

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

**ЛЕЩЕНКО ІВАН В'ЯЧЕСЛАВОВИЧ**

**УДК 616.37-008-091:616-056.52**

**СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ ЗА  
УМОВ РОЗВИТКУ ОЖИРІННЯ**

03.00.13 – фізіологія людини і тварин

Автореферат дисертації на здобуття наукового ступеня  
кандидата біологічних наук

Київ – 2020

Дисертацією є рукопис

Робота виконана в ННЦ «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка МОН України

**Науковий керівник:** доктор біологічних наук, професор  
**Фалалєєва Тетяна Михайлівна,**  
Київський національний університет  
імені Тараса Шевченка МОН України,  
ННЦ «Інститут біології та медицини»,  
завідувач кафедри біомедицини.

**Офіційні опоненти:** доктор біологічних наук, старший науковий співробітник  
**Літовка Ірина Георгіївна,**  
Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України,  
провідний науковий співробітник відділу клінічної  
патофізіології.

доктор біологічних наук, професор  
**Фоменко Ірина Степанівна,**  
Львівський національний медичний університет імені  
Данила Галицького МОЗ України,  
професор кафедри біологічної хімії.

Захист відбудеться “23” вересня 2020 року о 14<sup>00</sup> годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26.001.38 Київського національного університету імені Тараса Шевченка за адресою: м. Київ, проспект Академіка Глушкова, 2, ННЦ «Інститут біології та медицини», ауд. 434.

Поштова адреса: 01601, м. Київ, вул. Володимирська, 64/13, Київський національний університет імені Тараса Шевченка, ННЦ «Інститут біології та медицини», спеціалізована вчена рада Д 26.001.38.

З дисертацією можна ознайомитись у Науковій бібліотеці ім. М. Максимовича Київського національного університету імені Тараса Шевченка за адресою: 01601, м. Київ, вул. Володимирська, 58, зала 12.

Автореферат розісланий «\_\_\_» серпня 2020 р.

Вчений секретар  
спеціалізованої вченої ради Д 26.001.38,  
доктор біологічних наук



К.О. Дворченко

## ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

**Актуальність теми.** За останніми даними ВООЗ (Всесвітньої організації охорони здоров'я), здоров'я людини в значній мірі залежить від збалансованого харчування (World Health Organization (WHO), 2009, 2014, 2018, 2020). 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 (Meier T. et al., 2019). 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 (Visscher T. L. et al., 2001; Flier J. S., 2004). На сьогодні ожиріння набуває характер епідемії: близько 1,7 млрд. осіб на планеті мають надмірну масу тіла (Bunn D. et al., 2015; WHO, 2009, 2014, 2018, 2020). ВООЗ визнала ожиріння глобальною епідемією та взяла його під свій контроль (Haidar Ya.M. et al., 2011; WHO, 2020). Ожиріння зменшує тривалість життя на 3-5 років, а інколи, при тяжких формах, на 15 років (Гинзбург М.М. та ін., 2000, Yang W. et al., 2007; Meier T. et al., 2019).

Надмірне вживання жирів, хоча і важлива причина ожиріння (Meier T. et al., 2019), проте, останнім часом вчені вважають, що безконтрольне використання харчових добавок, а саме, підсилювача смаку глутамату натрію (Е621) теж є причиною надмірної ваги (Falalievieva T.M., 2010). Властивість глутамату натрію викликати ожиріння вивчалась упродовж десятиліть. Показано, що у щурів із ожирінням, викликаним глутаматом натрію, виникає інсулінорезистентність до периферичного засвоєння глюкози, зокрема у 3-місячних щурів спостерігали гіперінсулінемію (Oida K. et al., 1984). При цьому в адипоцитах збільшувалась чутливість до інсуліну, що підвищувало ємність адипоцитів для транспорту глюкози і синтезу ліпідів (Nakagawa T. et al., 2000).

Ожиріння та метаболічні порушення, що виникають при ньому, є одними з етіологічних факторів захворювань підшлункової залози (Wang S.Q. et al., 2011). За останні 30 років відзначено більш ніж двократне зростання частоти панкреатитів (Hou S. et al., 2019; Uc A, Nusain SZ., 2019). Механізми взаємозв'язку ожиріння та захворювань підшлункової залози поки залишаються не до кінця з'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 (Musso G. et al., 2010; Aggarwal A. et al., 2013; Boulangé C.L. et al., 2016).

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 (Kobyliak N. et al., 2016, 2019, 2020). 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* (Boulangé C.L. et al., 2016; Kim S.W. et al., 2013). 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 р.р., № 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 р.р. № 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 конгресі патофізіологів України (Крим, 2012); 4<sup>th</sup> International Scientific Conference (Kyiv, 2012); XVI Міжнародному медичному конгресі 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); 46<sup>th</sup> Annual Scientific Meeting of the European Society for Clinical Investigation (Budapest, 2012); the 21<sup>st</sup> United European Gastroenterology Week in Berlin (Berlin 2013); XIX з'їзді 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 153 сторінках друкованого тексту, ілюстрована 19 рисунками та 3 таблицями. Перелік використаних літературних джерел складається з 312 найменувань, з них кирилицею — 36, латиницею — 276.

## ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

### Матеріали та методи досліджень

Дослідження проведені з дотриманням міжнародних принципів Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей, у відповідності до Закону України від 21.02.2006 №3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження» та згідно з етичними нормами і правилами роботи з лабораторними тваринами (Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, National Academy Press, Washington DC, 1996). Експерименти виконували на білих нелінійних щурах масою 180-220 г. Також на новонароджених щурах. Тварин утримували в умовах віварію на стандартному харчовому раціоні в індивідуальних клітках. Усього в експериментах було використано 150 щурів.

**Дослідження впливу 10-, 20-, 30-ти денного введення глутамату натрію.** За добу до проведення експерименту тварин піддавали харчовій депривації з вільним доступом до води. Щури були розділені на 3 групи. Щурам першої групи (n=30) 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 (n=30) і 30 (n=30) мг/кг глутамату натрію (0,5 мл *per os*, один раз на день) відповідно. У щурів всіх груп було проведено аналіз змін маси тіла. Через 10, 20 та 30 днів у щурів всіх груп були проведені гістологічні дослідження тканини підшлункової залози.

**Дослідження впливу неонатального введення глутамату натрію.** За добу до проведення експерименту тварин піддавали харчовій депривації з вільним доступом до води. Щури були розділені на 6 груп 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 (Oida K., 1984). Впродовж 4 місяців після народження щури знаходилися на звичайному харчовому раціоні. Група II відповідно отримувала 2,5 мл/кг води (внутрішньошлунково, 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  $5 \times 10^9$  КУО/кг (50 мг/кг, в/ш). 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). Введення починали через 4 тижні після народження та продовжували двотижневими курсами з перервами у 2 тижні. Через 4 місяці у щурів всіх груп було проведено аналіз змін маси тіла.

**Забір біологічних зразків.** Тварин умертвляли летальною дозою уретану (3 г/кг, внутрішньоочеревинно). 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 шлунку завтовшки до 5 мкм виготовляли на санному мікромомі, фарбували гематоксиліном з дофарбуванням еозином. 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, Японія).

**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 (Trinder P., 1969). 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 (Vogesser M., 2007).

**Вивчення показників 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 ферментів підшлункової залози.** В сироватці крові визначали амілазу, панкреатичну амілазу та ліпазу стандартними біохімічними методами (Lowe M.E., 1999).

**Статистична обробка даних.** Одержані результати досліджень перевіряли на нормальність розподілу за допомогою W тесту Шапіро-Вілка. При нормальному розподілі, порівняння вибірок проводили за допомогою t-критерію Стьюдента для незалежних вибірок. При розподілі відмінному від нормального використовувався непараметричний метод Манна-Уїтні. Розраховували середнє значення (M), похибку середнього значення (m). Для аналізу даних приймали рівень значущості  $p < 0,05$  (Гланц С., 1999).

## РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

**Вплив тривалого введення глютамату натрію на структуру підшлункової залози 4-х місячних щурів.** В першій частині 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. Встановлено, що щоденне введення глютамату натрію щурам в дозі 15 мг/кг (1 грам на середньостатистичну людину) впродовж 20-ти та 30-ти днів викликало збільшення маси тіла майже в два рази ( $p < 0,05$ ). Збільшення щоденної дози глютамату натрію вдвічі (30 мг/кг) також значно збільшувало масу тіла щурів в середньому в два з половиною рази ( $p < 0,05$ ). 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 призводило до збільшення маси тіла тварин, секреції гідрохлоридної кислоти та ураження слизової оболонки шлунку, що проявлялося у розвитку крововиливів, ерозій і виразок) (Фалалєєва Т.М., 2011).

Оскільки в ендокринній і екзокринній частині підшлункової залози щурів знайдені для L-глютамату везикулярні глютаматні транспортери першого та другого типу та іонотропні і метаботропні глютаматні рецептори (Howell J.A. et al., 2001, Gendron T.F. et al., 2005), то ми вирішили перевірити вплив тривалого введення глютамату натрію на підшлункову залозу. Так, встановлено, що у щурів контрольної групи підшлункова залоза щурів мала типову будову. У підшлунковій залозі щурів, що отримували глютамат 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 стази в просвіті судин ендокринної частини.

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 глютаму 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 глютаму 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. Описані зміни є характерними для гострого панкреатиту.

Таким чином, отримані нами дані ставлять під сумнів традиційні ствердження про те, що використання харчової добавки глютаму натрію в розумних межах (1 г на день) є безпечним. Ми показали, що щоденне введення глютаму натрію щурам в дозі 15 і 30 мг/кг протягом 30 днів призводить до запалення підшлункової залози. Можна припустити, що споживання глютаму натрію не тільки в кількості 3 г на день (Allen D.H., 1987; Yang W.H., 1997; Geha R., 2000) є небезпечним для здоров'я людини. Небезпечними можуть бути і низькі дози глютаму натрію (1 і 2 г на день для середньостатистичної людини) тому, що введення глютаму натрію щурам в дозах 15 і 30 мг/кг (в порівнянні на 1 і 2 г глютаму натрію для середньостатистичної людини) протягом 30 днів, призводить до запалення підшлункової залози.

Узагальнюючи результати отримані в першій частині дисертаційної роботи та дані наукової літератури можна припустити, що глютамат натрію, попадаючи до ротової порожнини збуджує аферентний (чутливий) шлях трійчастого (V пара черепно-мозкових нервів), лицевого (VII пара черепно-мозкових нервів) та язикоглоткового (IX пара черепно-мозкових нервів) нервів, 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 блукаючого нерва (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 глютаму 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 (Howell J.A. et al., 2001). Крім того, численні дослідження показали наявність глютаматних рецепторів в ендо- та екзокринних клітинах підшлункової залози (Gendron T.F. et al., 2005).

Таким чином, глютамат натрію може стимулювати секрецію підшлункової залози через першу і другу фази секреції та активуючи глютаматні рецептори в ендо- та екзокринних клітинах підшлункової залози (рис. 1). Тому, тривале щоденне введення

глутамату натрію призводило до надмірного збільшення синтетичних і секреторних процесів у клітинах підшлункової та до розвитку панкреатиту.

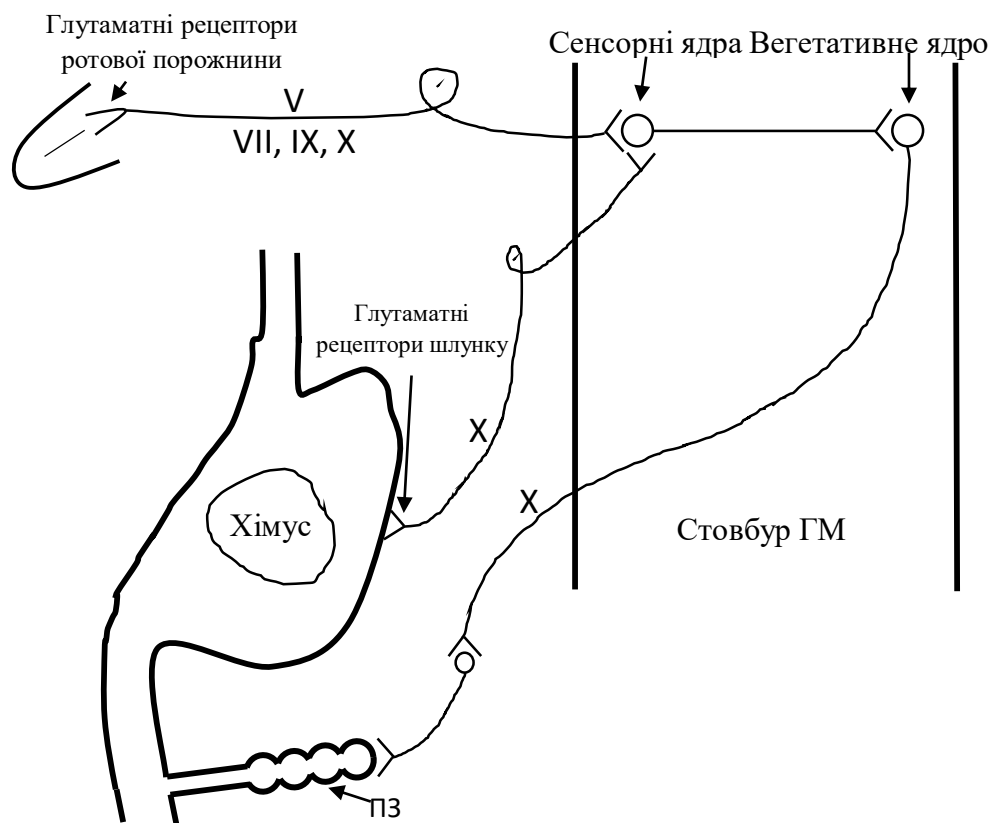


Рис 1. Схематичне зображення участі глутамату натрію в стимуляції секретії підшлункової залози (ПЗ). ГМ — головний мозок.

Отже, 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».

**Вплив неонатального введення глутамату натрію на структуру підшлункової залози 4-х місячних щурів та профілактично-лікувального введення пробіотичних штамів лактобацил та біфідобактерій.** Наукові дослідження останніх років свідчать про зміну не лише раціону харчування, але й подальшу зміну мікрофлори шлунково-кишкового тракту від характеру харчування. Протягом останнього десятиліття проведено декілька наукових досліджень, спрямованих на вивчення ролі мікрофлори у процесах метаболізму макроорганізму. У сучасній науковій літературі активно дискутується питання впливу пробіотиків на жировий обмін та ожиріння (Angelakis E. et al., 2012; Luoto R., 2012; Jung S.-P., 2013; Kobylak N. et al., 2016, 2019, 2020). Тому далі ми вирішили дослідити дію пробіотичних штамів лактобацил та біфідобактерій на жировий і вуглеводний обмін та морфо-функціональний стан підшлункової залози щурів за умов розвитку експериментального ожиріння.

У цій частині роботи ми використали загальноновизнану модель вісцерального ожиріння, а саме, неонатального введення глютаму натрію. Ще у 70-80-тих роках минулого сторіччя було показано, що введення глютаму натрію новонародженим щурам викликало затримку росту, зміни функції кори надниркових залоз, розвиток толерантності до глюкози (Oida K., et al., 1984, Lengvári I., 1977). Через кілька років був зроблений висновок про те, що введення глютаму новонародженим щурам уражує, головним чином, гіпоталамус, зокрема, дугоподібні і паравентрикулярні ядра (Abe M., et al., 1990, Miskowiak B. et al., 1993), які стають менш чутливими до лептину та інсуліну, в результаті чого розвивається гіперлептинемія та гіперінсулінемія (Nakagawa T. et al., 2000), що в свою чергу викликає порушення ендокринної функції та розвиток вісцерального ожиріння. Встановлено, що через 4 місяці після народження у щурів, яким на 2-10 добу життя підшкірно вводили глютамат 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.

Так, неонатальне введення глютаму 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. 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 (рис. 2).

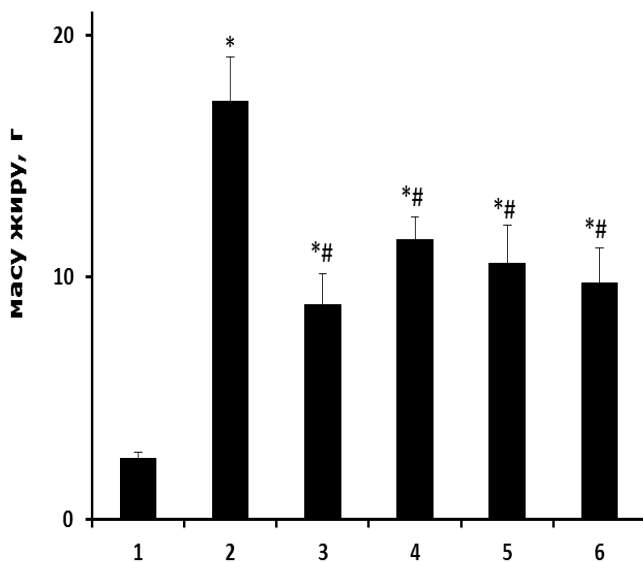


Рис. 2. Маса вісцерального жиру щурів за умов ожиріння, викликаного неонатальним введенням глютаму натрію, на фоні введення пробіотичних штамів ( $3,2 \times 10^{10}$  КУО/кг) ( $n=10$  в кожній групі): 1 — інтактні щури; 2 — контрольні щури з ожирінням; 3 — ожиріння + *Bifidobacterium animalis* VKL 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.

Пробіотичні штами покращували стан вуглеводного обміну при глютамат-індукованому ожирінні у щурів. Так, 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 трьохштамового пробіотику *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 пробіотику на даний показник (рис. 3).

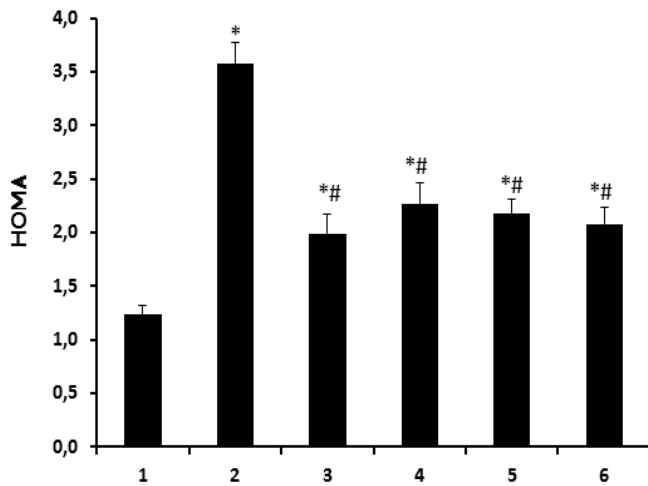


Рис. 3. Індекс інсулінорезистентності НОМА у щурів за умов ожиріння, викликаного глутамату натрію, за умов введення пробіотичних штамів ( $3,2 \times 10^{10}$  КУО/кг) ( $n=10$  в кожній групі,  $M \pm m$ ): 1 — інтактні щури; 2 — контрольні щури з ожирінням; 3 — ожиріння + *Bifidobacterium animalis* 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.

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 (табл. 2).

Таким чином, найбільш значний вплив на вуглеводний та ліпідний обмін був виявлений в групі щурів, яким вводили трьохштамовий пробіотик *Bifidobacterium animalis* VKL і VKB та *Lactobacillus casei* IMVB-7280 (1:1:2), тому далі будуть наведені дані лише з введенням комплексного пробіотику.

Встановлено, що у 4-х місячних щурів, що отримували глутамат натрію (4 мг/г) на 2, 4, 6, 8, 10 день життя у підшлунковій залозі спостерігався виражений міжчасточковий набряк, міждольковий та периваскулярний ліпоматоз. Судини були різко розширені, спостерігалася повнокрів'я, утворювалися екстравазати. Активність ферментів в сироватці крові 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% ( $p < 0,001$ ) (табл. 3).

У щурів, що отримували глутамат натрію (4 мг/г) та періодично (2-х тижневими курсами) вводили трьохштамний пробіотик *Bifidobacterium animalis* VKL і VKB та *Lactobacillus casei* IMVB-7280 (1:1:2). 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 глутамат-індукованим ожирінням. Введення пробіотику, що складається з *Bifidobacterium animalis* VKL, *Bifidobacterium animalis* VKB та *Lactobacillus casei* IMVB-7280 запобігало

порушенню морфогенезу підшлункової залози у тварин з глютаMAT-індукованим ожирінням.

Таблиця 2

**Біохімічні показники ліпідного обміну в сироватці крові щурів за умов глютаMAT-індукованого ожиріння та корекції пробіотиками**

Показники	Інтактні щури	Контрольні щури з ожирінням	Щури з ожирінням			<i>L. casei</i> IMVB-7280
			<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	
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*#

Примітка: M±m, n=10 у кожній групі; \*, \*\* — p<0,05, p<0,001 порівняно з інтактними щурами; #, ## — p<0,05, p<0,001 порівняно з контрольними щурами з ожирінням

Введення комбінованого пробіотика також знижувало активність 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 глютаMAT натрію (табл. 3).

Таблиця 3

**Активність ферментів у сироватці крові щурів**

Показники	Амілаза, од/л	Панкреатична амілаза, од/л	Ліпаза, од/л
Групи тварин			
Інтактний контроль	61±4,80	22±1,51	17±1,53
Плацебо (фіз. розчин)	60±4,80	23±1,45	17±1,91
ГлютаMAT натрію	115±9,20*#	59±6,67*#	70±5,60*#
ГлютаMAT натрію+ <i>Bifidobacterium animalis</i> VKL і VKB та <i>Lactobacillus casei</i> IMVB-7280 (1:1:2)	86±6,88*	37±2,29*	21±1,91*

Примітка: \* — p<0,05 щодо контролю, # — p<0,05 щодо глютаMATу натрію.

Аналізуючи викладені вище результати дослідження, можна запропонувати наступну схему механізмів дії пробіотичних штамів за умов ожиріння та запалення підшлункової залози, викликаного глутаматом (Рис. 4).

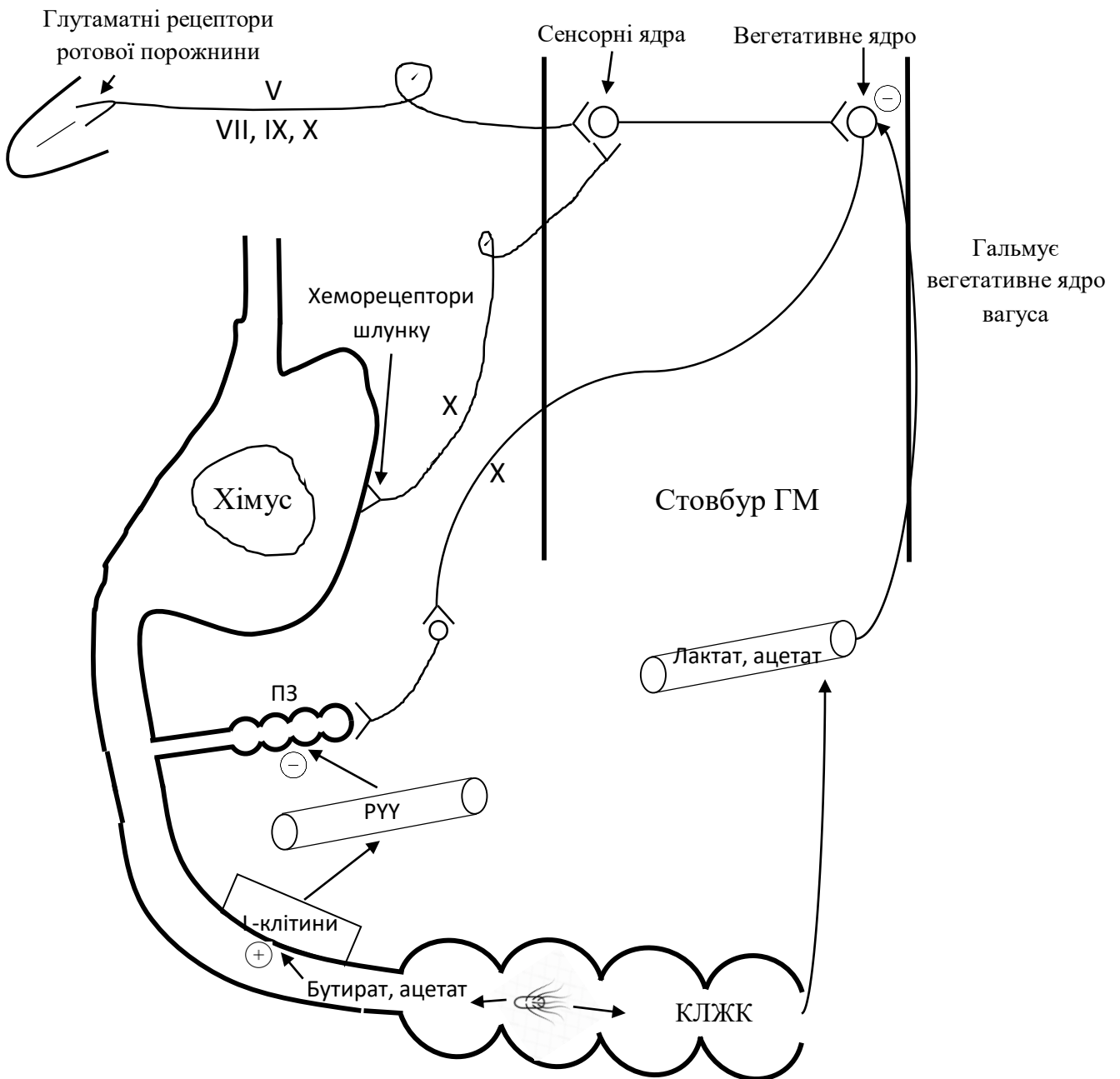


Рис. 4. Схема механізмів дії пробіотичних штамів за умов ожиріння та запалення підшлункової залози, викликаного глутаматом.

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 центрального гальмування (Фалалєєва Т.М., 2004). Було показано, що лактат натрію і пропіонат натрію збільшують концентрацію глюкози в крові, а гіперглікемія, як відомо, гальмує активність ядер блукаючих нервів (Lam W.F. et al., 1997) 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 (Cuche G., 1999, 2000], що КЛЖК вивільняють з L-клітин кишечнику гальмівний пептид YY, який, як відомо (Zai H. et al., 1996; Zhao X.Y. et al., 1999), зменшує виділення гідрохлоридної кислоти з шлунковим соком та секрецію підшлункової залози.

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 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 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* (Hildebrandt M.A., et al., 2009, Turnbaugh P.J., et al., 2008). 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.

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 штамми 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 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). 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 глютамат натрію у дозі 4 мг/г, спостерігається припинення росту і розвитку з супутнім накопиченням 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 глютаму натрію призводило до розвитку запалення підшлункової залози (ознаки притаманні гострому панкреатиту), що підтверджувалося зростанням активності її ферментів в сироватці крові.

3. На моделі глютаматного 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 пробіотику, 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 ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

*Статті у наукових фахових виданнях України*

1. **Лещенко І.В.** Вплив тривалого введення глютаму 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 глутамат-індукованому ожирінні у щурів за умов корекції пробіотичними 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 глутамату 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.** Патолофізіологічна 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 — 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 глутамату 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 И.В.** Морфофункциональное состояние поджелудочной железы крыс в условиях длительного введения глутамата натрия / **Лещенко И.В.**, Фалалеева Т.М. // Материалы 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., Beregova T., Yankovsky D. // The 21<sup>st</sup> 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. Фалалеева, Т.В. Берегова // Матеріали ХІХ-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.

## 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.

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

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 активації її ферментів в сироватці крові. У 4-х місячних щурів відмічалось порушення толерантності до глюкози та ліпідного обміну. 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).

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.

## АННОТАЦИЯ

**Лещенко И.В. Структурно-функциональное состояние поджелудочной железы в условиях развития ожирения. — Квалификационный научный труд на правах рукописи.**

Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук (доктора философии) по специальности 03.00.13 — физиология человека и животных. — Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко МОН Украины, Киев, 2019.

Цель работы — оценить структурно-функциональное состояние поджелудочной железы в условиях развития глутамат-индуцированного ожирения и коррекции пробиотическими штаммами лактобацилл и бифидобактерий.

Впервые установлено, что 30-дневное введение глутамата натрия в дозах 15 мг/кг и 30 мг/кг (соответствует 1 и 2 г/человека) вызывает некротические, некробиотические и дистрофические изменения экзо- и эндокриноцитов, лейкоцитарную и лимфоидную инфильтрацию, периваскулярный и интерстициальный фиброз, отек и дисциркуляторные расстройства в поджелудочной железе, что подтверждалось ростом активности ее ферментов в сыворотке крови. Описанные изменения характерны для острого панкреатита.

Впервые показано, что неонатальное введение глутамата натрия (4 мг/г) соответственно на 2, 4, 6, 8, 10 день жизни приводило к висцеральному ожирению взрослых крыс и развитию воспаления поджелудочной железы (признаки присущи острому панкреатиту), что подтверждалось изменением морфометрических показателей поджелудочной железы и ростом концентрации ее ферментов в сыворотке крови. В 4-х месячных крыс отмечалось нарушение толерантности к глюкозе и липидного обмена. Доказана эффективность применения пробиотических штаммов бифидобактерий (*Bifidobacterium animalis* VKL и VKB) и лактобацилл (*Lactobacillus casei* IMVB-7280) для предупреждения развития ожирения гипоталамического генеза и воспаления поджелудочной железы. Наиболее существенный эффект был обнаружен в группе животных, получавших композицию трех пробиотических штаммов *Bifidobacterium animalis* VKL и VKB и *Lactobacillus casei* IMVB-7280 (1:1:2).

Установлено, что периодическое введение пробиотиков оказывало значительный профилактически-лечебный эффект на развитие висцерального ожирения у крыс. Полученные результаты являются экспериментальным

обоснованием целесообразности пробиотикотерапии в комплексном лечении ожирения.

**Ключевые слова:** ожирение, поджелудочная железа, пробиотики.

### ABSTRACT

**Leshchenko I. Structural-functional state of the pancreas in case of obesity development. — Qualifying scientific work on the rights of the 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.