Mar;42(1):39-56.
49. Furness JB, Callaghan BP, Rivera LR, Cho HJ. The enteric nervous system and gastrointestinal innervation: integrated local and central control. *Adv Exp Med Biol*. 2014; 817: 39-71.
50. Proshchina AE, Krivova YS, Varabanov VM, Saveliev SV. Ontogeny of neuro-insular complexes and islets innervation in the human pancreas. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2014 Apr 22; 5:57.
51. Ноздрачев АД, Поляков ЕМ. Анатомия крысы (лабораторные животные). СПб: «Лань»; 2001. 464 с.
52. Петренко ВМ. Форма и топография поджелудочной железы у крысы. *Успехи современного естествознания* 2012; 2: 35-39.
53. Колесник ЮМ, Абрамов АВ, Орловский МА. Влияние многократных введений холецистокинина 26-33 на α - и β -клетки островков Лангерганса в норме и при экспериментальном сахарном диабете типа 1. *Проблемы Эндокринологии*. 2004; 3: 37-41.
54. Балаболкин МИ. Диабетология. Москва: Медицина; 2000. 671 с.

55. Donev S. Ultrastructural evidence for presence of a glial sheath investing the islets of Langerhans in the pancreas of mammals. *Cell Tissue Res* (1984) 237: 343-8.
56. Sunami E, Kanazawa H, Hashizume H, Takeda M, Hatakeyama K, Ushiki T. Morphological characteristics of Schwann cells in the islets of Langerhans of the murine pancreas. *Arch Histol Cytol* (2001) 64: 191-201.
57. Pour PM, Saruc M. The pattern of neural elements in the islets of normal and diseased pancreas and in isolated islets. *JOP* (2011) 12: 395-400.
58. Winer S, Tsui H, Lau A, Song A, Li X, Cheung RK, et al. Autoimmune islet destruction in spontaneous type 1 diabetes is not β -cell exclusive. *Nat Med* (2003) 9: 198-205.
59. Johnstone C, Hendry C, Farley A, McLafferty E. Endocrine system: part 1. *Nurs Stand*. 2014 May 27;28(38): 42-9.
60. Wang X, Meloche M, Verchere CB, Ou D, Mui A, Warnock GL. Improving islet engraftment by gene therapy. *J Transplant*. 2011; 1-7.
61. Bosco D, Armanet M, Morel PH, Niclauss N, Sgroi A, Muller YD, et al. Unique arrangement of α - and β -cells in human islets of Langerhans. *Diabetes* 2010, 59: 1202-10.
62. Ly JN, Miller FH. MR imaging of the pancreas: a practical approach. *Radiol Clin North Am* 2002; 40: 1289-1306.
63. Rahuel-Clermont S, French CA, Kaarsholm NC, Dunn MF, Chou CI. Mechanisms of stabilization of the insulin hexamer through allosteric ligand interactions. *Biochemistry*. 1997 May 13; 36(19): 5837-45.
64. Ramnanan CJ, Edgerton DS, Kraft G, Cherrington AD. Physiologic action of glucagon on liver glucose metabolism. *Diabetes Obes Metab*. 2011;13 Suppl 1(Suppl 1):118-125. doi:10.1111/j.1463-1326.2011.01454.x
65. Bokhari S, Plummer E, Emmerson P, Gupta A, Meyer C. Glucose counterregulation in advanced type 2 diabetes: effect of β -adrenergic blockade. *Diabetes Care*. 2014 Nov; 37 (11): 3040-6.
66. Belle TL, Coppieters K, Coppieters KT, von Herrath M, Herrath M. Type 1 diabetes: etiology, immunology, and therapeutic strategies. *Physiol Rev*. 2011; 91(1): 79-118.
67. Yan KM, Li AD, Yang HJ, Mei Y, Zhou HY. Expression of Nestin, CK19, insulin, glucagon and somatostatin in embryonic pancreas. 2005. May;21(3): 353-5.
68. Cao Z, Wang X. The endocrine role between β cells and intra-islet endothelial cells. *Endocr J*. 2014;61(7):647-54.

69. Patel YC. Somatostatin and its receptor family. *Front Neuroendocrinol.* 1999; 20:157-98.
70. Гельфанд БР, Бурневич СЗ, Гройзик КЛ. Препараты соматостатина в неотложной панкреатологии: состояние и перспектива. *Вестник интенсивной терапии.* 1998; 3: 19-24.
71. Lundberg JM. Pharmacology of cotransmission in the autonomic nervous system: integrative aspects on amines, neuropeptides, adenosine triphosphate, amino acids and nitric oxide. *Pharmacol Rev.* 1996 Mar;48(1):113-78.
72. Conlon JM. The origin and evolution of peptide YY (PYY) and pancreatic polypeptide (PP). *Peptides.* 2002 Feb; 23 (2): 269-78.
73. Cuenco J, Minnion J, Tan T, Scott R, Germain N, Ling Y et al. Degradation Paradigm of the Gut Hormone, Pancreatic Polypeptide, by Hepatic and Renal Peptidases. *Endocrinology.* 2017;158(6):1755-1765.
74. Adamska E, Ostrowska L, Górska M, Krętowski A. The role of gastrointestinal hormones in the pathogenesis of obesity and type 2 diabetes. *Prz Gastroenterol.* 2014; 9 (2): 69-76.
75. Передерий ВГ, Ткач СМ. Практическая гастроэнтерология. Винница: Нова книга; 2011. с. 47-54.
76. Мосолов В.В. Протеолитические ферменты. Москва: Наука; 1971. 404 с.
77. Нагорная НВ, Лимаренко МП. Внешнесекреторная функция поджелудочной железы и методы ее оценки. *Журнал «Здоровье ребенка».* 2012, 8 (43): 7-9.
78. Banks PA, Freeman ML. Practice guidelines in acute pancreatitis. *Am J Gastroenterol* 2006; 101: 2379-2400.
79. Marcelo G Binker, Laura I Cosen-Binker. Acute pancreatitis: The stress factor. *World J Gastroenterol.* 2014 May 21; 20(19): 5801-5807.
80. Gukovskaya AS, Gukovsky I, Algül H, Habtezion A. Autophagy, Inflammation, and Immune Dysfunction in the Pathogenesis of Pancreatitis. *Gastroenterology.* 2017 Nov;153(5):1212-1226.
81. Mayerle J, Sendler M, Hegyi E, Beyer G, Lerch MM, Sahin-Tóth M. Genetics, Cell Biology, and Pathophysiology of Pancreatitis. *Gastroenterology.* 2019 May;156(7):1951-1968.
82. Forsmark CE, Baillie J. AGA Institute technical review on acute pancreatitis. *Gastroenterology* 2007; 132: 2022-2044.
83. Habtezion A, Gukovskaya AS, Pandol SJ. Acute Pancreatitis: A Multifaceted Set of Organelle and Cellular Interactions. *Gastroenterology.* 2019 May; 156 (7):1941-1950.

84. Велигоцкий НН, Федак БС, Велигоцкий АН и др. Некоторые нерешенные вопросы классификации и лечебно-диагностической тактики при остром панкреатите. Вестник клуба панкреатологов. 2010;3:36-38.
85. Бурневич СЗ, Игнатенко ЮН, Кирсанов КВ. Прогноз и исходы хирургического лечения больных панкреонекрозом в свете современных представлений о патогенезе заболевания (сообщение 1). Анналы хирургии. 2004; 3:30-32.
86. Hackert T, Hartwig W, Fritz S, Gebhard M, Büchler M, Werner J. Platelet inhibition reduces tissue damage in acute pancreatitis. *Pancreas*. 2005;31(4):444.
87. Van Acker G, Weiss E, Steer M, Perides G. Cause-effect relationships between zymogen activation and other early events in secretagogue-induced acute pancreatitis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2007 Jun;292(6):G1738-46.
88. Филиппов ЮА. Неотложная гастроэнтерология: руководство для врачей. Днепропетровск: Журфонд; 2004. 534 с.
89. Porter KA, Banks PA. Obesity as a predictor of severity in acute pancreatitis. *Int J Pancreatol*. 1991 Nov-Dec; 10 (3-4): 247-52.
90. Saluja A, Donovan E, Yamanaka K, Yamaguchi Y, Hofbauer B, Steer M. Cerulein-induced in vitro activation of trypsinogen in rat pancreatic acini is mediated by cathepsin B. *Gastroenterology*. 1997;113(1):304-310.
91. Saito I, Hashimoto S, Saluja A, Steer ML, Meldolesi J. Intracellular transport of pancreatic zymogens during caerulein supramaximal stimulation. *Am J Physiol*. 1987 Oct;253(4 Pt 1):G517-26.
92. Koike H, Steer M, Meldolesi J. Pancreatic effects of ethionine: blockade of exocytosis and appearance of crinophagy and autophagy precede cellular necrosis. *Am J Physiol*. 1982 Apr;242(4):G297-307.
93. Saluja A, Hashimoto S, Saluja M, Powers RE, Meldolesi J, Steer ML. Subcellular redistribution of lysosomal enzymes during caerulein-induced pancreatitis. *Am J Physiol*. 1987 Oct;253(4 Pt 1):G508-16.
94. Watanabe O, Baccino FM, Steer ML, Meldolesi J. Supramaximal caerulein stimulation and ultrastructure of rat pancreatic acinar cell: early morphological changes during development of experimental pancreatitis. *Am J Physiol*. 1984 Apr;246(4 Pt 1):G457-67.
95. Pezzilli R, Romboli E, Campana D, Corinaldesi R. Mechanisms involved in the onset of post-ERCP pancreatitis. *JOP*. 2002 Nov;3(6):162-8.

96. Demols A, Deviere J. New frontiers in the pharmacological prevention of post-ERCP pancreatitis: the cytokines. *JOP*. 2003 Jan;4(1):49-57.
97. Gough D, Boyle B, Joyce W, Delaney C, McGeeney K, Gorey T et al. Free radical inhibition and serial chemiluminescence in evolving experimental pancreatitis. *Br J Surg*. 1990 Nov;77(11):1256-9.
98. Nonaka A, Manabe T, Tamura K, Asano N, Imanishi K, Yamaki K, Tobe T. Organ specific ESR features in mouse main organs and ESR application to the model of pancreatic disorders. *Nihon Geka Gakkai Zasshi*. 1990 Feb;91(2):169-73.
99. Müller JM, Rupec RA, Baeuerle PA. Study of gene regulation by NF-kappa B and AP-1 in response to reactive oxygen intermediates. *Methods*. 1997 Mar;11(3):301-12.
100. Gukovsky I, Gukovskaya AS, Blinman TA, Zaninovic V, Pandol SJ. Early NF-kappaB activation is associated with hormone-induced pancreatitis. *Am J Physiol*. 1998 Dec;275(6):G1402-14.
101. Vaquero E, Gukovsky I, Zaninovic V, Gukovskaya AS, Pandol SJ. Localized pancreatic NF-kappaB activation and inflammatory response in taurocholate-induced pancreatitis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2001 Jun;280(6):G1197-208.
102. Dunn JA, Li C, Ha T, Kao RL, Browder W. Therapeutic modification of nuclear factor kappa B binding activity and tumor necrosis factor-alpha gene expression during acute biliary pancreatitis. *Am Surg*. 1997 Dec;63(12):1036-43; discussion 1043-4.
103. Steinle AU, Weidenbach H, Wagner M, Adler G, Schmid RM. NF-kappaB/Rel activation in cerulein pancreatitis. *Gastroenterology*. 1999 Feb;116(2):420-30.
104. Ghanim H., Aljada A., Hofmeyer D., Syed T., Mohanty P., Dandona P. Circulating Mononuclear Cells in the Obese Are in a Proinflammatory State. *Circulation*. 2004; 110: 1564-71.
105. Zaninovic V, Gukovskaya AS, Gukovsky I, Mouria M, Pandol SJ. Cerulein upregulates ICAM-1 in pancreatic acinar cells, which mediates neutrophil adhesion to these cells. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2000 Oct;279(4):G666-76.
106. Gloor B, Todd KE, Lane JS, Lewis MP, Reber HA. Hepatic Kupffer cell blockade reduces mortality of acute hemorrhagic pancreatitis in mice. *J Gastrointest Surg*. 1998 Sep-Oct;2(5):430-5.

107. Gloor B, Blinman TA, Rigberg DA, Todd KE, Lane JS, Hines OJ, Reber HA. Kupffer cell blockade reduces hepatic and systemic cytokine levels and lung injury in hemorrhagic pancreatitis in rats. *Pancreas*. 2000 Nov;21(4):414-20.
108. Etemad B, Whitcomb DC. Chronic pancreatitis: diagnosis, classification, and new genetic developments. *Gastroenterology*. 2001 Feb;120(3):682-707.
109. Braganza JM, Lee SH, McCloy RF, McMahan MJ. Chronic pancreatitis. *Lancet* 2011; 377: 1184-97.
110. De-Las-Heras-Castaño G. The study of chronic pancreatitis epidemiology — the big challenge. *Rev Esp Enferm Dig*. 2014 Apr;106(4):237-8.
111. Kleeff J, Whitcomb DC, Shimosegawa T, Esposito I, Lerch MM, Gress T, Mayerle J, Drewes AM, Rebours V, Akisik F, Muñoz JED, Neoptolemos JP. Chronic pancreatitis. *Nat Rev Dis Primers*. 2017 Sep 7;3:17060.
112. Yang D, Forsmark CE. Chronic pancreatitis. *Curr Opin Gastroenterol*. 2017 Sep;33(5):396-403.
113. Nair RJ, Lawler L, Miller MR. Chronic Pancreatitis. *Am Fam Physician*. 2007 Dec 1;76(11):1679-88.
114. Sakorafas GH, Tsiotou AG, Peros G. Mechanisms and natural history of pain in chronic pancreatitis: a surgical perspective. *J Clin Gastroenterol*. 2007 Aug;41(7):689-99.
115. Chauhan S, Forsmark CE. Pain management in chronic pancreatitis: A treatment algorithm. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2010; 24: 323-335.
116. Demir IE, Tieftrunk E, Maak M, Friess H, Ceyhan GO. Pain mechanisms in chronic pancreatitis: of a master and his fire. *Langenbecks Arch Surg*. 2011; 396: 151-160.
117. Bradley EL. Pancreatic duct pressure in chronic pancreatitis. *Am J Surg*. 1982; 144: 313-316.
118. Manes G, Büchler M, Pieramico O, Di Sebastiano P, Malfertheiner P. Is increased pancreatic pressure related to pain in chronic pancreatitis? *Int J Pancreatol*. 1994; 15: 113-117.
119. Bockman DE, Buchler M, Malfertheiner P, Beger HG. Analysis of nerves in chronic pancreatitis. *Gastroenterology*. 1988; 94: 1459-1469.
120. Lieb JG, Forsmark CE. Review article: pain and chronic pancreatitis. *Aliment Pharmacol Ther*. 2009; 29: 706-719.
121. Van Esch AA, Wilder-Smith OH, Jansen JB, van Goor H, Drenth JP. Pharmacological management of pain in chronic pancreatitis. *Dig Liver Dis*. 2006; 38: 518-526.

122. Ahmed Ali U, Issa Y, Bruno M, van Goor H, van Santvoort H, Busch O et al. Early surgery versus optimal current stepup practice for chronic pancreatitis (ESCAPE): design and rationale of a randomized trial. *BMC Gastroenterol.* 2013 Mar 18;13:49.
123. Bojková M, Klvaňa P, Svoboda P, Kupka T, Martínek A, Bojko M at al. Pain in chronic pancreatitis and pancreatic cancer — treatment options. *Vnitr Lek.* 2014 Mar; 60 (3): 205-11.
124. Vonlaufen A, Wilson JS, Apte MV. Molecular mechanisms of pancreatitis: current opinion. *J Gastroenterol Hepatol.* 2008 Sep; 23 (9): 1339-48.
125. Schneider A, Whitcomb DC. Hereditary pancreatitis: a model for inflammatory diseases of the pancreas. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2002; 16: 347-63.
126. Stevens T, Conwell DL, Zuccaro G. Pathogenesis of chronic pancreatitis: an evidence-based review of past theories and recent developments. *Am J Gastroenterol* 2004; 99: 2256-70.
127. Finkelberg DL, Sahani D, Deshpande V, Brugge WR. Autoimmune pancreatitis. *N Engl J Med* 2006; 355: 2670-6.
128. Zen Y, Bogdanos DP, Kawa S. Type 1 autoimmune pancreatitis. *Orphanet J Rare Dis.* 2011 Dec 7;6:82.
129. Ota M, Katsuyama Y, Hamano H et al. Two critical genes (HLA-DRB1 and ABCF1) in the HLA region are associated with the susceptibility to autoimmune pancreatitis. *Immunogenetics* 2007; 59: 45-52.
130. Fortson MR, Freedman SN, Webster PD 3rd Clinical assessment of hyperlipidemic pancreatitis. *Am. J. Gastroenterol.* 1995; 90: 2134-9.
131. Searles GE, Ooi TC. Underrecognition of chylomicronemia as a cause of acute pancreatitis. *CMAJ* 1992; 147: 1806-8.
132. Chang CC, Hsieh YY, Tsai HD, Yang TC, Yeh LS, Hsu TY. Acute pancreatitis in pregnancy. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi (Taipei)* 1998; 61: 85-92.
133. Lithell H, Vessby B, Walldius G, Carlson LA. Hypertriglyceridemia—acute pancreatitis—ischemic heart disease. A case study in a pair of monozygotic twins. *Acta Med. Scand.* 1987; 221: 311-16.
134. Saharia P, Margolis S, Zuidema GD, Cameron JL. Acute pancreatitis with hyperlipemia: studies with an isolated perfused canine pancreas. *Surgery* 1977; 82: 60-7.
135. Apte MV, Wilson JS. Stellate cell activation in alcoholic pancreatitis. *Pancreas* 2003; 27: 316-20.

136. Phillips PA, McCarroll JA, Park S, Wu MJ, Pirola R, Korsten M et al. Rat pancreatic stellate cells secrete matrix metalloproteinases: implications for extracellular matrix turnover. *Gut*. 2003 Feb;52(2):275-82.
137. Ahmad SA, Wray C, Rilo HL, Choe KA, Gelrud A, Howington JA, et al. Chronic pancreatitis: recent advances and ongoing challenges. *Curr Probl Surg* 2006; 43:127-238.
138. Keiles S, Kammesheidt A. Identification of CFTR, PRSS1, and SPINK1 mutations in 381 patients with pancreatitis. *Pancreas* 2006; 33: 221-7.
139. Rosendahl J, Witt H, Szmola R, Bhatia E, Ozsvári B, Landt O et al. Chymotrypsin C (CTRC) variants that diminish activity or secretion are associated with chronic pancreatitis. *Nat Genet*. 2008 Jan;40(1):78-82.
140. Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics, 2013. *CA Cancer J Clin*. 2013; 63: 11-30.
141. Ilic M, Ilic I. Epidemiology of pancreatic cancer. *World J Gastroenterol*. 2016 Nov 28;22(44):9694-9705.
142. Moore A, Donahue T. Pancreatic Cancer. *JAMA*. 2019 Oct 8;322(14):1426.
143. Lee ES, Lee JM. Imaging diagnosis of pancreatic cancer: A state-of-the-art review. *World J Gastroenterol*. 2014 Jun 28;20(24):7864-77.
144. Poruk KE, Firpo MA, Adler DG, Mulvihill SJ. Screening for pancreatic cancer: why, how, and who? *Ann Surg*. 2013; 257: 17-26.
145. Güngör C, Hofmann BT, Wolters-Eisfeld G, Bockhorn M. Pancreatic cancer. *Br J Pharmacol*. 2014 Feb; 171 (4): 849-58.
146. Hassan MM, Bondy ML, Wolff RA, Abbruzzese JL, Vauthey JN. Risk factors for pancreatic cancer: case-control study. *Am J Gastroenterol*. 2007 Dec; 102(12): 2696-707.
147. Batty GD, Kivimaki M, Morrison D, Huxley R, Smith GD. Risk factors for pancreatic cancer mortality: extended follow-up of the original Whitehall Study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2009 Feb; 18 (2): 673-5.
148. Landi S. Genetic predisposition and environmental risk factors to pancreatic cancer: A review of the literature. *Mutat Res*. 2009 Mar-Jun; 681 (2-3): 299-307.
149. Shi C, Hruban RH, Klein AP. Familial pancreatic cancer. *Arch Pathol Lab Med*. 2009 Mar; 133 (3): 365-74.
150. Lowenfels AB, Maisonneuve P, Cavallini G, Ammann RW, Lankisch PG, Andersen JR, Dimagno EP, Andrén-Sandberg A, Domellöf L. Pancreatitis and the risk of pancreatic cancer. International Pancreatitis Study Group. *N Engl J Med* 1993; 328: 1433-1437.

151. Karmazanovsky G, Fedorov V, Kubyshkin V, Kotchatkov A. Pancreatic head cancer: accuracy of CT in determination of resectability. *Abdom Imaging*. 2005 Jul-Aug; 30 (4): 488-500.
152. Vogelstein B, Kinzler KW. Cancer genes and the pathways they control. *Nat Med*. 2004 Aug; 10 (8): 789-99.
153. Hruban RH, Maitra A, Goggins M. Update on pancreatic intraepithelial neoplasia. *Int J Clin Exp Pathol*. 2008 Jan 1; 1 (4): 306-16.
154. Feldmann G, Beaty R, Hruban RH, Maitra A. Molecular genetics of pancreatic intraepithelial neoplasia. *J Hepatobiliary Pancreat Surg*. 2007; 14 (3): 224-32.
155. Guerra C, Schuhmacher AJ, Cañamero M, Grippo PJ, Verdaguer L. Chronic pancreatitis is essential for induction of pancreatic ductal adenocarcinoma by K-Ras oncogenes in adult mice. *Cancer Cell*. 2007 Mar; 11 (3): 291-302.
156. Bardeesy N, Aguirre AJ, Chu GC, Cheng KH, Lopez LV. Both p16(Ink4a) and the p19(Arf)-p53 pathway constrain progression of pancreatic adenocarcinoma in the mouse. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2006 Apr 11; 103 (15): 5947-52.
157. Takaori K. Current understanding of precursors to pancreatic cancer. *J Hepatobiliary Pancreat Surg*. 2007; 14 (3): 217-23.
158. Chu GC, Kimmelman AC, Hezel AF, DePinho RA. Stromal biology of pancreatic cancer. *J Cell Biochem*. 2007 Jul 1; 101(4):887-907.
159. Masamune A, Shimosegawa T. Signal transduction in pancreatic stellate cells. *J Gastroenterol*. 2009; 44 (4): 249-60.
160. Erkan M, Reiser-Erkan C, Michalski CW, Deucker S, Sauliunaite D. Cancer-stellate cell interactions perpetuate the hypoxia-fibrosis cycle in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Neoplasia*. 2009 May; 11 (5): 497-508.
161. Olive KP, Jacobetz MA, Davidson CJ, Gopinathan A, McIntyre D, Honess D. et. al Inhibition of Hedgehog signaling enhances delivery of chemotherapy in a mouse model of pancreatic cancer. *Science*. 2009 Jun 12; 324 (5933): 1457-61.
162. Toselli S, Gualdi-Russo E, Boulos DN, Anwar WA, Lakhoua CP. Relevance of overweight and obesity in adults from North Africa. *Eur J Public Health*. 2014 Aug; 24 Suppl 1: 31-9.
163. Choi D, Choi S, Son JS, Oh SW, Park SM. Impact of Discrepancies in General and Abdominal Obesity on Major Adverse Cardiac Events. *J Am Heart Assoc*. 2019;8(18):e013471.
164. Kim HY, Kim JK, Shin GG, Han JA, Kim JW. Association between Abdominal Obesity and Cardiovascular Risk Factors in Adults with Normal Body Mass

- Index: Based on the Sixth Korea National Health and Nutrition Examination Survey. *J Obes Metab Syndr.* 2019;28(4):262-270.
165. Sadeghi O, Saneei P, Nasiri M, Larijani B, Esmailzadeh A. Abdominal Obesity and Risk of Hip Fracture: A Systematic Review and Meta-Analysis of Prospective Studies. *Adv Nutr.* 2017;8(5):728-738.
 166. Дедов ИИ, Мельниченко ГА. Ожирение. Москва: Мед. информ. агентство; 2004. 456 с.
 167. Сидоров ПИ, Ишееков НС, Соловьев АГ. Соматогенез алкоголизма. Москва: «МЕДпресс-информ», 2003. 224 с.
 168. Fauci A, Kasper D, Longo D, Braunwald E, Hauser S, Jameson J et al. *Harrison's Principles of Internal Medicine.* New York: McGraw Hill; 2008.
 169. Acharya C, Navina S, Singh VP. Role of pancreatic fat in the outcomes of pancreatitis. *Pancreatol.* 2014;14(5):403-408.
 170. Khatua B, El-Kurdi B, Singh VP. Obesity and pancreatitis. *Curr Opin Gastroenterol.* 2017;33(5):374-382.
 171. Petrov MS, Yadav D. Global epidemiology and holistic prevention of pancreatitis. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2019;16(3):175-184.
 172. Ahmed RL, Schmitz KH, Anderson KE, Rosamond WD, Folsom AR. The metabolic syndrome and risk of incident colorectal cancer. *Cancer.* 2006 Jul 1;107(1):28-36.
 173. Howard JM, Beddy P, Ennis D, Keogan M, Pidgeon GP, Reynolds JV. Association between leptin and adiponectin receptor upregulation, visceral obesity and tumour stage in oesophageal and junctional adenocarcinoma. *Br J Surg.* 2010 Jul;97(7):1020-7.
 174. Berrington de Gonzalez A, Sweetland S, Spencer E. A meta-analysis of obesity and the risk of pancreatic cancer. *Br J Cancer.* 2003 Aug 4; 89(3): 519-523.
 175. Li D, Morris JS, Liu J, Hassan MM, Day RS, Bondy ML, Abbruzzese JL. Body Mass Index and risk, age of onset, and survival in patients with pancreatic cancer. *JAMA.* 2009 Jun 24;301(24):2553-62.
 176. Larsson SC, Wolk A. Obesity and the risk of gall bladder cancer: a meta-analysis. *Br J Cancer.* 2007 May 7; 96(9): 1457-1461.
 177. Larsson SC, Orsini N, Wolk A. Body mass index and pancreatic cancer risk: a meta-analysis of prospective studies. *Int J Cancer.* 2007 May 1;120(9):1993-8.
 178. Larsson SC, Wolk A. Obesity and colon and rectal cancer risk: meta-analysis of prospective studies. *Am J Clin Nutr.* 2007 Sep;86(3):556-65.
 179. Larsson SC, Wolk A. Overweight, obesity and risk of liver cancer: a meta-analysis of cohort studies. *Br J Cancer.* 2007 Oct 8;97(7):1005-8.

180. Dandona P, Mohanty P, Ghanim H, Aljada A, Browne R, Hamouda W et al. The suppressive effect of dietary restriction and weight loss in the obese on the generation of reactive oxygen species by leukocytes, lipid peroxidation, and protein carbonylation. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001; 86: 355-362.
181. Higdon JV, Frei B. Obesity and oxidative stress: a direct link to CVD? *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2003; 23: 365-367.
182. Laimer M, Ebenbichler CF, Kaser S, Sandhofer A, Weiss H, Nehoda H et al. Markers of chronic inflammation and obesity: a prospective study on the reversibility of this association in middle-aged women undergoing weight loss by surgical intervention. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2002; 26: 659-662.
183. Bistrian BR, Khaodhlar L. Chronic systemic inflammation in overweight and obese adults. *JAMA.* 2000; 283: 2235-2236.
184. Papachristou GI, Papachristou DJ, Avula H, Slivka A, Whitcomb DC. Obesity increases the severity of acute pancreatitis: performance of APACHE-O score and correlation with the inflammatory response. *Pancreatology* 2006; 6 (4): 279-85.
185. Flegal KM, Carroll MD, Ogden CL, Johnson CL. Prevalence and trends in obesity among US adults, 1999-2000. *JAMA.* 2002 Oct 9;288(14):1723-7.
186. Ogden CL, Flegal KM, Carroll MD, Johnson CL. Prevalence and trends in overweight among US children and adolescents, 1999-2000. *JAMA.* 2002 Oct 9;288(14):1728-32.
187. Ogden CL, Carroll MD, Curtin LR, McDowell MA, Tabak CJ, Flegal KM. Prevalence of overweight and obesity in the United States, 1999-2004. *JAMA.* 2006 Apr 5;295(13):1549-55.
188. Ogden CL, Carroll MD, Flegal KM. Epidemiologic trends in overweight and obesity. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2003 Dec;32(4):741-60.
189. Okiyama A, Beauchamp GK. Taste dimensions of monosodium glutamate (MSG) in food system: role of glutamate in young American subjects. *Physiol Behav* 1998; 65: 177-81.
190. Serdula MK, Ivery D, Coates RJ, Freedman DS, Williamson DF, Byers T. Do obese children become obese adults? A review of the literature. *Prev Med.* 1993 Mar;22(2):167-77.
191. Dabas A, Seth A. Prevention and Management of Childhood Obesity. *Indian J Pediatr.* 2018 Jul;85(7):546-553.
192. Corley DA, Kubo A, Levin TR, Block G, Habel L, Zhao W et al. Abdominal obesity and body mass index as risk factors for Barrett's esophagus. *Gastroenterology.* 2007 Jul;133(1):34-41.

193. Donohoe CL, Pidgeon GP, Lysaght J, Reynolds JV. Obesity and gastrointestinal cancer. *Br J Surg*. 2010 May;97(5):628-42.
194. Vendrell J, Broch M, Vilarrasa N, Molina A, Gómez JM, Gutiérrez C et al. Resistin, adiponectin, ghrelin, leptin, and proinflammatory cytokines: Relationships in obesity. *Obes Res*. 2004 Jun;12(6):962-71.
195. Ройтберг Г.Е. Метаболический синдром. Москва: МЕДпресс-информ; 2007. 223 с.
196. Седлецкий ЮИ, Мирчук КК. Хирургическое лечение ожирения. *Вестн. хирургии им. И.И. Грекова*. 1996. 6: 100-104.
197. Федорук ВІ, Рощина ЛО. Лікувальний вплив абдомінопластики на пацієнтів з метаболічним синдромом. Зб. тез доп. Четвертої міжнар. конф. «Проблемні ситуації в пластичній та реконструктивній хірургії». Київ, 2010, с. 125.
198. Чазова ИЕ, Мычка ВБ. Метаболический синдром. *Consilium medicum*. 2002. 4 (11): 587-592.
199. De Filippo C, Cavalieri D, Di Paola M, Ramazzotti M, Pouillet JB, Massart Set al. Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010 Aug 17;107(33):14691-6.
200. Burcelin R, Luche E, Serino M, Amar J. The gut microbiota ecology: a new opportunity for the treatment of metabolic diseases? *Front Biosci (Landmark Ed)*. 2009 Jun 1;14:5107-17.
201. Takahashi H, Hosono K, Endo H, Nakajima A. Colon epithelial proliferation and carcinogenesis in diet-induced obesity. *J Gastroenterol Hepatol*. 2013 Dec;28 Suppl 4:41-7.
202. Степанов ЮМ, Скирда ІЮ. Гастроентерологічна допомога населенню України: основні показники здоров'я та ресурсне забезпечення у 2011 р. *Гастроентерологія*. 2013; 46(1): 8-11.
203. Samuel BS, Gordon JJ. A humanized gnotobiotic mouse model of host-archaeal-bacterial mutualism. Version 2. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006 Jun 27;103(26):10011-6.
204. Angelakis E, Bastelica D, Ben Amara A, El Filali A, Dutour A, Mege JL et al. An evaluation of the effects of *Lactobacillus ingluviei* on body weight, the intestinal microbiome and metabolism in mice. *Microb Pathog*. 2012 Jan;52(1):61-8.

205. Jung SP, Lee KM, Kang JH, Yun SI, Park HO, Moon Y et al. Effect of lactobacillus gasseri bnr17 on overweight and obese adults: a randomized, double-blind clinical trial. *Korean J Fam Med*. 2013 Mar;34(2):80-9.
206. Luoto R, Kalliomäki M, Laitinen K, Isolauri E. The impact of perinatal probiotic intervention on the development of overweight and obesity: follow-up study from birth to 10 years. *Int J Obes (Lond)*. 2010 Oct;34(10):1531-7.
207. Luoto R, Laitinen K, Nermes M, Isolauri E. Impact of maternal probiotic-supplemented dietary counseling during pregnancy on colostrum adiponectin concentration: a prospective, randomized, placebo-controlled study. *Early Hum Dev*. 2012 Jun;88(6):339-44.
208. Kadooka Y, Sato M, Imaizumi K, Ogawa A, Ikuyama K, Akai Y et al. Regulation of abdominal adiposity by probiotics (lactobacillus gasseri sbt2055) in adults with obese tendencies in a randomized controlled trial. *Eur J Clin Nutr*. 2010 Jun;64(6):636-43.
209. Cani PD, Amar J, Iglesias MA, Poggi M, Knauf C, Bastelica D et al. Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance. *Diabetes*. 2007 Jul;56(7):1761-72.
210. Fåk F, Bäckhed F. Lactobacillus reuteri prevents diet-induced obesity, but not atherosclerosis, in a strain dependent fashion in apoe^{-/-} mice. *PLoS One*. 2012;7(10):e46837.
211. Mokdad AH, Ford ES, Bowman BA, Dietz WH, Vinicor F, Bales VS et al. Prevalence of obesity, diabetes and obesity-related health risk factors. *JAMA*. 2003 Jan 1;289(1):76-9.
212. Константинов ВО. Доклинический атеросклероз (диагностика и лечение). СПб.: ИНКАРТ; 2006. 160 с.
213. El-Serag H. The association between obesity and GERD: a review of the epidemiological evidence. *Dig Dis Sci*. 2008 Sep;53(9):2307-12.
214. Marotta T, Russo BF, Ferrara LA. Triglyceride-to-HDL-cholesterol ratio and metabolic syndrome as contributors to cardiovascular risk in overweight patients. *Obesity (Silver Spring)*. 2010 Aug;18(8):1608-13.
215. Gami AS, Witt BJ, Howard DE, Erwin PJ, Gami LA, Somers VK et al. Metabolic syndrome and risk of incident cardiovascular events and death: a systematic review and meta-analysis of longitudinal studies. *J Am Coll Cardiol*. 2007 Jan 30;49(4):403-14.
216. Funnell IC, Bornman PC, Weakley SP, Terblanche J, Marks IN. Obesity: an important prognostic factor in acute pancreatitis. *Br J Surg* 1993; 80 (4):484-6.

217. Suazo-Barahona J, Carmona-Sanchez R, Robles-Diaz G, Milke-Garcia P, Vargas-Vorackova F, Uscanga-Dominguez L et al. Obesity: a risk factor for severe acute biliary and alcoholic pancreatitis. *Am J Gastroenterol* 1998; 93 (8): 1324-8.
218. Tsai CJ. Is obesity a significant prognostic factor in acute pancreatitis? *Dig Dis Sci* 1998; 43(10): 2251-4.
219. De Waele B, Vanmierlo B, Van Nieuwenhove Y, Delvaux G. Impact of body overweight and class I, II and III obesity on the outcome of acute biliary pancreatitis. *Pancreas* 2006; 32 (4): 343-5.
220. Halonen KI, Leppaniemi AK, Puolakkainen PA, Lundin JE, Kemppainen EA, Hietaranta AJ et al. Severe acute pancreatitis: prognostic factors in 270 consecutive patients. *Pancreas* 2000; 21 (3): 266-71.
221. Gloor B, Muller CA, Worni M, Martignoni ME, Uhl W, Buchler MW. Late mortality in patients with severe acute pancreatitis. *Br J Surg* 2001; 88(7):975-9.
222. Rebours V. Acute pancreatitis: An overview of the management. *Rev Med Interne*. 2014 Oct;35(10):649-55.
223. Frossard J-L, Lescuyer P, Pastor CM. Experimental evidence of obesity as a risk factor for severe acute pancreatitis. *World J Gastroenterol*. 2009; 15 (42): 5260-5.
224. De Waele B, Vanmierlo B, Van Nieuwenhove Y, Delvaux G. Impact of body overweight and class I, II and III obesity on the outcome of acute biliary pancreatitis. *Pancreas*. 2006;32(4):343-5.
225. Davis PJ, Eltawil KM, Abu-Wasel B, Walsh MJ, Topp T, Molinari M. Effect of Obesity and Decompressive Laparotomy on Mortality in Acute Pancreatitis Requiring Intensive Care Unit Admission. *World J Surg*. 2013 Feb;37(2):318-32.
226. Martínez J, Johnson CD, Sánchez-Payá J, de Madaria E, Robles-Díaz G, Pérez-Mateo M. Obesity is a definitive risk factor of severity and mortality in acute pancreatitis: an updated meta-analysis. *Pancreatology*. 2006; 6: 206-9.
227. Lankisch PG, Schirren CA. Increased body weight as a prognostic parameter for complications in the course of acute pancreatitis. *Pancreas*. 1990; 5: 626-9.
228. Blomgren KB, Sundström A, Steineck G, Wiholm BE. Obesity and treatment of diabetes with glyburide may both be risk factors for acute pancreatitis. *Diabetes Care*. 2002; 25: 298-302.
229. Sawalhi S, Al-Maramhy H, Abdelrahman AI, Allah SE, Al-Jubori S. Does the presence of obesity and/or metabolic syndrome affect the course of acute pancreatitis?: A prospective study // *Pancreas*. 2014 May; 43 (4): 565-70.

230. Katuchova J, Bober J, Harbulak P, Hudak A, Gajdzik T, Kalanin R et al. Obesity as a risk factor for severe acute pancreatitis patients // *Wien Klin Wochenschr.* 2014 Apr; 126 (7-8): 223-7.
231. Segersvard R, Sylvan M, Herrington M, Larsson J, Permert J. Obesity increases the severity of acute experimental pancreatitis in the rat. *Scand J Gastroenterol* 2001; 36 (6): 658-63.
232. Abu Hilal M, Armstrong T. The impact of obesity on the course and outcome of acute pancreatitis. *Obes Surg.* 2008; 18: 326-8.
233. Sempere L, Martinez J, de Madaria E, Lozano B, Sanchez-Paya J, Jover R et al. Obesity and fat distribution imply a greater systemic inflammatory response and a worse prognosis in acute pancreatitis. *Pancreatology.* 2008; 8: 257-64.
234. Pitt HA. Hepato-pancreato-biliary fat: the good, the bad and the ugly. *HPB (Oxford)* 2007; 9: 92-7.
235. Clement K, Langin D. Regulation of inflammation-related genes in human adipose tissue. *J Intern Med.* 2007; 262: 422-30.
236. Lamas O, Marti A, Martínez JA. Obesity and immunocompetence. *Eur J Clin Nutr.* 2002;56 Suppl 3: S42-5.
237. DiMagno MJ, DiMagno EP. Chronic pancreatitis. *Curr Opin Gastroenterol.* 2005 Sep;21(5):544-54.
238. Клер ХУ. Хронический панкреатит: современные аспекты патофизиологии и лечения. Мат-лы V Национальной школы гастроэнтерологов, гепатологов Украины. Киев; 2003: 64-6.
239. Вахрушев Я.М., Сучкова Е.В., Хохлачева Н.А. Оценка липидного обмена и функционального состояния гепатобилиарной системы при холелитиазе. *Гастроэнтерология Санкт-Петербурга.* 2006. 1-2: M183.
240. Angelopoulos N, Dervenis C, Goula A, Rombopoulos G, Livadas S, Kaltsas D et al. Endocrine pancreatic insufficiency in chronic pancreatitis. *Pancreatology.* 2005;5(2-3):122-31.
241. Steer ML, Perides G. Pathogenesis: how does acute pancreatitis develop? In: Dominguez-Munoz JE, ed. *Clinical Pancreatology for Practicing Gastroenterologists and Surgeons.* Malden, MA: Blackwell Publ, 2005: 10-26.
242. Дмитриев АН. Метаболический синдром и поджелудочная железа: состояние кровообращения в поджелудочной железе при метаболическом синдроме у пациентов с различными типами гиперлиппротеинемий. *Эксперим. и клин. гастроэнтерология.* 2003; 3: 39-42.
243. Ahima RS, Flier JS. Adipose tissue as an endocrine organ. *Trends Endocrinol Metab.* 2000 Oct; 11 (8): 327-32.

244. Bradley LA, Cleveland KA, Cheatham B. The adipocyte as a secretory organ: mechanisms of vesicle transport and secretory Recent Prog Horm Res. 2001;56:329-58.
245. Tukiainen E, Kylanpaa ML, Ebeling P, Kemppainen E, Puolakkainen P, Repo H. Leptin and adiponectin levels in acute pancreatitis. *Pancreas*. 2006 Mar;32(2):211-4.
246. Bonior J., Jaworek J., Panek J. Leptin in human necrotizing acute pancreatitis. *Pancreatology*. 2006; 6: 366.
247. Berstein LM. Macrosomy, Obesity and Cancer. *Nova Sci. Publ.* 1997. 7. 195.
248. Weisberg SP, McCann D, Desai M, Rosenbaum M, Leibel RL, Ferrante AW Jr. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J Clin Invest*. 2003 Dec;112(12):1796-808.
249. Larsson H, Elmståhl S, Ahrén B. Plasma leptin levels correlate to islet function independently of body fat in postmenopausal women. *Diabetes*. 1996 Nov;45(11):1580-4.
250. Konturek PC, Jaworek J, Maniatoglou A, Bonior J, Meixner H, Konturek SJ, Hahn EG. Leptin modulates the inflammatory response in acute pancreatitis. *Digestion*. 2002; 65 (3): 149-60.
251. Leśniowski B, Kumor A, Jasińska A, Daniel P, Pietruczuk M, Małecka-Panas E. Resistin. A new laboratory marker useful in diagnosis of acute pancreatitis? *Pol Merkur Lekarski* 2007; 22: 385-7.
252. Duarte-Rojo A, Lezama-Barreda A, Ramirez-Iglesias MT, Peláez-Luna M, Robles-Díaz G. Is leptin related to systemic inflammatory response in acute pancreatitis? *World J Gastroenterol* 2006; 12: 4392-6.
253. Maeda K, Okubo K, Shimomura I, Funahashi T, Matsuzawa Y, Matsubara K. cDNA cloning and expression of a novel adipose specific collagen-like factor, apM1 (adipose Most abundant Gene transcript 1). *Biochem Biophys Res Commun*. 1996 Apr 16;221(2):286-9.
254. Lindsay RS, Funahashi T, Hanson RL, Matsuzawa Y, Tanaka S, Tataranni PA et al. Adiponectin and development of type 2 diabetes in the Pima Indian population. *Lancet*. 2002 Jul 6;360(9326):57-8.
255. Vazquez LA, Pazos F, Berrazueta JR, Fernandez-Escalante C, Garcia-Unzueta MT, Freijanes J et al. Effects of changes in body weight and insulin resistance on inflammation and endothelial function in morbid obesity after bariatric surgery. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90 (1): 316-22.
256. Stone NJ. Secondary causes of hyperlipidemia. *Med Clin North Am*. 1994 Jan;78(1):117-41.

257. Rämö JT, Ripatti P, Tabassum R, Söderlund S, Matikainen N, Gerl MJ et al. Coronary Artery Disease Risk and Lipidomic Profiles Are Similar in Hyperlipidemias With Family History and Population-Ascertained Hyperlipidemias. *J Am Heart Assoc.* 2019 Jul 2;8(13):e012415.
258. Patterson RE, Frank LL, Kristal AR, White E. A comprehensive examination of health conditions associated with obesity in older adults. *Am J Prev Med.* 2004 Dec;27(5):385-90.
259. Mery CM, Rubio V, Duarte-Rojo A, Suazo-Barahona J, Peláez-Luna M, Milke P, Robles-Díaz G. Android fat distribution as predictor of severity in acute pancreatitis. *Pancreatology.* 2002; 2 (6): 543-9.
260. Martinez J, Sanchez-Paya J, Palazon JM, Aparicio JR, Pico A, Perez-Mateo M. Obesity: a prognostic factor of severity in acute pancreatitis. *Pancreas* 1999; 19 (1): 15-20.
261. Fain JN, Madan AK, Hiler ML, Cheema P, Bahouth SW. Comparison of the release of adipokines by adipose tissue, adipose tissue matrix, and adipocytes from visceral and subcutaneous abdominal adipose tissues of obese humans. *Endocrinology* 2004; 145 (5): 2273-82.
262. Фалалєєва ТМ. Роль глутамату та пролінвмісних ди- та трипептидів у регуляції морфо-функціонального стану шлунка [дисертація]. Київ: КНУТШ; 2011. 32 с.
263. Howell JA, Matthews AD, Swanson KC, Harmon DL, Matthews JC. Molecular identification of high-affinity glutamate transporters in sheep and cattle forestomach, intestine, liver, kidney, and pancreas. *J Anim Sci.* 2001 May;79(5):1329-36.
264. Gill S, Pulido O. Glutamate Receptors in Peripheral Tissue. Kluwer Academic / Plenum Publishers, New York, 2005. Chapter 8, Glutamate Receptors in Endocrine Tissues; p. 147-168.
265. Cao Y, Song G. Purinergic modulation of respiration via medullary raphe nuclei in rats. *Respir Physiol Neurobiol.* 2007 Feb 15;155(2):114-20.
266. Лилли Р. Патогистологическая техника и практическая гистохимия. Москва: Мир; 1969. 648 с.
267. Knopfholz J, Disserol CC, Pierin AJ, Schirr FL, Streisky L, Takito LL. Validation of the friedewald formula in patients with metabolic syndrome. *Cholesterol.* 2014;2014:261878.
268. Trinder P. Determination of blood glucose using an oxidase-peroxidase system with a non-carcinogenic chromogen. *J Clin Pathol.* 1969 Mar;22(2):158-61.

269. Vogeser M, König D, Frey I, Predel HG, Parhofer KG, Berg A. Fasting serum insulin and the homeostasis model of insulin resistance (HOMA-IR) in the monitoring of lifestyle interventions in obese persons. *Clin Biochem.* 2007 Sep;40(13-14):964-8.
270. Lowe ME. Assays for pancreatic triglyceride lipase and colipase. *Methods Mol Biol.* 1999; 109:59-70.
271. Гланц С. Медико-биологическая статистика. Москва: Практика; 1999. 459 с.
272. Yang WH, Drouin MA, Herbert M, Mao Y, Karsh J. The monosodium glutamate symptom complex: assessment in a double-blind, placebo-controlled, randomized study. *J Allergy Clin Immunol.* 1997 Jun;99(6 Pt 1):757-62.
273. Kwok RH. Chinese-restaurant syndrome. *N Engl J Med.* 1968;278:796.
274. Allen DH, Delohery J, Baker G. Monosodium L-glutamate-induced asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 1987 Oct;80(4):530-7.
275. García OJC, Moyano C, Fonseca JL, Bellido J. The Chinese restaurant syndrome. *Med Clin (Barc).* 1996. 107, 13: 518.
276. Freeman M. Reconsidering the effects of monosodium glutamate: a literature review. *J Am Acad Nurse Pract.* 2006 Oct;18(10):482-6.
277. Центр медичної статистики МОЗ України 2009.
278. Dawson R, Pelleymounter MA, Millard WJ, Liu S, Eppler B. Attenuation of leptin-mediated effects by monosodium glutamate-induced arcuate nucleus damage. *Am J Physiol.* 1997 Jul;273(1 Pt 1):E202-6.
279. Collison KS, Zaidi MZ, Saleh SM, Inglis A, Mondreal R, Makhoul NJ. Effect of trans-fat, fructose and monosodium glutamate feeding on feline weight gain, adiposity, insulin sensitivity, adipokine and lipid profile. *Br J Nutr.* 2011 Jul;106(2):218-26.
280. Morselli PL, Garattini S. Monosodium glutamate and the Chinese restaurant syndrome. *Nature.* 1970 Aug 8;227(5258):611-2.
281. Cutler RG. Peroxide-producing potential of tissues: inverse correlation with longevity of mammalian species. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1985 Jul;82(14):4798-802.
282. Livingstone B. Epidemiology of childhood obesity in Europe. *Eur J Pediatr.* 2000 Sep;159 Suppl 1: S14-34.
283. Ginsburg MM. Obesity and metabolic syndrome. Impact on health, prevention and treatment. Samara: Parus; 2000.

284. Girina OM, Gromovich AV. The prevalence of obesity as a risk factor for somatic pathology among adolescents. *Practitioner*. 2012; 2: 32-35.
285. Лещенко ІВ, Шевчук ВГ, Фалалєєва ТМ, Берегова ТВ. Вплив тривалого введення глутамату натрію на структуру підшлункової залози щурів. *Фізіол. журн*. 2012. 58(2):59-65.
286. Kharroubi AT, Darwish HM. Diabetes mellitus: the epidemic of the century. *World J Diabetes*. 2015 Jun 25;6(6):850-67.
287. Bhattarai MD. Three patterns of rising type 2 diabetes prevalence in the world: need to widen the concept of prevention in individuals into control in the community. *JNMA J Nepal Med Assoc*. 2009 Apr-Jun;48(174):173-9.
288. Li W, Katzmarzyk PT, Horswell R, Zhang Y, Wang Y, Johnson J et al. Body mass index and heart failure among patients with type 2 diabetes mellitus. *Circ Heart Fail*. 2015 May;8(3):455-63.
289. Dabelea D, Mayer-Davis EJ, Saydah S, Imperatore G, Linder B, Divers J et al. Prevalence of type 1 and type 2 diabetes among children and adolescents from 2001 to 2009. *JAMA*. 2014 May 7;311(17):1778-86.
290. Wong J, Constantino M, Yue DK. Morbidity and mortality in young-onset type 2 diabetes in comparison to type 1 diabetes: where are we now? *Curr Diab Rep*. 2015 Jan;15(1):566.
291. Phillips A, Cobbold C. A comparison of the effects of aerobic and intense exercise on the type 2 diabetes mellitus risk marker adipokines, adiponectin and retinol binding protein-4. *Int J Chronic Dis*. 2014;2014:358058.
292. Scacchi R, Pinto A, Rickards O, Pacella A, De Stefano GF, Cannella C et al. An analysis of peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR-gamma 2) Pro12Ala polymorphism distribution and prevalence of type 2 diabetes mellitus (T2DM) in world populations in relation to dietary habits. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2007 Nov;17(9):632-41.
293. Bedinger DH, Adams SH. Metabolic, anabolic, and mitogenic insulin responses: a tissue-specific perspective for insulin receptor activators. *Mol Cell Endocrinol*. 2015 Nov 5;415:143-56.
294. Abenavoli L, Masarone M, Peta V, Milic N, Kobyljak N, Rouabhia S et al. Insulin resistance and liver steatosis in chronic hepatitis c infection genotype 3. *World J Gastroenterol*. 2014 Nov 7;20(41):15233-40.
295. Kim SW, Park KY, Kim B, Kim E, Hyun CK. *Lactobacillus rhamnosus* GG improves insulin sensitivity and reduces adiposity in high-fat diet-fed mice through enhancement of adiponectin production. *Biochem Biophys Res Commun*. 2013 Feb 8;431(2):258-63.

296. Park KY, Kim B, Hyun CK. Lactobacillus rhamnosus GG improves glucose tolerance through alleviating ER stress and suppressing macrophage activation in db/db mice. *J Clin Biochem Nutr.* 2015 May;56(3):240-6.
297. Savcheniuk O, Kobyliak N, Kondro M, Virchenko O, Falalyeyeva T, Beregova T. Short-term periodic consumption of multiprobiotic from childhood improves insulin sensitivity, prevents development of non-alcoholic fatty liver disease and adiposity in adult rats with glutamate-induced obesity. *BMC Complement Altern Med.* 2014 Jul 16;14:247.
298. Боднар ПМ, Михальчишин ГП, Кобиляк НМ. Неалкогольна жирова хвороба печінки у хворих на цукровий діабет типу 2: патогенез, діагностика та лікування. *Ендокринологія.* 2012;17(1):94-101.
299. Фалалєєва ТМ. Зміни маси тіла щурів за умов довготривалого введення глутамату натрію. *Світ медицини та біології.* 2012; 2:170-2.
300. Фалалєєва ТМ, Кухарський ВМ, Берегова ТВ. Вплив тривалого введення глутамату натрію на структурно-функціональний стан шлунка та масу тіла щурів. *Фізіологічний журнал.* 2010; 56(4):102-10.
301. Lengvári I. Effect of perinatal monosodium glutamate treatment on endocrine functions of rats in maturity. *Acta Biol Acad Sci Hung.* 1977;28(1):133-41.
302. Abe M, Saito M, Shimazu T. Neuropeptide y in the specific hypothalamic nuclei of rats treated neonatally with monosodium glutamate. *Brain Res Bull.* 1990 Feb;24(2):289-91.
303. Miskowiak B, Partyka M. Effects of neonatal treatment with MSG (monosodium glutamate) on hypothalamo-pituitary-thyroid axis in adult male rats. *Histol Histopathol.* 1993 Oct;8(4):731-4.
304. Фалалєєва Т.М. Вплив коротколанцюгових жирних кислот на шлункову секрецію [дисертація]. Київ: КНУТШ; 2004. 20 с.
305. Lam WF, Masclee AA, Muller ES, Lamers CB. Effect of hyperglycemia on gastric acid secretion during the gastric phase of digestion. *Am J Physiol.* 1997 May;272(5 Pt 1):G1116-21.
306. Cuche G, Cuber JC, Malbert CH. Ileal short chain fatty acids inhibit gastric motility by a humoral pathway. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2000 Nov;279(5):G925-30.
307. Cuche G, Malbert CH. Short-chain fatty acids present in the ileum inhibit fasting gastrointestinal motility in conscious pigs. *Neurogastroenterol Motil.* 1999 Jun;11(3):219-25.

308. Zai H, Haga N, Fujino MA, Itoh Z. Effect of peptide YY on gastric motor and secretory activity in vagally innervated and denervated corpus pouch dogs. *Regul Pept.* 1996 Mar 22;61(3):181-8.
309. Zhao XT, Walsh JH, Wong H, Wang L, Lin HC. Intestinal fat-induced inhibition of meal-stimulated gastric acid secretion depends on CCK but not peptide YY. *Am J Physiol.* 1999 Feb;276(2):G550-5.
310. Savcheniuk OA, Virchenko OV, Falalyeyeva TM, Beregova TV, Babenko LP, Lazarenko LM et al. The efficacy of probiotics for monosodium glutamate-induced obesity: dietology concerns and opportunities for prevention. *EPMA J.* 2014 Jan 13;5(1):2.
311. Савченко ОА, Вірченко ОВ, Фалалєєва ТМ, Берегова ТВ, Бабенко ЛП, Лазаренко ЛМ та ін. Розвиток експериментального ожиріння у щурів, викликаного дією глутамату натрію, на тлі введення пробіотиків. *Фізіологічний журнал.* 2014; 60(2):63-69.
312. Kobyliak N, Falalyeyeva T, Virchenko O, Mykhalchyshyn G, Bodnar P, Spivak M et al. Comparative experimental investigation on the efficacy of mono- and multiprobiotic strains in non-alcoholic fatty liver disease prevention. *BMC Gastroenterol.* 2016 Mar 15;16:34.