

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
імені ДАНИЛА ГАЛИЦЬКОГО

ДЕРЖАВНА УСТАНОВА «ІНСТИТУТ ГЕРОНТОЛОГІЇ
імені Д. Ф. ЧЕБОТАРЬОВА НАМН УКРАЇНИ»

КОНДРО МАР'ЯНА МИРОНІВНА



УДК: 616.36-003.826:616-056.52]-092-08

**МЕХАНІЗМИ РОЗВИТКУ СТЕАТОГЕПАТОЗУ ЗА УМОВ
ВІСЦЕРАЛЬНОГО ОЖИРІННЯ РІЗНОГО ГЕНЕЗУ ТА ЙОГО КОРЕКЦІЯ**

14.03.03. – нормальна фізіологія

Автореферат
дисертації на здобуття наукового ступеня
доктора медичних наук

Київ – 2021

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана у Львівському національному медичному університеті імені Данила Галицького.

Офіційні опоненти:

доктор медичних наук, професор, член-кореспондент НАН України,

Сагач Вадим Федорович

Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, завідувач відділу фізіології кровообігу

доктор медичних наук, професор,

Шатило Валерій Броніславович

ДУ «Інститут геронтології імені Д.Ф. Чеботарьова НАМН України», заступник директора з наукової роботи, завідувач відділу клінічної фізіології і патології внутрішніх органів

доктор медичних наук, професор

Воронич-Семченко Наталія Миколаївна

Івано-Франківський національний медичний університет МОЗ України, завідувач кафедри фізіології

Захист відбудеться «__» _____ 2021 року о __ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26.551.01 ДУ «Інститут геронтології імені Д. Ф. Чеботарьова НАМН України» за адресою 04114, м. Київ, вул. Вишгородська, 67


З дисертацією можна ознайомитися в бібліотеці ДУ «Інститут геронтології імені Д.Ф. Чеботарьова НАМН України», за адресою: 04114, м. Київ, вул. Вишгородська, 67

Автореферат розісланий «__» _____ 2021 року.

Вчений секретар

спеціалізованої вченої ради Д 26.551.01

доктор медичних наук

 Л. Антонюк-Щеглова

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Обґрунтування вибору теми дослідження. Ожиріння та його ускладнення залишаються серйозною проблемою охорони здоров'я [Тодуров І.М., 2018; Gruszka W., 2020] і набуло характеру пандемії в ХХІ сторіччі [Jia W., 2018]. Одним із найсерйозніших наслідків ожиріння є розвиток неалкогольної жирової хвороби печінки (НЖХП), ознакою якої є надлишок жиру в паренхімі печінки при відсутності надлишкового вживання алкоголю або явного запалення. Також НЖХП описується як печінковий прояв метаболічного синдрому [Than N.N., 2015]. Захворюваність на НЖХП складає 43-60% у діабетиків, близько 90% у пацієнтів із гіперліпідемією, 91% у пацієнтів із патологічним ожирінням [Than N.N., 2015], а у осіб із нормальною масою тіла - близько 16% [Than N.N., 2015]. НЖХП об'єднує спектр клініко-морфологічних змін печінки, що представлені неалкогольним жировим гепатозом, неалкогольним стеатогепатитом, фіброзом, цирозом печінки та гепатоцелюлярною карциномою, що розвиваються у пацієнтів, які не вживають алкоголь в гепатотоксичних дозах [Sheka A.C., 2020]. Часто замість неалкогольного жирового гепатозу вживають синонім стеатогепатоз (СГ).

Різні ланки механізму розвитку СГ, викликаним різними видами висококалорійних дієт (ВКД) описано в численних роботах [Mendez L., 2014; Kakimoto P.A., 2016]. В ряді робіт використано модель аліментарного ожиріння, в основі якої була ВКД (#C11024, Research Diets, New Brunswick, NJ) [West D.B. et al., 1992] з додаванням індуктора харчового потягу натрієвої солі глютамінової кислоти у співвідношенні 0,6:100,0 [Малюк О.П., 2014, 2015; Марущак М.І., 2015]. Проте, структурно-функціональні зміни в гепатоцитах та порушення регуляторних процесів найменш досліджені у щурів, яких утримували саме на чистій дієті з високим вмістом жирів і вуглеводів (#C11024, Research Diets, New Brunswick, NJ), найбільш наближеній до можливого характеру харчування людей з надмірною вагою, та у щурів після неонатального введення глютамату натрію.

Зважаючи на те, що НЖХП діагностується у 10-40% популяції [Perumpail V.J., 2017; Younossi Z.M., 2018; Golabi P., 2019], проблема діагностики, профілактики та лікування стеатогепатозу з метою запобігання його подальшого поглиблення та переходу на нові фази НЖХП є безумовно актуальною проблемою сучасної медицини.

Фактори ризику, що пов'язані з розвитком НЖХП, включають стать, вік, ожиріння, інсулінорезистентність, діабет і гіперліпіденемію [Attar V.M., 2013; Gaggini M., 2013]. Всі ці фактори ризику пов'язані із кишковою мікробіотою, а саме, з дизбактеріозом в кишечнику [He X. et al., 2016]. Слід наголосити, що захворюваність на НЖХП у осіб із нормальною масою тіла складає близько 16% [Than N.N., 2015]. Цей факт дозволив дослідникам припустити, що кишкова мікробіота може справляти вплив на метаболізм ліпідів незалежно від факторів, пов'язаних із ожирінням [Le Roy T., 2013]. Наведене свідчить про необхідність пошуку і експериментального обґрунтування застосування у профілактиці і лікуванні НЖХП препаратів із пре- та пробіотичною активністю.

Аналіз літератури щодо ролі кишкової мікробіоти в розвитку ожиріння та її вплив на метаболізм ліпідів в печінці [Marchesi J.R., 2016; Harakeh S.M., 2016; Jia W., 2018; Gerard C., 2019] дозволив нам обрати в якості науково обгрунтованих два таких засоба. Перший – пробіотичний препарат для нормалізації якісного і кількісного складу мікрофлори кишечника мультипробіотик “Симбітер ацидофільний” концентрований (мультипробіотик). Другий – препарат з пребіотичною активністю нанокристалічний діоксид церію (НДЦ). Аналіз наявної великої кількості літератури, присвяченої позитивному багаторічному досвіду застосування мультипробіотика в медичній практиці [Манько А.М., 2010; Крамарьов С.А., 2013; Янковский Д.С., Дымент Г.С., 2017], показав наявність поодиноких робіт щодо його впливу на розвиток стеатозу печінки [Михальчишин Г.П., 2013; Kobyliak N., 2017]. Схожа ситуація із НДЦ: значна кількість літератури про ензимоподібні, регенеративні, антиоксидантні, антирадикальні, пребіотичні та інші властивості НДЦ [Caputo F., 2017; Moridi H., 2018; Louro H., 2019; Kobyliak N., 2019] дозволяють припустити, що може бути ефективним у профілактиці і лікуванні стеатозу печінки.

У зв'язку з вищезазначеним, актуальним є дослідження механізмів розвитку стеатозу печінки у щурів із ожирінням різного генезу та вивчення механізмів лікувально-профілактичного впливу мультипробіотика “Симбітер ацидофільний” концентрований і нанокристалічного діоксиду церію на формування стеатогепатозу.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Тематика досліджень дисертаційної роботи пов'язана з науковими програмами Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького (ЛНМУ) і виконувалась в рамках наукових тем «Дослідження функціонально-метаболических резервів стрес-лімітуючих систем організму за екстремальних умов з метою виявлення ефективних способів їх корекції» № д/р 0111U000121 (2012-2016 рр.) та «Дослідження ролі системних та паракринних регуляторних механізмів у забезпеченні гомеостатування функціонально-метаболических параметрів організму за умов адаптації до дії екстремальних чинників різної природи» № д/р 0116U004510 (2016-2020 рр.). Дисертаційна робота виконана на базі Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького та Навчально-наукового центру «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка, що підтверджено договором про наукове співробітництво та спільними публікаціями. Здобувач брала участь у виконанні цих робіт як виконавець.

Мета дослідження: з'ясувати механізми розвитку стеатогепатозу за умов вісцерального ожиріння, індукованого висококалорійною дієтою і неонатальним введенням глутамату натрію та оцінити лікувально-профілактичний вплив мультипробіотика “Симбітер ацидофільний” концентрований і нанокристалічного діоксиду церію на формування стеатогепатозу.

Для досягнення мети були поставлені наступні завдання:

1. Визначити антропометричні дані тварин, які тривало перебували на ВКД та після неонатального введення глутамату натрію, і вивчити вплив на них мультипробіотика “Симбітер ацидофільний” концентрований або НДЦ.

2. Дослідити морфо-функціональний стан печінки у щурів, які тривало перебували на ВКД та після неонатального введення глутамату натрію, і охарактеризувати вплив на нього мультипробіотика або НДЦ.
3. Визначити загальний вміст ліпідів, холестеролу та його ефірів у внутрішній мітохондріальній мембрані гепатоцитів щурів за умов дієт- і глутамат-індукованого СГ та при застосуванні мультипробіотика або НДЦ.
4. Вивчити фосфоліпідний склад внутрішньої мітохондріальної мембрани гепатоцитів щурів за умов розвитку дієт- і глутамат-індукованого стеатогепатозу та при його корекції.
5. Встановити ферментативну активність мітохондріальних компонентів електронно-транспортного ланцюга (ЕТЛ) гепатоцитів щурів за умов СГ різної етіології та порівняти з даними, отриманими при застосуванні мультипробіотика або НДЦ.
6. Визначити вміст та розподіл білків у печінці щурів за умов дієт- та глутамат-індукованого СГ та при корекції мультипробіотиком або НДЦ.
7. Дослідити особливості метаболізму серотоніну і показники його обміну в тканині мозку, дванадцятипалій кишці та в сироватці крові у щурів із дієт- і глутамат-індукованим СГ, та при застосуванні мультипробіотика або НДЦ.
8. Дослідити цитокіновий профіль та цитоморфологічний стан селезінки у щурів із дієт- і глутамат-індукованим СГ, та при корекції мультипробіотиком або НДЦ.
9. Вивчити жовчосекреторну функцію печінки у щурів із дієт- і глутамат-індукованим СГ та при застосуванні мультипробіотика або НДЦ.
10. Визначити експресію генів *Tgfb1*, *Ptgs2* та *Hgf*, залучених у розвиток фіброзу та запального процесу в гепатоцитах щурів за умов розвитку глутамат-індукованого СГ та за його корекції мультипробіотиком та НДЦ.

Об'єктом дослідження є розкриття механізмів розвитку дієт- та глутамат-індукованого стеатогепатозу за умов вісцерального ожиріння та його корекція мультипробіотиком “Симбітер ацидофільний” концентрований або НДЦ.

Предметом дослідження є комплексне вивчення функціонального стану печінки у щурів, компонентів інсулінової сигнальної системи, ферментативної активності у внутрішній мембрані мітохондрій гепатоцитів, серотонінового обміну, ліпідного складу внутрішньої мітохондріальної мембрани, вмісту гепатоцитарних білків, RT-qPCR-визначення експресії генів за умов СГ різної етіології та його корекції.

Методи дослідження. Фізіологічні, біохімічні, молекулярні, біофізичні, імунохімічні, гістоморфологічні та морфометричні, методи математичної статистики.

Наукова новизна одержаних результатів. Вперше досліджено показники серотонінового обміну у головному мозку, дванадцятипалій кишці та в сироватці крові щурів після неонатального введення глутамату натрію. Встановлено зниження вмісту серотоніну та триптофану в тканині мозку, яке не пов'язано зі зміною активності триптофан-гідроксилази та триптофан-декарбоксилази у щурів із глутамат-індукованим СГ. Активність моноамінооксидази та індоламін 2, 3-диоксигеназна активність в мозку щурів зростала, що вказує про активацію альтернативного кінуренінового шляху метаболізму триптофану в мозку. Вперше встановлено односпрямовані зміни в концентрації серотоніну, триптофану та моноамінооксидазної активності в мозку і сироватці крові у щурів з глутамат-

індукованим СГ. Доведено активацію серотонінового шляху метаболізму серотоніну в дванадцятипалій кишці, що свідчить про зменшення індоламін 2,3-диоксигеназної активності та зменшення триптофан-гідроксилазної активності на тлі незміненої триптофан-декарбоксилазної активності в гомогенаті дванадцятипалої кишки щурів із глутамат-індукованим СГ.

Вперше доведено корегуючий вплив періодичного введення мультипробіотика “Симбітер ацидофільний” концентрований або НДЦ на показники серотонінового обміну у головному мозку, сироватці крові та дванадцятипалій кишці у щурів з глутамат-індукованим СГ.

Вперше показано порушення білок-синтезуючої функції печінки у щурів з дієт-індукованим СГ: зменшення вмісту високомолекулярних білків на фоні підвищення вмісту низькомолекулярних. У щурів з глутамат-індукованим СГ: вміст високомолекулярних білків зростає і знижується вміст низькомолекулярних білків, що свідчить про зменшення швидкості деградації високомолекулярних білків та можливість нормалізації цієї функції під впливом періодичного застосування мультипробіотика “Симбітер ацидофільний” концентрований або НДЦ.

Вперше отримано докази розвитку «мітохондріальної дисфункції» у щурів з вісцеральним ожирінням та проявами СГ, а саме: зміни ліпідного складу внутрішньої мембрани мітохондрій гепатоцитів із підвищенням окислених продуктів та зміни ферментативної активності всіх компонентів дихального ланцюга. У щурів з глутамат-індукованим СГ, яким періодично вводили мультипробіотик або НДЦ, суттєво відновлювались ліпідний склад внутрішньої мембрани мітохондрій гепатоцитів та ферментативна активність всіх компонентів дихального ланцюга.

Вперше встановлено, що у щурів за умов дієт- і глутамат-індукованого СГ зменшується маса селезінки та кількість спленоцитів, що спричинює дисфункцію імунної системи, зокрема дисбаланс вмісту про- та протизапальних цитокінів у сироватці крові. Зміни цитоморфологічного стану селезінки більш значні у щурів з глутамат-індукованим СГ, ніж у тварин з дієт-індукованим СГ. Періодичне введення щурам мультипробіотика або НДЦ з глутамат-індукованим СГ суттєво покращувало досліджувані показники.

Новими є дані щодо посилення суттєвих змін холерезу та жирнокислотного складу жовчі у щурів за умов дієт-індукованого СГ, що свідчить про активацію альтернативного шляху біосинтезу жовчних кислот. У щурів з глутамат-індукованим СГ холерез зменшується і суттєво змінюється спектр холатів в жовчі, що свідчить про зростання активності холестерол-7 α -гідроксилази, за участі якої відбувається синтез холевої кислоти класичним, тобто нейтральним шляхом. Періодичне ж застосування щурам мультипробіотика або НДЦ після неонатального введення глутамату натрію суттєво відновлювало жовчосекреторну функцію печінки та склад холатів.

Вперше підтверджено, що в гепатоцитах щурів із глутамат-індукованим СГ суттєво зростають рівні експресії мРНК генів *Tgfb1*, *Ptgs2* та *Hgf*, що свідчить про розвиток фіброзу та запального процесу в печінці. Під впливом періодичного введення мультипробіотика або НДЦ відбувається відновлення експресії мРНК генів *Tgfb1*, *Ptgs2* та *Hgf* до рівня експресії у гепатоцитах інтактного контролю.

Практичне значення одержаних результатів. На основі отриманих даних можна рекомендувати проведення доклінічних досліджень фармакокінетики та фармакодинаміки НДЦ з метою створення нового препарату для лікування і профілактики СГ, викликаного різними етіологічними чинниками. Результати експериментальних досліджень механізмів коригуючого впливу мультипробіотика «Симбітер ацидофільний» концентрований є підґрунтям для його більш широкого застосування у пацієнтів з НЖХП та в групі ризику його розвитку.

Збільшення жорсткості печінки за даним еластографії хвилі зсуву методом SWEI (Shear Wave Elasticity Imaging) можна рекомендувати використання в якості неінвазивного маркера діагностики неалкогольного СГ. За допомогою даного методу можна відслідковувати динаміку змін в печінці з часом і оцінювати прогноз, особливо на тлі терапії. Дана методика розглядається як неінвазивна альтернатива біопсії печінки.

За результатами дисертаційного дослідження отримано патент на корисну модель «Спосіб профілактики глутамат-індукованого стеатогепатозу за умов експериментального вісцерального ожиріння» UA 145809 U № u 2020 04099 від 06.07.2020. Отримано свідоцтво на раціоналізаторську пропозицію «Нанокристалічний діоксид церію як засіб профілактики стеатогепатозу, індукованого глутаматом натрію» від 17.02.2020 за № 1927. Отримано свідоцтво на раціоналізаторську пропозицію «Експериментальні та доклінічні дослідження використання вітчизняного мультипробіотика «Симбітер ацидофільний» концентрований за умов розвитку вісцерального ожиріння різного генезу» від 17.02.2020 за № 1928.

Результати дисертаційного дослідження впроваджені у навчальний процес і наукову роботу кафедри патологічної фізіології ЛНМУ імені Данила Галицького, а також кафедри фізіології Івано-Франківського національного медичного університету, кафедри фізіології ім. Я.Д. Кіршенבלата Буковинського державного медичного університету, кафедр фізіології з основами біоетики та біобезпеки і медичної біохімії Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського, кафедри біологічної та біоорганічної хімії Української медичної стоматологічної академії та кафедри фундаментальної медицини Київського національного університету імені Тараса Шевченка.

Як засіб профілактики стеатогепатозу мультипробіотик «Симбітер ацидофільний» концентрований впроваджено у лікувальний процес КНП ЛОР Львівської обласної клінічної лікарні, КНП ЛОР Львівської обласної дитячої клінічної лікарні «Охматдит» та КНП ЛОР Львівської обласної інфекційної клінічної лікарні.

Особистий внесок здобувача. Дисертантом особисто обґрунтовано актуальність та необхідність досліджень, визначені мета та завдання досліджень, проведено пошук та аналіз наукової літератури за темою дисертаційної роботи. Автором особисто опрацьовані моделі досліджень, за безпосередньої участі одержано результати експериментальних досліджень, самостійно проведено їх аналіз, статистичну обробку, узагальнення отриманих даних, визначення наукової новизни, обґрунтовано наукові положення, висновки та практичні рекомендації. Дисертант

самостійно підготувала наукові дані до публікації, написала і оформила розділи дисертаційної роботи. Автором не використовувались теоретичні ідеї та практичні розробки співавторів публікацій. Співавтори публікацій надали консультативну підтримку або допомогу у виконанні окремих методичних завдань. Співавтор публікацій академік НАН України Співак М.Я. (Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України) люб'язно надав нанокристалічний діоксид церію для наших експериментальних досліджень. Співавторам публікацій проф. Остапченко Л.І. (директор ННЦ «Інститут біології та медицини» КНУ), проф. Берегова Т.В. (ННЦ «Інститут біології та медицини»), проф. Савчук О.М. (завідувач кафедри біохімії ННЦ «Інститут біології та медицини»), проф. Фалалєєва Т.М. (завідувач кафедри біомедицини ННЦ «Інститут біології та медицини») належить організація експериментальних досліджень на базі ННЦ «Інститут біології та медицини» КНУ імені Тараса Шевченка та консультативна допомога. Фрагмент досліджень з підтвердження розвитку стеатогепатозу методом ультразвукової еластографії хвилі зсуву проведено к.м.н. Динником О.Б. та д.м.н. Кобиляком Н.М. за консультативною допомогою проф. Боднара П.М. (завідувач кафедри ендокринології Національного медичного університету імені О.О. Богомольця у 1994-2016 роках), які визначали діагностичну ефективність інструментальних методів, що використовуються для діагностики НЖХП у хворих на цукровий діабет 2 типу. Фрагмент з вивчення морфологічних зміни в тканині печінки у щурів за умов розвитку СГ проведено сумісно з доцентом Бісяріним Ю.В., КТ «БІОПТАТ» на базі ЛНМУ імені Данила Галицького.

Апробація результатів дисертації. Основні результати дисертаційної роботи доповідалися та обговорювалися на: міжнародному конгресі «Актуальні проблеми сучасної медицини» (12-14 жовтня 2011 року, м. Київ, Україна), науково-практичній конференції «Біохімічні основи патогенезу ураження внутрішніх органів різної етіології та способи їх фармакологічної корекції» (3-4 листопада 2011 року, Тернопіль, Україна); VIII міжнародній науковій конференції студентів та аспірантів «Молодь і поступ біології» (3-6 квітня 2012 року, Львів, Україна); 4-й міжнародній науковій конференції «Advances in pharmacology and pathology of the digestive tract» (26-28 вересня 2012 року, Київ, Україна); XIV Конгресі світової федерації українських лікарських товариств (4-6 жовтня 2012 року, Донецьк, Україна); 6-му Конгресі патофізіологів України (3-5 жовтня 2012 року, Ялта, Крим, Україна); 48-й щорічній конференції Європейської асоціації дослідження печінки «The International Liver Congress» (24-28 квітня 2013 року, Амстердам, Нідерланди); 7-й Львівсько-Люблінській конференції «Experimental and Clinical Biochemistry» (23-24 травня 2013 року, Львів, Україна); IV міждисциплінарній конференції «Биологические активные вещества и материалы: фундаментальные и прикладные вопросы получения и применения» (27 травня – 1 червня 2013 року, Новий Світ, Крим, Україна); науково-практичній конференції з міжнародною участю «Цукровий діабет як інтегральна проблема внутрішньої медицини» (12 вересня 2013 року, Харків, Україна); 21-ому Об'єднаному Європейському гастроентерологічному тижні (12-16 жовтня 2013 року, Берлін, Німеччина); XIX з'їзді Українського фізіологічного товариства імені П.Г. Костюка з міжнародною участю, присвяченого 90-річчю від дня народження

академіка П.Г. Костюка (24-26 травня 2014 року, Львів, Україна); 50-й щорічній конференції Європейської асоціації дослідження печінки «The International Liver Congress» (22-26 квітня 2015 року, Відень, Австрія); XIII міжнародній науковій конференції молодих науковців «Шевченківська весна: біологія» (1-3 квітня 2015 року, Київ, Україна); монотематичній конференції Європейської асоціації дослідження печінки «Microbiota, Metabolism and NAFLD» (26-28 лютого 2015 року, Інсбрук, Австрія); 23-ому Об'єднаному Європейському гастроентерологічному тижні (24-28 жовтня 2015 року, Барселона, Іспанія); VII всеукраїнській науково-практичній конференції «Біологічні дослідження – 2016», (10–11 березня 2016 року, Житомир, Україна); XII міжнародній науковій конференції студентів та аспірантів «Молодь і поступ біології» (19-21 квітня 2016 року, Львів, Україна); Фальк симпозиумі 205 «New Treatment Targets in Gut and Liver Diseases» (21-22 жовтня 2016 року, Люцерна, Швейцарія); 9-ій конференції «Probiotics, Prebiotics and New Foods, Nutraceuticals and Botanicals for Nutrition and Human and Microbiota Health» (10-12 вересня 2017 року, Рим, Італія); Першому міжнародному науково-практичній симпозиумі «Medicine UpDate 2017 Smart Lion» (5-7 жовтня 2017 року, Львів, Україна); Другому міжнародному симпозиумі «Innovation in Medicine Smart Lion 2018» (11-12 жовтня 2018 року, Львів, Україна).

Публікації. За матеріалами дисертаційної роботи опубліковано 53 наукових публікації, у тому числі 27 статей (15 статей у наукових фахових виданнях України, 8 статей в наукових періодичних виданнях інших держав, включених до наукометричних баз даних (серед них 7 статей у журналах, включених до наукометричної бази Scopus), 4 статті в інших наукових виданнях України) та 23 тези доповідей у матеріалах міжнародних та всеукраїнських наукових конференцій, симпозиумів та конгресів, 2 свідоцтва на раціоналізаторську пропозицію, 1 патент на корисну модель.

Обсяг та структура дисертації. Дисертаційна робота викладена на 385 сторінках машинописного тексту, складається зі вступу, 7 розділів, загальних висновків, списку використаних джерел та 3 додатків. Обсяг основного тексту дисертації складає 310 сторінок друкованого тексту. Робота ілюстрована 50 таблицями, 95 рисунками та 3 схемами. Список використаних джерел містить 720 найменувань, з них 640 латиницею.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріали та методи досліджень. Робота виконана на білих нелінійних щурах, які утримувались у віварії згідно зі «Стандартними правилами по упорядкуванню, устаткуванню та утриманню експериментальних біологічних клінік (віваріїв)» з дотриманням загальних принципів біоетики у відповідності до Хельсінської декларації (Всесвітня медична асамблея, 1964) та інших міжнародних документів, а також Закону України № 3447 IV «Про захист тварин від жорстокого поводження» (2002).

Тварини отримували стандартний корм "Purina rodent chow" (жир - 20,6%, білок - 32,4%, вуглеводи - 47%) і воду ad libitum. Дослідження проводились у двох

напрямках. Перший присвячений вивченню механізмів розвитку стеатогепатозу у щурів, що тривало перебували на висококалорійній дієті (ВКД) протягом 18 тижнів (#C11024, Research Diets, New Brunswick, NJ) [West DB. et al., 1992]. Другий напрямок включав дослідження механізмів розвитку стеатогепатозу у щурів протягом 16 тижнів, яким в неонатальному періоді вводили глутамат натрію, та дослідження структурно-функціонального стану печінки у щурів після неонатального введення глутамату натрію на тлі періодичного введення мультипробіотика та НДЦ. Дизайн і експериментальні групи даного напрямку наведені в таблиці 1.

Масу тіла щурів і споживання корму у щурів, які перебували на ВКД, реєстрували один раз на тиждень. У щурів, яким в ранньому неонатальному періоді вводили глутамат натрію, реєстрація вказаних параметрів відбувалася раз на місяць, починаючи з 1 місяця після народження. По закінченню експерименту тварин зважували та умертвляли шляхом цервікальної дислокації.

Таблиця 1

Дизайн і експериментальні групи тварин з глутамат-індукованим ожирінням (n=20)

I	II	III	IV
Контрольна група	Глутамат-індуковане ожиріння	Глутамат-індуковане ожиріння + мультипробіотик	Глутамат-індуковане ожиріння + НДЦ
8 мкл/г води на 2, 4, 6, 8, 10 дні життя	4 мг/г глутамату натрію, розчиненого у воді для ін'єкцій об'ємом 8 мкл/г на 2, 4, 6, 8, 10 дні життя	4 мг/г глутамату натрію, розчиненого у воді для ін'єкцій об'ємом 8 мкл/г на 2, 4, 6, 8, 10 дні життя	4 мг/г глутамату натрію, розчиненого у воді для ін'єкцій об'ємом 8 мкл/г на 2, 4, 6, 8, 10 дні життя
Вода об'ємом 0,25 мл/100 г (2-х тижневе курсове введення упродовж 3-х місяців після 1 місяця життя)	Вода об'ємом 0,25 мл/100 г (2-х тижневе курсове введення упродовж 3-х місяців після 1 місяця життя)	Водний розчин мультипробіотика Симбітер (140 мг/кг) в об'ємі 0,25 мл/100 г (2-х тижневе курсове введення упродовж 3-х місяців після 1 місяця життя)	НДЦ (1 мг/ кг), розчинений у воді об'ємом 0,29 мл/100 г (2-х тижневе курсове введення упродовж 3-х місяців після 1 місяця життя)

Далі відпрепарувували та зважували вісцеральну жирову тканину (епідимальний, периренальний та сальниковий жир). У кожної тварини наявність ожиріння визначали за Індексом L_i , що є відношенням кореня кубічного з маси тіла (г) до назо-анальної довжини щура (см). Щурів, у яких значення індексу L_i було більшим за 0,300, класифікували як щури з ожирінням, а щурів із значенням індексу L_i близьким або меншим 0,300 відносили до нормальних щурів [Bernardis L.L., Patterson B.D., 1968].

Одразу після декапітації кров збирали у центрифужні пробірки без антикоагулянту, залишали на 20-30 хв для повного утворення згустка, після чого зразки крові центрифугували. При визначенні інсуліну у сироватці крові цільну кров

залишали при 37° на 4 год. Центрифугували, осад з форменими елементами та згусток відкидали, сироватку відбирали в мікропробірки.

Виділення загальної фракції гепатоцитів проводили за модифікованою методикою неферментативного отримання гепатоцитів [Петренко А.Ю., 1991; Hwang S.G., 2001].

Препарати субмітохондріальних частинок гепатоцитів отримували згідно загальноприйнятої методики, де було застосовано поетапне центрифугування у тріс-сахарозному буфері [Остапченко Л.І., 2018].

Загальний гомогенат мозку отримано за допомогою скляного гомогенізатора Поттера-Ельвеема. В якості середовища гомогенізації використовували 50 мМ тріс-ацетатний буфер, рН 7,4, що містив 5 мМ ЕДТА та 10% сахарозу у співвідношенні 1:10 (тканина : буфер), центрифугували, відбирали супернатант.

Загальний гомогенат дванадцятипалої кишки отримано за допомогою скляного гомогенізатора в 10 мМ тріс-НСІ-буфері, рН 7,4, що містив 1 мМ ЕДТА та 0,25М сахароза у співвідношенні 1:10 (тканина : буфер), центрифугували, відбирали супернатант [Osterloh K., Forth W., 1981].

Отримання лімфоїдних клітин селезінки здійснювали за рахунок очищення селезінки від прилеглих тканин та гомогенізували в охолодженому розчині Хенкса. Суміш фільтрували через чотири шари стерильної капронової сітки. Суспензію спленоцитів за методом [Boyum A., 1977] нашаровували на градієнт Ficoll-Paque («Sigma-Aldrich», США). Далі центрифугували та ресуспендували в середовищі культивування (DMEM/F12, 10% ембріональної телячої сироватки, 2мМ L-глутаміну, 100 од/мл пеніциліну, 100 мкг/мл стрептоміцину та канаміцину, 10 мкг/мл флуконазолу), підраховували кількість клітин в камері Горяєва. Визначали життєздатність лімфоцитів фарбуванням мертвих клітин.

Концентрацію білка в пробах визначали за допомогою загального прийнятого методу Лоурі [Lowry O.H., 1951].

Оцінка функціонального стану печінки у щурів здійснювалась за визначенням в сироватці крові аланінатамінотрансферазної (АЛТ), аспартатамінотрансферазної (АСТ) та гамаглутамілтранспептидазної (ГГТ) активності, рівня загального, непрямого та прямого білірубіну, тимолової проби. Активності АЛТ, АСТ та ГГТ вимірювали спектрофотометричним методом на біохімічному аналізаторі Microlab 300 з використанням відповідних стандартних наборів виробництва "PLIVA-Lachema Diagnostika" (Чехія). Концентрацію загального і прямого білірубіну у сироватці крові щурів визначали за методом Ендрашика [Cermanová J., 2005; Fossmark R., 2008]. Тимолову пробу у сироватці крові щурів визначали за методом [Кондрахин И.П., 1985; Камышников В.П., 2002].

Визначення концентрації ліпопротеїнів високої щільності (ЛПВЩ), ліпопротеїнів низької щільності (ЛПНЩ) та тригліцеридів у сироватці крові щурів вимірювали спектрофотометрично за допомогою біохімічного аналізатора Microlab 300 з використанням стандартних наборів виробництва "PLIVA-Lachema Diagnostika" (Чехія).

Морфологічні та морфометричні методи дослідження застосовані для визначення ступеня стеатозу печінки. Зрізи товщиною 3-5 мкм фарбували

гематоксилін-еозином, а для виявлення колагену парафінові зрізи забарвлювали за ван Гізоном. Гістологічні препарати вивчались на мікроскопі «Olympus BX-41» з наступною морфометрією за допомогою програми Olympus DP-Soft (version 3:1). Для оцінки морфологічних змін у гепатоцитах використовували гістологічну шкалу NAS у балах 0-8 [Kleiner D.E., 2005].

Для оцінки еластографії хвилі зсуву в діагностиці стеатогепатозу у щурів використали апарат Ultima PA (виробництва фірми «Радмир» ДП АТ НДІРІ, Харків, Україна) контактним датчиком лінійного формату на частотах 7-10 МГц на глибині 10-30 мм *in vivo* або *in vitro* в акустичному фантомі [Боднар П.М., 2011].

Перед проведенням тесту на інсулінотолерантність у крові щурів натщесерце визначали концентрацію глюкози за допомогою глюкометра «ГЛЮКОФОТ-II» («Норма» (Україна)) [Vasudevan A.R., Garber A.J., 2005]. Далі щурам внутрішньовенно вводили інсулін (0,75 од./кг) («Монодар», Україна). Через 15, 30 та 60 хв з хвостової вени щурів відбирали кров та визначали концентрацію глюкози. Будували глікемічні криві, що відображають швидкість зниження вмісту глюкози в крові у відповідь на екзогенний інсулін [Кондро М.М., 2013].

Вміст інсуліну у сироватці крові дослідних тварин визначали за допомогою методу імуноферментного аналізу з використанням поліклональних антитіл проти інсуліну. Резистентність до інсуліну визначали за індексом НОМА: глюкоза натще (ммоль/л) x інсулін натще (мкОд/мл) / 22,5 [Vogesser M., 2007].

Для визначення експресії інсулінового рецептора мембранну фракцію та цитозоль клітин м'язової та жирової тканин щурів отримували із загальних гомогенатів методом диференційного центрифугування [Bruning J.C., 1997]. Вміст інсулінового рецептора визначали методом імуноферментного аналізу з використанням комерційних моноклональних антитіл проти β -субодиниці інсулінового рецептора щурів (Millipore, США).

Для визначення рівня прозапальних інтерлейкінів (IL) 1 β , 12В р40, і інтерферону (INF) γ та протизапальних IL-4, IL-10 і фактор росту пухлин (TGF) β в сироватці крові щурів використаний метод імуноферментного аналізу (ELISA) [Amersham Interleukin].

Вміст серотоніну та триптофану в мозку, дванадцятипалій кишці та сироватці крові щурів визначали спектрофотометрично відповідно за методами [Weissbach H., 1957; Gaitonde M.K., 1974; Максименко Е.Г., 2000]. Триптофан-гідроксилазну активність в мозку та дванадцятипалій кишці щурів визначали за методом Kuhn [Kuhn D.M., 1980]. Індоламін 2,3-диоксигеназну активність в мозку та дванадцятипалій кишці щурів визначали за методом Kudo [Kudo Y., 2000]. Вміст 5-гідрокситриптофану в мозку та дванадцятипалій кишці щурів визначали спектрофотометрично за методом [Калнія І.Э., 1991]. Визначення сироваткової моноаміноксидазної активності проводили за методом Балаклеєвського та ін. [Балаклеєвский А.И., 1976]. Визначення моноаміноксидазної активності у мозку та гомогенаті дванадцятипалої кишки проводили за методом Калнія [Ali B.H., 1980]. Визначення триптофан-декарбоксилазної активності в мозку та гомогенаті дванадцятипалої кишки щурів проводили за методом [Sangwan R., 1998].

Екстракцію ліпідів проводили за методом Фолча з модифікаціями [Folch J., 1957]. Вміст загальних ліпідів визначали за методом [Chromy V., 1975]. Розділення фосфоліпідів проводили двовимірною мікротонкошаровою хроматографією за методом [Brockhuysse R.M., 1968]. Вміст вільного та загального холестеролу визначали за методом [Колб В.Г., 1974].

Вимірювання ферментативної активності у внутрішній мембрані мітохондрій гепатоцитів: НАД-Н-КоQ-оксидоредуктазну активність внутрішньої мембрани мітохондрій визначали за методом [Покровський А.А., 1977]. Сукцинат-КоQ-оксидоредуктазну активність – визначали за методом [Остапченко Л.І., 2017]. КоQ-цитохром с-оксидоредуктазну активність визначали за методом [Engel W.D., 1980]. Цитохромоксидазну активність визначали за методом [Moreau F., 1972]. Н⁺-АТФазну активність визначали за методом [Пикулев А.Т., 1982].

Електрофорез у поліакриламідному гелі за присутності додецилсульфату натрію проводили у апараті для вертикального гель-електорофорезу (Amersham Biosciences). Чистоту білків контролювали за Лемлі [Weber K., 1969].

Дослідження жовчосекреторної функції печінки та спектру холатів жовчних кислот у жовчі щурів проведено під уретановим наркозом (“Sigma Aldrich”, США). У щурів канюлювали загальну жовчну протоку та впродовж 3 годин відбирали півгодинні проби жовчі. Визначали середню об’ємну швидкість секреції жовчі [Картіфузова Ж.В., 2008]. За допомогою тонкошарової хроматографії та денситометра ДО-1М в кожній пробі жовчі визначали концентрацію окремих вільних та кон’югованих жовчних кислот [Весельський С.П., 1999].

Кількісна полімеразна ланцюгова реакція із зворотною транскрипцією (RT-qPCR). РНК отримували за методом Chomczynski [Chomczynski P., 1987]. Синтез кДНК та кількісну полімеразну ланцюгову реакцію в реальному часі (Real-time PCR, кПЛР) здійснювали за допомогою набору «Thermo Scientific Verso SYBR Green 1-Step qRT-PCR ROX Mix» («Thermo Scientific», Литва).

Статистичну обробку результатів дослідження проводили загальноприйнятими методами варіаційної статистики [Гланц С., 1999]. Для визначення виду розподілу даних використовували W критерій Шапіро-Уїлка. Так як розподіл даних був нормальним, вірогідність різниці оцінювали за t-критерієм Стьюдента. Розрахунки та побудову графіків виконували на комп’ютері з використанням прикладних програм: “OriginLab Origin 8.0” та „Microsoft Excel 2007”.

Результати досліджень та їх обговорення

Механізми розвитку стеатогепатозу за умов вісцерального ожиріння, викликаного висококалорійною дієтою.

Через 18 тижнів від початку експерименту маса тіла у щурів контрольної групи зросла на 51,3% ($p < 0,01$) у порівнянні з першим днем експерименту. У щурів, що перебували на ВКД #С11024, маса тіла за аналогічний період зросла на 57,0% ($p < 0,01$) (табл. 2). Між масою тіла у щурів, що отримували стандартний корм, та щурами, які перебували на ВКД, статистично достовірної різниці не було. При цьому збільшення росту у щурів, що перебували на ВКД, відбувалося повільніше. А маса вісцерального жиру у всі терміни спостереження була статистично достовірно більшою у порівнянні

з відповідним контролем. Якщо у щурів через 3 тижні перебування на ВКД маса вісцерального жиру була на 41,6% ($p < 0,05$) більшою у порівнянні з контролем, то через 18 місяців ця різниця склала 180,0% ($p < 0,001$). Отже, у щурів, що перебували на ВКД констатували розвиток вісцерального ожиріння.

Таблиця 2

Антропометричні показники щурів за умов тривалого перебування на висококалорійній дієті ($M \pm m$, $n=20$)

	Маса щурів (г)		Довжина тіла щурів (см)		Маса вісцерального жиру (г)	
	Контроль	ВКД	Контроль	ВКД	Контроль	ВКД
1 день дослідю	210,5±6,1	210,5±6,1	20,3±0,2	20,3±0,2	1,3±0,2	1,3±0,2
Через 3 тижні	228,7±5,4*	227,1±6,2*	20,2±0,3	20,4±0,3	1,2±0,2	1,7±0,3*/#
Через 6 тижнів	253,6±8,9*	256,6±7,8*	21,1±0,4*	21,0±0,4*	1,7±0,3	2,4±0,3*
Через 9 тижнів	278,5±9,6*	273,1±9,7*	22,3±0,4*	22,2±0,3*	2,2±0,3**	2,9±0,3**/#
Через 12 тижнів	288,8±8,3*	285,3±6,5*	22,8±0,4*	22,4±0,3*	2,4±0,4**	4,3±0,3***/##
Через 15 тижнів	301,2±8,6*	293,9±6,4**	23,0±0,3*	22,8±0,5*	2,5±0,2**	5,0±0,5***/###
Через 18 тижнів	318,6±11,4**	330,5±15,4**	23,8±0,8*	23,0±0,8*	4,5±0,8**	12,6±3,3***/###

*- $p < 0,05$, ** - $p < 0,01$, *** - $p < 0,001$ у порівнянні з першим днем дослідю;

- $p < 0,05$, ## - $p < 0,01$, ### - $p < 0,001$ у порівнянні з відповідним контролем.

Встановлені результати узгоджуються з даними літератури, на тлі ВКД #C11024 у щурів відбувається депонування жирів у вісцеральній жировій тканині [Чанадири Т., 2006], а маса тіла зростає незначно [Novelli E.L., 2007; Kakimoto P.A., 2016].

Морфологічні зміни в тканині печінки у щурів за умов розвитку дієт-індукованого ожиріння та їх підтвердження еластографією хвилі зсуву.

Для оцінки морфологічних змін у печінці застосували шкалу NAS. У тварин після 12 тижнів перебування на ВКД за шкалою NAS загальна кількість балів, що описують морфологічні зміни в печінці становила $2,34 \pm 0,8$ (табл. 3). За даною шкалою, сума балів ≤ 3 дає підставу виключити НЖХП та констатувати стеатогепатоз. За нашими даними, ≤ 3 балів виявлено у 93,3% тварин з експериментальним дієт-індукованим ожирінням. У всіх тварин з дієт-індукованим ожирінням спостерігалися ознаки жирової дистрофії за типом великокраплинного стеатозу: важкий стеатогепатоз (накопичення ліпідів у паренхімі $\geq 66\%$) діагностовано у 6,6% особин, а легкий та середній — в 46,7 та 46,7% відповідно. У 55,0% щурів тривале перебування на ВКД спричиняло розвиток м'якого лобулярного запалення (1 бал за шкалою NAS — < 2 вогнищ у полі зору при збільшенні $\times 200$) та

5,0% щурів діагностовано балонну дистрофію. У 5,0% щурів, які тривало перебували на ВКД сума балів за шкалою NAS становила 4.

Таблиця 3

Морфологічні зміни в тканині печінки у щурів за умов їх тривалого перебування на висококалорійній дієті (M±SD, n=20)

Параметри	Контрольна група щурів, які отримували стандартний корм	Дослідна група щурів, які перебували на висококалорійній дієті
Стеатоз, вираженість у балах (0-3)	0,20±0,13	1,65±0,58***
Лобулярне запалення, (0-2)	0,0±0,0	0,62±0,41***
Балонна дистрофія, (0-2)	0,0±0,0	0,07±0,01***
Загальна оцінка за NAS (0-8)	0,20±0,13	2,34±0,80***
Відсоток тварин з НЖХП, %	-	5,0

*** - $p < 0,001$ у порівнянні з контрольною групою щурів.

Підтвердженням зареєстрованих морфологічних змін в печінці у щурів, що перебували на ВКД, була морфометрія гепатоцитів. Нами було показано, що через 3, 6, 9, 12 та 15 тижнів перебування на ВКД площа поперечного перерізу ядер гепатоцитів централобулярної зони зростала на 19,6% ($p < 0,001$), 26,0% ($p < 0,001$), 9,8% ($p < 0,001$), 31,9% ($p < 0,001$) та 41,7% ($p < 0,001$), відповідно, у порівнянні з контролем. Площа поперечного перерізу ядер гепатоцитів перипортальної зони через 3, 6, 9, 12 та 15 тижнів перебування на ВКД зростала на 67,2% ($p < 0,001$), 25,6% ($p < 0,001$), 27,6% ($p < 0,001$), 51,6% ($p < 0,001$) та 34,4% ($p < 0,001$), відповідно. Площа поперечного перерізу цитоплазми гепатоцитів централобулярної зони через 3, 6, 9, 12 та 15 тижнів перебування на ВКД збільшувалась на 63,3% ($p < 0,001$), 33,9% ($p < 0,001$), 41,1% ($p < 0,001$), 27,5% ($p < 0,001$) та 35,3% ($p < 0,001$), відповідно до контролю. Площа поперечного перерізу цитоплазми гепатоцитів перипортальної зони у щурів, що перебували упродовж 3, 6, 9, 12 та 15 тижнів на ВКД, зростала на 27,8% ($p < 0,001$), 13,2% ($p < 0,001$), 6,9% ($p < 0,01$), 13,4% ($p < 0,01$) та 5,9% ($p < 0,05$), відповідно. Отже, ВКД є стимулятором росту гепатоцитів та їхніх ядер. Їх розмір виражено зростає, що є свідченням метаболічних процесів в печінці, які інтенсифікуються на тлі споживання корму з високим вмістом жирів та вуглеводів. Морфологічні зміни в тканині печінки у щурів за умов розвитку дієт-індукованого ожиріння було підтверджено ультразвуковим методом оцінки жорсткості печінки – еластографією хвилі зсуву [Vodnar P., 2013].

Метаболічний профіль у щурів на тлі тривалого перебування на висококалорійній дієті.

Тривале перебування щурів на ВКД призводило до змін у біохімічних показниках крові, які відображають функціональний стан гепатоцитів. У сироватці крові щурів зростала аспартатамінотрансферазна, аланінамінотрансферазна та гамаглумінтрансферазна активність, збільшувався вміст загального білірубину та кон'югованого білірубину, зростав показник тимолової проби, розвивалась

дисліпопротеїнемія з одночасним зростанням атерогенних ліпопротеїнів низької щільності.

Стан про-/антиоксидантної системи в гепатоцитах на тлі тривалого перебування на висококалорійній дієті.

Встановлені результати вказують, що довготривале перебування на ВКД може призводити до ініціації процесів ПОЛ, що супроводжуються зростанням вмісту токсичних метаболітів у гепатоцитах - дієнових кон'югатів та шиффових основ. Безперервне накопичення таких сполук викликає порушення упорядкованої орієнтації макромолекул клітин, дестабілізацію клітинних мембран і тим самим зумовлює структурно-функціональні зміни клітин та навіть їх деструкцію.

Дані активності каталази свідчать про її зниження в гепатоцитах дослідних щурів у 1,5 рази ($p < 0,05$) порівняно з контролем вже на 3-й тиждень ВКД. Протягом усього експерименту показник залишався достовірно зниженим порівняно з активністю даного ферменту у контрольних тварин.

Показано, що на 6-й та 9-й тиждень експерименту активність СОД у 2,4 рази ($p < 0,05$) перевищувала відповідні значення контрольної групи. На 12-й тиждень дослідження показники активності СОД поверталися до контрольного рівня, а на 15-й тиждень – спостерігалася недостовірне зниження даного показника, порівняно з контролем. Зростання ферментативної активності СОД на початкових етапах експерименту обумовлене підвищенням синтезом ферменту у відповідь на стан окисного стресу і направлене на підтримання фізіологічного гомеостазу. Зниження даного показника наприкінці дослідження можна пояснити як модифікацією ферменту активними формами кисню, так і виснаженням запасів СОД, що витрачаються на нейтралізацію вільних радикалів. Зниження каталазної активності у гепатоцитах дослідних щурів є наслідком негативної дії вільнорадикальних субстратів, надмірне утворення яких викликано довготривалим вживанням висококалорійної їжі.

Отримані результати вказують на те, що тривале перебування на ВКД супроводжується посиленням процесів вільнорадикального окиснення і виснаженням антиоксидантної системи у гепатоцитах. Оцінка біохімічних показників, що відображають функціональний стан печінки (АЛТ, АСТ, загальний та кон'югований білірубін) підтвердила розвиток довготривалих та прогресуючих змін функціонування печінки щурів за умов ВКД, що пов'язано з утворенням великої кількості продуктів ПОЛ та активних форм кисню. Окрім того, виявлені зміни ліпідного обміну (розвиток гіперліпідемії, гіпохолестеринемії та атерогенної дисліпопротеїнемії) свідчать про порушення функцій печінки і очевидно пов'язані зі змінами окислативного статусу гепатоцитів.

Розвиток інсулінорезистентності у щурів на тлі тривалого перебування на ВКД.

Показано зростання концентрації глюкози в сироватці крові щурів через 18 тижнів перебування на ВКД на 70% ($p < 0,05$) відносно контрольної групи тварин. Підтвердженням зростання концентрації глюкози в крові щурів виявлене збільшення вмісту глікозильованого гемоглобіну з $0,09 \pm 0,02$ до $0,33 \pm 0,07$ мкмоль фруктози/г гемоглобіну, або на 266,7% ($p < 0,001$) у порівнянні з контролем. Встановлено, що перебування щурів на ВКД супроводжувалося прогресуючим зростанням вмісту

інсуліну в сироватці крові, що свідчить про наслідок активації компенсаторних реакцій β -клітин панкреатичних острівців у відповідь на розвиток гіперглікемії, так і результатом негативного впливу надлишку вільних жирних кислот (ВЖК) на метаболізм інсуліну в печінці та зв'язування гормону з відповідними поверхневими рецепторами.

Для підтвердження розвитку інсулінорезистентності за умов перебування на ВКД проведено інсуліно-толерантний тест, за результатами якого побудовано глікемічні криві. Встановлено що, у групі дослідних тварин на 7 тижень експерименту, незважаючи на підвищення базального рівня глюкози в крові, чутливість до гіпоглікемічних ефектів інсуліну була на рівні контролю. Проте на 14 тижень перебування на ВКД, поряд з гіперглікемією, спостерігали зниження поглинання глюкози периферичними тканинами під дією інсуліну, що свідчить про розвиток резистентності клітин і тканин різних органів до цукрознижувальної дії гормону.

У зв'язку з тим, що ключова роль у реалізації метаболічних ефектів інсуліну належить його рецептору, досліджено вміст інсулінового рецептора (ІР) у складі плазматичних мембран та цитозолі клітин основних інсулінозалежних тканин – м'язовій та жировій. Відомо, що зменшення кількості ІР на поверхні клітин може бути причиною зниження проникності мембран цих тканин для глюкози і порушення механізмів її утилізації та призводити до розвитку інсулінорезистентності.

На 15 тижні перебування на ВКД вміст ІР у мембранах клітин м'язової тканини щурів підвищувався на 20% ($p < 0,05$), порівняно з контролем і залишався на цьому рівні до кінця експерименту. У той же час, у цитозолі клітин м'язової тканини щурів, які перебували на ВКД спостерігалися наступні зміни: на 9 тижні експерименту вміст ІР зменшувався на 30% ($p < 0,05$) порівняно з контролем, тоді як через 15 тижнів експерименту відбувалось поступове збільшення вмісту ІР і повернення досліджуваного показника до контрольного рівня на 18 тижні експерименту.

Незначне підвищення вмісту ІР у мембранах м'язової тканини свідчить про наслідок активації компенсаторних механізмів у відповідь на вживання ВКД. Зміни вмісту ІР в цитозолі клітин протягом експерименту пов'язані з тим, що на більш ранніх строках експерименту підвищується кількість ІР на поверхні клітин за рахунок виснаження їх внутрішньоклітинних резервів, тоді як на більш пізніх термінах вживання ВКД активуються процеси синтезу нових молекул, що може призводити до підвищення вмісту ІР не лише у складі мембран, а й у цитозолі клітин.

При дослідженні вмісту ІР у мембранній фракції жирової тканини відмічена протилежна тенденція. Так, вже на 6 тижні ВКД показано зниження вмісту ІР на 26% ($p < 0,05$), порівняно з контролем. Максимальне зниження показника на 35% ($p < 0,05$), порівняно з контролем, зафіксовано на 9 тижні експерименту. Починаючи з 12 тижня вживання ВКД спостерігалось поступове підвищення вмісту ІР і на 15 тижні експерименту різниця між показниками у контрольних значеннях і досліджуваних тварин складала лише 10% ($p < 0,05$). На 18 тижні вживання ВКД вміст ІР у мембранах клітин жирової тканини залишався достовірно зниженим, порівняно з контролем. Показано відсутність змін вмісту ІР у цитозолі клітин жирової тканини щурів, які перебували на ВКД, протягом перших 12 тижнів експерименту. На 15 тижень

встановлено збільшення вмісту ІР на 25% ($p < 0,05$), порівняно з контролем. Даний показник залишався достовірно підвищеним, порівняно з контролем, і на 18 тижні експерименту.

Встановлено різноспрямовані зміни вмісту ІР у мембранній фракції та цитозолі клітин жирової тканини щурів за умов їх перебування на ВКД. Зниження вмісту ІР у мембранах жирової тканини зумовлено порушеннями цілісності ліпідного бішару адипоцитів, внаслідок активації процесів пероксидації. Підвищення вмісту ІР у цитозолі клітин цієї тканини вказує на активацію процесів синтезу даного білка, але внаслідок ушкодження плазматичної мембрани відбувається порушення процесів внутрішньоклітинної транслокації ІР, за рахунок чого новосинтезовані молекули рецептора не надходять до мембрани і накопичуються у цитозолі.

Система метаболізму серотоніну у щурів із СГ, викликаним ВКД.

Розвиток ожиріння у щурів, які тривало перебували на ВКД, супроводжувався підвищенням вмісту серотоніну в сироватці крові, що скоріш за все пов'язано з виявленим високим вмістом його попередника – триптофану. Результати досліджень пострецепторного шляху сигнальної трансдукції від м'язових 5-НТ_{2А}-рецепторів показали, що стимуляція рецепторів як серотоніном, так і конкретним 5-НТ_{2А}-агоністом викликає швидку активацію транспорту глюкози, шляхом збільшення її переносників у складі плазматичної мембрани [Watanabe H., Rose M.T., Aso H., 2011].

Ферментативна активність компонентів ЕТЛ та ліпідний склад внутрішньої мітохондріальної мембрани за умов моделювання розвитку дієт-індукованого СГ.

Показано, що після перебування на ВКД упродовж 20 тижнів сукцинат-КоQ-оксидоредуктазна активність у внутрішній мембрані мітохондрій зменшувалась на 13,9% ($p < 0,05$) відносно контролю, НАДН-КоQ-оксидоредуктазна активність зростала на 25,0% ($p < 0,05$) відносно контролю, збільшувались КоQ-цитохром с-оксидоредуктазна активність на 22,0% ($p < 0,05$) та цитохромоксидазна активність на 21,0% ($p < 0,05$) відносно контролю. Н⁺-АТФазна активність у внутрішній мембрані мітохондрій гепатоцитів щурів, які перебували на ВКД, зменшувалась на 43,0% ($p < 0,05$) відносно контролю. Оксидативний стрес, що розвивається у мітохондріях гепатоцитів є наслідком накопичення проміжних електрон-транспортуючих сполук, про що свідчить функціональна активність ЕТЛ.

Ліпідний склад внутрішньої мембрани мітохондрій гепатоцитів щурів з дієт-індукованим ожирінням.

Встановлено зростання загального вмісту ліпідів у внутрішній мітохондріальній мембрані гепатоцитів на 9-му, 12-му та 15-му тижнях експерименту на 28,5% ($p < 0,01$), 29,1% ($p < 0,01$) та 72,1% ($p < 0,01$) відповідно, в порівнянні з контролем. Через 9, 12 та 15 тижнів утримання щурів на ВКД загальний вміст фосфоліпідів зростав відповідно на 31,2% ($p < 0,05$), 38,9% ($p < 0,05$) та 43,7% ($p < 0,05$) відносно контролю. Через 3, 6, 9, 12 та 15 тижнів перебування на ВКД вміст холестеролу у внутрішній мембрані мітохондрій гепатоцитів щурів збільшувався, відповідно, на 66,0% ($p < 0,05$), 75,2% ($p < 0,05$), 82,6% ($p < 0,01$), 114,7% ($p < 0,05$) та 138,1% ($p < 0,05$) у порівнянні з контролем. Після 12 та 15 тижнів

вміст ефірів холестеролу зменшувався на 20,1% ($p < 0,05$) та 30,8% ($p < 0,05$) відповідно з контрольною групою щурів.

Виявлено зростання вмісту кардіоліпіну у внутрішній мітохондріальній мембрані гепатоцитів щурів, які перебували на ВКД, через 3, 12 та 15 тижнів на 25,0% ($p < 0,05$), 23,7% ($p < 0,05$) та 41,5% ($p < 0,05$), відповідно. Відносний вміст фосфатидилхоліну у внутрішній мембрані мітохондрій гепатоцитів щурів, які перебували на ВКД, змінювався лише після 3 тижнів перебування на ВКД: зменшувався на 14,2% ($p < 0,05$). Через 3, 9, 12 та 15 тижнів перебування на ВКД відносний вміст лізофосфатидилхоліну зростав на 85,7% ($p < 0,001$), 75,4% ($p < 0,01$), 72,5% ($p < 0,001$) та 66,1% ($p < 0,01$) відповідно. Відносний вміст фосфатидилетаноламіну у внутрішній мембрані мітохондрій гепатоцитів у щурів після 3 тижнів перебування на ВКД зменшувався на 20,4% ($p < 0,05$) відповідно. Встановлено зростання у внутрішній мембрані мітохондрій гепатоцитів вмісту кардіоліпіну, який у мембрані корелює з рівнем мітохондріального витоку протонів і впливає на функціонування всіх компонентів ЕТЛ та зростання окислених форм фосфатидилхоліну і фосфатидилетаноламіну, вміст яких в нормі незначний, вказує про розвиток оксидативного стресу.

Відносний вміст лізофосфатидилетаноламіну у внутрішній мембрані мітохондрій гепатоцитів щурів через 3, 12 та 15 тижнів зростав на 27,3% ($p < 0,05$), 46,4% ($p < 0,01$) та 36,8% ($p < 0,01$), відповідно. Відносний вміст фосфатидилінозиту і фосфатидилсерину у внутрішній мембрані мітохондрій гепатоцитів щурів через 3 тижні перебування на ВКД зростав на 34,7% ($p < 0,05$), через 9 тижнів зменшувався на 26,3% ($p < 0,05$), через 12 тижнів відновлювався до рівня контролю, а через 15 тижнів знову зменшувався на 24,1% ($p < 0,05$), відповідно. Що стосується вмісту сфінгомієліну у внутрішній мембрані мітохондрій гепатоцитів щурів, то їх вміст також залежав від тривалості перебування на ВКД. Через 3 тижні він зростав на 78,8% ($p < 0,01$), а через 9, 12 та 15 тижнів він зменшувався на 36,4% ($p < 0,05$), 37,3% ($p < 0,05$) та 50,0% ($p < 0,001$), відповідно.

СГ у щурів, які перебували на ВКД, супроводжувався «мітохондріальною дисфункцією», проявом якої були зміни ліпідного складу внутрішньої мембрани мітохондрій гепатоцитів із підвищенням окислених продуктів та зміна ферментативної активності всіх компонентів дихального ланцюга.

Відносний вміст гепатоцитарних білків печінки за умов дієт-індукованого стеатогепатозу.

У контрольній групі тварин білки гепатоцитів розділилися на 24 фракції, які відповідно до молекулярної маси (м.м.), об'єднали у три групи: низькомолекулярні з м.м. 12-26 кДа, середньомолекулярні з двома підгрупами м.м. 28-55 і м.м. 66-107 кДа та високомолекулярні – також з двома підгрупами м.м. 108-195 і 213-289 кДа. Встановлено зміни розподілу білків цитозолу за умов розвитку дієт-індукованого СГ. Після 15 і 18 тижнів виявлені нові фракції з м.м. 49 і 78 кДа (середньомолекулярні білки) та з м.м. 249 кДа (високомолекулярні білки). Через 15 тижнів перебування на ВКД вміст низькомолекулярних білків з м.м. 12-26 кДа зростав на 40% ($p < 0,01$), відповідно. Вміст середньомолекулярних білків з м.м. 28-

55 кДа не зазнавав статистично достовірних змін у порівнянні з контролем. Вміст інших середньомолекулярних білків з м.м. 66-107 кДа зменшувався на 64,3% ($p < 0,01$), відповідно. Вміст високомолекулярних білків зменшувався з м.м. 108-195 кДа на 20% ($p < 0,01$), а з м.м. 213-289 кДа – на 78,6% ($p < 0,01$), відповідно. Доведено, що перебування на ВКД, призводить зростання деградації середньо- та високомолекулярних білків, що впливає на зменшення їх вмісту у цитозолі та зростання вмісту низькомолекулярних білків, та про те, що даний феномен є результатом змін у складі ліпідів у внутрішній мембрані мітохондрій гепатоцитів.

Концентрація цитокінів у сироватці крові та цитоморфологічний стан селезінки у щурів за умов тривалого перебування на ВКД.

Виявлено дисфункцію імунної системи, одним із проявів якої є дисбаланс у вмісті про- та протизапальних цитокінів у сироватці крові щурів після 18 тижнів перебування на ВКД: зростання вмісту прозапальних цитокінів IL-1 β – на 51,1% ($p < 0,01$), IL-12 p40 – 59,5% ($p < 0,001$), INF- γ – 40,0% ($p < 0,05$), відповідно. Це зростання супроводжувалось статистично достовірним зменшенням вмісту протизапальних цитокінів IL-4 на – 30,4% ($p < 0,05$), IL-10 – 21,9% ($p < 0,05$), а TGF – 52,6% ($p < 0,01$), відповідно.

Показано, що у щурів після 10 тижнів перебування на ВКД маса селезінки знижувалась на 11,3% ($p < 0,05$), абсолютна кількість спленоцитів зменшувалась на 26,7% ($p < 0,05$) у порівнянні з інтактними щурами контрольної групи аналогічного віку. Органний індекс селезінки в групі щурів, що перебували на ВКД, залишався в межах контрольних величин. Тимус упродовж експерименту зазнав інволюції, пов'язаної з віком щурів.

Жовчосекреторна функція печінки у щурів на тлі дієт-індукованого СГ.

Тривале перебування щурів на ВКД, результатом чого є розвиток СГ, збільшує холерез та суттєво змінює спектр холатів в жовчі щурів. На тлі незміненої концентрації вільної жовчної кислоти – холевої, збільшується концентрація вільних хенодезоксихолевої і дезоксихолевої кислот.

Показано, що через 20 тижнів перебування на ВКД в жовчі щурів збільшується концентрація таурохолевої кислоти, що свідчить про активацію поліферментних систем кон'югації холевої кислоти із таурином, а також результатом посилення їх біосинтезу та транспорту таурохолату через плазматичні мембрани гепатоцитів. При цьому кон'югація холевої кислоти гліцином у гепатоцитах гальмувалась, що проявлялось у зменшенні концентрації глікохолевої кислоти в жовчі дослідних тварин. Однак, коефіцієнт кон'югації жовчних кислот у жовчі щурів після перебування на ВКД не змінюється, а коефіцієнт гідроксилування зменшується, що свідчить про активацію альтернативного шляху біосинтезу жовчних кислот.

Механізми розвитку стеатогепатозу за умов вісцерального ожиріння, викликаного неонатального введення глютаму натрію та його корекція.

У щурів віком 16 тижнів після неонатального введення глютаму натрію розвивалось ожиріння, що підтверджено збільшенням індексу Li ($0,36 \pm 0,03$ проти $0,29 \pm 0,02$ в контролі) ($p < 0,001$). Ожиріння відбувалось, головним чином, за рахунок зростання маси вісцерального жиру у щурів, яка була на 107,2% ($p < 0,001$)

більшою, ніж у щурів контрольної групи (табл. 4). При цьому гіперфагія не розвивалась, так як щоденне споживання корму не змінювалось.

Таблиця 4

Антропометричні показники у щурів віком 16 тижнів після введення глютамату натрію в ранньому неонатальному періоді, ($M \pm m$, $n=15$)

Показники	Контрольна група	Дослідна група щурів
Маса щурів, г	380,3±26,0	344,4±24,2***
Назо-анальна довжина, см	25,3±1,6	19,3±1,4***
Індекс маси тіла, кг/м ²	5,94±0,62	9,24±1,11*
Індекс Лі, г ^{1/3} /см	0,29±0,03	0,36±0,02***
Маса вісцерального жиру, г	8,3±1,0	17,2±1,5***

*** - $p < 0,001$ у порівнянні з контрольною групою щурів.

Періодичне введення мультипробіотика щурам після неонатального введення глютамату натрію запобігало розвитку ожиріння, суттєво зменшувало масу вісцерального жиру та індекс Лі. Аналогічну картину спостерігали у щурів, яким на тлі неонатального введення глютамату натрію періодично вводили НДЦ.

Морфологічні зміни в тканині печінки у щурів за умов розвитку глютаMAT-індукованого ожиріння та їх підтвердження еластографією хвилі зсуву.

У щурів з глютаMAT-індукованим ожирінням діагностували мікроезичулярний стеатоз, який оцінювався в $1,80 \pm 0,17$ бала, що в 9,0 ($p < 0,001$) разів перевершувало дане значення в контролі. Краплинки жиру зміщували ядро до периферії клітин і займали 15-70% площі клітин. Слабкий стеатоз (акумуляція ліпідів 5-33%) був виявлений в 53,3%. Стеатоз помірного ступеня (акумуляція ліпідів 33-66%) виявлений у 46,7% випадків (табл. 5).

Морфологічні зміни в тканині печінки у щурів за умов розвитку
глутамат-індукованого ожиріння (M±SD, n=15)

Параметри	Контрольна група щурів, які отримували стандартний корм	Дослідна група щурів з глутамат-індукованим ожирінням
Стеатоз, вираженість у балах (0-3)	0,20±0,13	1,80±0,17***
Лобулярне запалення, (0-2)	0,0±0,0	1,20±0,17***
Балонна дистрофія (0-2)	0,0±0,0	0,27±0,11***
Загальна оцінка за NAS (0-8)	0,20±0,13	2,33±0,81***
Відсоток тварин з НЖХП, %	-	6,6

*** - $p < 0,001$ у порівнянні з контрольною групою щурів.

Морфологічні зміни в тканині печінки у щурів за умов розвитку глутамат-індукованого ожиріння було підтверджено ультразвуковим методом оцінки жорсткості печінки – еластографією хвилі зсуву. Показано, що жорсткість печінки у щурів з глутамат-індукованим ожирінням зростала на 63,5% ($p < 0,001$) [Bodnar P., Dunnyk O., Myhalchyshyn G., 2013].

Періодичне введення щурам мультипробіотика або НДЦ на тлі неонатального введення глутамату натрію усувало появу балонної дистрофії, суттєво зменшувало лобулярне запалення та вираженість СГ.

Метаболічний профіль у щурів з глутамат-індукованим СГ та його корекція.

У 4-х місячних щурів після неонатального введення глутамату натрію порушувався ліпідний обмін, що проявлялось у збільшенні концентрації тригліцеридів, загального холестеролу, ліпопротеїдів низької та дуже низької щільності та зменшенні концентрації ліпопротеїдів високої щільності. Періодичне введення мультипробіотика або НДЦ щурам після неонатального введення глутамату натрію суттєво нормалізувало показники ліпідного обміну.

Вуглеводний обмін у щурів після неонатального введення глутамату натрію та його корекція.

У 4-х місячних щурів після неонатального введення глутамату натрію порушувався вуглеводний обмін, що показано у зростанні концентрації глюкози $6,17 \pm 0,64$ ммоль/л, що на 34,4% ($p < 0,001$) перевищувало даний показник в контролі. Встановлено, що у щурів із глутамат-індукованим стеатогепатозом розвинулася інсулінорезистентність: індекс НОМА-IR збільшився на 319,7% ($p < 0,001$), а концентрація інсуліну в сироватці крові зросла на 212,1% ($p = 0,001$), відповідно.

Періодичне введення мультипробіотика щурам після неонатального введення глутамату натрію зменшувало індекс НОМА, концентрації глюкози та інсуліну в сироватці крові до рівня інтактного контролю. Періодичне введення НДЦ щурам після неонатального введення глутамату натрію зменшувало індекс НОМА і концентрацію інсуліну в крові та не впливало на концентрацію глюкози.

Система метаболізму серотоніну у щурів з глутамат-індукованим СГ та його корекція.

Оскільки серотонін не проходить через гематоенцефалічний бар'єр [El-Merahbi, 2015], у даній серії досліджень визначали вміст серотоніну то показники його обміну в мозку, дванадцятипалій кишці та в сироватці крові.

В результаті проведених досліджень встановлено, що у 4-х місячних щурів після неонатального введення глютаму натрію в тканині мозку вміст серотоніну зменшувався на 72,9% ($p < 0,001$) у порівнянні з контрольною групою. Вміст триптофану в тканині мозку у щурів з глютама-індукованим ожирінням був на 93,3% ($p < 0,001$) меншим у порівнянні з контролем. Зменшення вмісту триптофану - субстрату для синтезу серотоніну є поясненням низького вмісту серотоніну в мозку у щурів із глютама-індукованим СГ (табл. 6).

Таблиця 6

Серотонінова система в мозку щурів із глютама-індукованим ожирінням на тлі періодичного введення мультипробіотика або НДЦ, $M \pm SD$

Показник	Контроль	Глютама-індуковане ожиріння	Глютама-індуковане ожиріння + мультипробіотик	Глютама-індуковане ожиріння + НДЦ
Серотонін, мкг/г тканини	$27,26 \pm 2,76$	$7,40 \pm 1,63^{***}$	$21,12 \pm 2,08^{*}/###$	$20,10 \pm 3,21^{*}/###$
Триптофан, мкг/г тканини	$99,2 \pm 8,53$	$6,66 \pm 1,08^{***}$	$17,08 \pm 1,88^{***}/###$	$11,50 \pm 2,14^{***}/###$
МАО, у.од./мг білка	$0,84 \pm 0,08$	$1,19 \pm 0,07^{*}$	$1,03 \pm 0,06^{*}/\#$	$1,35 \pm 0,08^{*}/\#$
Триптофан-гідроксилазна активність, у.о./мг білка	$281,00 \pm 27,00$	$245,00 \pm 18,00$	$278,68 \pm 21,55$	$286,00 \pm 17,00$
Триптофан-декарбоксилазна активність, у.о./мг білка	$1,32 \pm 0,43$	$2,19 \pm 0,67^{*}$	$2,08 \pm 0,34^{*}$	$1,86 \pm 0,37^{*}/\#$
Індоламін 2, 3-дигідрогеназна активність, мкМ/мг білка	$1097,00 \pm 285,00$	$2438 \pm 290^{***}$	$1440,00 \pm 198,00^{##}$	$2007,00 \pm 175,00^{***}/\#$

*- $p < 0,005$; *** - $p < 0,001$ у порівнянні з контролем;

- $p < 0,05$, ## - $p < 0,01$, ### - $p < 0,001$ у порівнянні з щурами із глютама-індукованим ожирінням.

Ключовим ферментом біосинтезу серотоніну є триптофан-гідроксилаза, яка каталізує гідроксилювання триптофану в 5-гідрокситриптофан. Це перша стадія біосинтезу серотоніну, що реалізується в якості обмежуючої стадії [Swami T.,

Weber H.C., 2018]. Триптофан-гідроксилазна активність в мозку щурів з глутамат-індукованим СГ не зазнавала змін. Це є свідченням того, що зменшення вмісту серотоніну в мозку щурів з глутамат-індукованим СГ не пов'язано зі зміною активності триптофан-гідроксилази.

Друга стадія біосинтезу серотонін здійснюється за участі ферменту триптофан-декарбоксилази. Триптофан-декарбоксилазна активність в мозку щурів з глутамат-індукованим СГ збільшувалась на 65,9% ($p < 0,05$) у порівнянні з контролем. На тлі суттєвого падіння вмісту триптофану в мозку збільшення триптофан-декарбоксилазної активності в мозку щурів не впливало на кінцевий результат – вміст серотоніну в мозку. Вважаємо, що збільшення триптофан-декарбоксилазної активності в мозку щурів з глутамат-індукованим СГ є ланкою гомеостазу в організмі. Зменшення вмісту серотоніну нижче контрольних значень стимулює реакції, які протидіють подальшому падінню вмісту серотоніну.

Біологічні аміни розщеплюються за дії ензиму моноаміноксидази (МАО). Активність МАО в мозку щурів з глутамат-індукованим СГ зростала на 41,7% ($p < 0,05$) у порівнянні з контролем. Таким чином, однією із причин зниженого вмісту серотоніну в мозку може бути підвищення активності МАО в тканині мозку за умов розвитку глутамат-індукованого СГ.

Показано зростання індоламін 2,3-діоксигеназної активність у головному мозку щурів з глутамат-індукованим ожирінням на 122,2% ($p < 0,001$) порівняно з контролем. Отже, у щурів за розвитку глутамат-індукованого СГ спостерігається активація альтернативного кінуренінового шляху метаболізму триптофану в мозку, що також може бути однією із причин зниженого вмісту серотоніну в мозку щурів даної групи. Можливо, активація кінуренінового шляху метаболізму триптофану в мозку є характерною для цілої низки патологічних процесів, за яких зменшується вміст серотоніну в мозку.

За дії періодичного введення мультипробіотика або НДЦ щурам після неонатального введення глутамату натрію спостерігалась нормалізація досліджуваних показників, хоча рівня контролю не досягнуто.

В результаті проведених досліджень встановлено, що концентрація серотоніну в сироватці крові щурів із глутамат-індукованим ожирінням зменшувалась на 58,3% ($p < 0,001$) у порівнянні з контролем. В даній групі щурів концентрація триптофану в сироватці зменшувалась на 33,2% ($p < 0,01$). При цьому активність МАО, за участю якого відбувається деградація серотоніну, у щурів із глутамат-індукованим ожирінням зростала на 50,0% ($p < 0,01$) у порівнянні з контролем (табл. 7). Отже, зменшення концентрації серотоніну в сироватці крові щурів з глутамат-індукованим СГ свідчить про зменшення концентрації субстрату для синтезу серотоніну – триптофану та збільшенням МАО активності, що веде до більш швидкої деградації серотоніну. Зміни в концентраціях серотоніну, триптофану і МАО активності в мозку і сироватці крові у щурів з глутамат-індукованим СГ односпрямовані.

Таблиця 7

Серотонінова система в сироватці крові у щурів із глутамат-індукованим ожирінням на тлі періодичного введення мультипробіотика або НДЦ, $M \pm SD$

Показник	Контроль	Глутамат-індуковане ожиріння	Глутамат-індуковане ожиріння + мультипробіотик	Глутамат-індуковане ожиріння + НДЦ
Серотонін, мкг/мл	9,53 ±0,72	3,88 ±0,34***	7,84±0,86*/###	6,33±0,51*/##
Триптофан, мкг/мл	57,38 ±5,73	38,33 ±6,72**	54,76±6,12#	66,65 ±9,62*/##
МАО. у.од./мг білка	2,60 ±0,06	3,90 ±0,04**	3,27±0,09*/#	3,10 ±0,08*/#

* - $p < 0,05$, ** - $p < 0,01$, *** - $p < 0,001$ у порівнянні з контролем;

- $p < 0,05$, ### - $p < 0,001$ у порівнянні з щурами після неонатального введення глютаму натрію.

Оскільки основним джерелом периферичного серотоніну є ЕС-клітини слизової оболонки травного тракту, важливо було визначити показники серотонінової системи в гомогенаті дванадцятипалої кишки щурів, адже саме для цього відділу кишечника притаманна найбільша густина ЕС-клітин. Показано, що, на відміну від мозку та сироватки крові, у щурів із глютаміт-індукованим СГ, вміст серотоніну в гомогенаті дванадцятипалої кишки зростає на 122,6% ($p < 0,001$), порівняно з контролем. При цьому вміст триптофану в гомогенаті дванадцятипалої кишки зменшувався на 54,9% ($p < 0,01$) порівняно з контролем, що вказує на результат виснаження його запасів за рахунок посиленого синтезу серотоніну та зниження активності МАО, що врешті і було причиною зменшеної деградації серотоніну. Триптофан-гідроксилазна активність в гомогенаті дванадцятипалої кишки щурів із глютаміт-індукованим ожирінням зменшувалась на 47,2% ($p < 0,05$) порівняно з контролем. Це відбувалось на тлі незміненої триптофан-декарбоксілазної активності в гомогенаті дванадцятипалої кишки щурів із глютаміт-індукованим СГ (табл. 8). Отже, перша та друга стадії біосинтезу серотоніну не були причиною зростання вмісту серотоніну в дванадцятипалої кишки щурів із глютаміт-індукованим СГ.

Відмінністю у функціонуванні системи серотоніну в мозку та дванадцятипалої кишки у щурів з глютаміт-індукованим СГ були також шляхи метаболізму триптофану. Якщо індоламін 2, 3-діоксигеназна активність в мозку щурів з глютаміт-індукованим СГ зростала, то індоламін 2,3-діоксигеназна активність в гомогенаті дванадцятипалої кишки зменшувалась. Це свідчить про переважання серотонінового шляху метаболізму серотоніну в дванадцятипалій кишці.

Серотонінова система в гомогенаті дванадцятипалої кишки щурів із глутамат-індукованим ожирінням на тлі періодичного введення мультипробіотика або НДЦ, $M \pm SD$

Показник	Контроль	Глутамат-індуковане ожиріння	Глутамат-індуковане ожиріння + мультипробіотик	Глутамат-індуковане ожиріння + НДЦ
Серотонін, мкг/г тканини	6,56 ± 0,98	14,60 ± 1,64***	10,18 ± 0,76*/#	11,70 ± 0,82**/#
Триптофан, мкг/г тканини	169,20 ± 12,60	76,3 ± 9,74**	108,56 ± 8,59*/#	89,40 ± 8,99***
МАО у.од./мг білка	3,33 ± 0,04	1,55 ± 0,07**	2,46 ± 0,08*/#	1,72 ± 0,03**/#
Триптофан-гідроксилазна активність, у.о./мг білка	398,00 ± 78,00	210,00 ± 69,00*	310,00 ± 36,00*/#	253,00 ± 58,00
Триптофан-декарбоксилазна активність, у.о./мг білка	0,81 ± 0,25	0,65 ± 0,23	0,76 ± 0,12	0,78 ± 0,19
Індоламін 2, 3-дигідрогеназна активність, мкМ/мг білка	2348,00 ± 301,00	1378,00 ± 305,00*	2182,00 ± 246,00##	1768 ± 274

* - $p < 0,05$, ** - $p < 0,01$, *** - $p < 0,001$ у порівнянні з інтактним контролем;

- $p < 0,05$, ## - $p < 0,01$ у порівнянні з групою щурів після неонатального введення глутамату натрію.

Серотоніновий обмін у сироватці крові та дванадцятипалій кишці у щурів з глутамат-індукованим СГ на тлі періодичного введення мультипробіотика наближався до рівня інтактного контролю, а на тлі періодичного введення НДЦ у щурів показники серотонінового обміну суттєво покращувались.

Ферментативна активність компонентів електрон-транспортного ланцюга внутрішньої мембрани гепатоцитів щурів за умов глутамат-індукованого СГ та його корекція.

Визначення ферментативної активності комплексів електрон-транспортного ланцюга внутрішньої мембрани гепатоцитів щурів за умов глутамат-індукованого стеатогепатозу показало значні зміни функціональної активності всіх компонентів електрон-транспортного ланцюга: у 4-х місячних щурів НАДН-КоQ-оксидоредуктазна активність у мітохондріях гепатоцитів зменшувалась на 56,0% ($p < 0,01$) у порівнянні з контрольною групою щурів. Сукцинат-КоQ-оксидоредуктазна активність у мітохондріях гепатоцитів щурів зменшувалась на 17,4% ($p < 0,05$) у

порівнянні з контролем. КоQ-цитохром с-оксидоредуктазна активність у мітохондріях гепатоцитів щурів зменшувалась на 56,0% ($p < 0,01$) у порівнянні з контрольними тваринами такого ж віку. Цитохромоксидазна активність у мітохондріях гепатоцитів щурів зменшувалась на 70,0% ($p < 0,001$) у порівнянні з контрольною групою. H^+ - АТФазна активність у мітохондріях гепатоцитів щурів зменшувалась на 69,3% ($p < 0,001$) у порівнянні з контрольною групою. Отже, функціональна активність внутрішньої мембрани мітохондрій гепатоцитів зазнає суттєвого зниження.

У щурів, з глутамат-індукованим СГ та його корекцією, досліджувані показники, за виключенням сукцинат КоQ-оксидоредуктазної активності, суттєво зростали, хоча і рівня контролю не досягали.

Ліпідний склад внутрішньої мітохондріальної мембрани гепатоцитів за умов глутамат-індукованого СГ та його корекція.

У внутрішній мембрані мітохондрій гепатоцитів загальний вміст ліпідів збільшувався на 53,4% ($p < 0,01$) за рахунок зростання вмісту загальних фосфоліпідів на 52,3% ($p < 0,01$) та вмісту холестеролу на 261,5% ($p < 0,001$) у порівнянні з контролем. При цьому вміст ефірів холестеролу у внутрішній мембрані мітохондрій зменшувався на 18,9% ($p < 0,05$) у порівнянні з контролем.

У щурів, з глутамат-індукованим СГ при періодичному введенні мультипробіотика або НДЦ, ліпідний склад внутрішньої мітохондріальної мембрани гепатоцитів наближався до рівня контролю, а вміст ефірів холестеролу за дії НДЦ навіть перевищував дані контролю.

Встановлено, що у щурів з глутамат-індукованим СГ відсотковий вмісту кардіоліпіну був на 51,3% ($p < 0,01$) більшим у порівнянні з інтактним контролем, що спричинено появою окислених форм кардіоліпіну, які функціонально неактивні через змінену просторову організацію. Відсотковий вміст фосфатидилхоліну у внутрішній мітохондріальній мембрані гепатоцитів щурів з глутамат-індукованим СГ зменшувався на 41,5% ($p < 0,01$) у порівнянні з контролем. Показано значне підвищення відсоткового вмісту лізофосфатидилхоліну на 845,5% ($p < 0,001$), який у здорових щурів у мітохондріальній мембрані гепатоцитів міститься в дуже низьких кількостях. Відсотковий вміст фосфатидилетаноламіну зменшувався у порівнянні з контролем на 27,5% ($p < 0,05$) при одночасному зростанні відсоткового вмісту лізофосфатидилетаноламіну на 400,0% ($p < 0,001$), відповідно.

Значне підвищення вмісту окислених форм фосфатидилхоліну і фосфатидилетаноламіну у внутрішній мембрані мітохондрій, яких в нормі спостерігається невелика кількість, на тлі зростання вмісту кардіоліпіну у внутрішній мембрані мітохондрій підтверджує розвиток оксидативного стресу.

У щурів, з глутамат-індукованим СГ при періодичному введенні мультипробіотика або НДЦ, вміст основних фосфоліпідів у внутрішній мембрані мітохондрій гепатоцитів наближався до рівня контролю. Дія мультипробіотика була більш вираженою, ніж дія НДЦ.

Що стосується вмісту мінорних компонентів внутрішньої мембрани мітохондрій гепатоцитів у щурів з глутамат-індукованим СГ, то відсотковий вміст суміші

фосфатидилінозиту і фосфатидилсерину не зазнавав статистично достовірних змін. При цьому вміст сфінгомієліну зростав на 81,3% ($p < 0,01$) відносно контролю.

На тлі періодичного введення НДЦ або мультипробіотика відносний вміст фосфатидилінозиту і фосфатидилсерину зростав, а сфінгомієліну зменшувався.

Білковий профіль в цитоплазмі гепатоцитів щурів за умов розвитку глутамат-індукованого СГ та його корекція.

У щурів контрольної групи білки гомогенату гепатоцитів за молекулярною масою розділились на 13 фракцій, що узгоджується з літературними даними [Fountoulakis M., 2002]. За загальноприйнятим поділом білків на групи за молекулярною масою, поділили фракції відповідно до молекулярної маси (м.м.) на високомолекулярні (100-235 кДа), середньомолекулярні (65-96 і 30-59 кДа) та низькомолекулярні (5-29 кДа) для всіх груп.

У групі щурів, яким в неонатальному періоді вводили глутамат натрію, кількість фракцій, на які розділилися гепатоцитарні білки зростає до 17. При цьому відносний вміст високомолекулярних білків м.м. 100-235 кДа і білків із середньомолекулярною масою 65-96 кДа зменшувався, а відносний вміст низькомолекулярних білків, а саме з м.м. 5-29 кДа та білків з м.м. 30-59 кДа зростали у порівнянні з контролем. Спостерігалась поява білків з м.м. 113, 118, 135, 141, 147 і 175 кДа, яких не було в контролі. Дані про те, що у щурів вміст високомолекулярних білків в гепатоцитах знижується, дають можливість заключити як про пригнічення білок-синтезуючої функції печінки, так і про зростання швидкості деградації високомолекулярних білків. На користь такого висновку свідчать наші результати про зростання вмісту в гепатоцитах низькомолекулярних білків м.м. 5-29 кДа та середньомолекулярних білків м.м. 30-59 кДа.

У 4-х місячних щурів з глутамат-індукованим СГ, яким періодично вводили мультипробіотик або НДЦ, вміст високомолекулярних білків зростав і знижувався вміст низькомолекулярних білків, що свідчить про зменшення швидкості деградації високомолекулярних білків і покращення білок-синтезуючої функції печінки.

Концентрація цитокінів у сироватці крові та цитоморфологічний стан селезінки у щурів із глутамат-індукованим СГ та корекція.

Встановлено, що у щурів з глутамат-індукованим СГ в сироватці крові зростав вміст прозапальних цитокінів: вміст ІЛ-1 β зростав на 23,7% ($p < 0,05$), а вміст ІЛ-12 p40 – на 61,2% ($p < 0,05$) у порівнянні з контрольними щурами. Вміст прозапального цитокіну ІNF- γ в сироватці крові не зазнавав статистично достовірних змін. Також показано зменшення вмісту протизапальних цитокінів у сироватці крові щурів з глутамат-індукованим СГ: вміст ІЛ-4 зменшувався на 30,6% ($p < 0,05$), а вміст TGF- β – на 14,9% ($p > 0,05$) у порівнянні з контролем. Вміст ІЛ-10 у сироватці крові щурів зростав на 26,7% ($p < 0,05$), що дозволяє стверджувати про компенсаторний ефект протизапальної системи.

У 4-х місячних з глутамат-індукованим СГ на тлі періодичного введення мультипробіотика у сироватці крові вміст ІЛ-1 β зменшувався на 13,0% ($p < 0,05$), вміст ІЛ-12 p40 зменшувався на 39,4% ($p < 0,05$), вміст ІЛ-10 також зменшувався на 12,8% ($p < 0,05$) по відношенню до щурів із глутамат-індукованим СГ без корекції. Вміст ІNF- γ в сироватці крові щурів не зазнавав змін, як і після неонатального введення

глутамату натрію без корекції. Вміст IL-4 у сироватці крові зростав на 46,7% ($p < 0,05$), вміст TGF- β також зростав у порівнянні з щурами після неонатального введення глутамату натрію без корекції та статистично достовірно не відрізнявся від контролю. Наведені результати є свідченням протизапальної дії мультипробіотика за умов його тривалого курсового введення.

У щурів з глутамат-індукованим СГ, яким періодично вводили НДЦ, рівень IL-12B p40 зменшувався на 23,5% ($p < 0,05$) у порівнянні з групою щурів після неонатального глутамату натрію. Проте, вміст IL-1 β у сироватці крові статистично достовірно не відрізнявся від його рівня в групі контрольних щурів, що підтверджує часткове зменшення запального процесу. Отже, НДЦ здійснює протизапальну дію, що проявилось у тому, що вміст протизапальних цитокінів IL-4 та TGF- β досягнув контрольних значень. Нами вперше показано, що НДЦ зменшує вміст прозапальних цитокінів (IL-1 β та IL-12B p40) в сироватці крові і відновлював до контрольних значень рівень протизапальних цитокінів IL-4, IL-10 і TGF- β у тварин з глутамат-індукованим СГ.

У 4-х місячних щурів після неонатального введення глутамату натрію маса селезінки знижувалась на 21,0% ($p < 0,05$), кількість спленоцитів зменшувалась на 30,7% ($p < 0,05$) у порівнянні з інтактними щурами контрольної групи аналогічного віку. Органний індекс селезінки у 4-х місячних щурів після неонатального введення глутамату натрію був на 12,8% ($p < 0,05$), меншим у порівнянні з контролем.

Зміни у цитоморфологічному стані селезінки спричиняли дисфункцію імунної системи, одним із проявів якої був дисбаланс у вмісті про- та протизапальних цитокінів у сироватці крові щурів та були більш вираженими у щурів після неонатального введення глутамату натрію у порівнянні з щурами, що тривало перебували на ВКД.

Цитоморфологічний стан селезінки у щурів після неонатального введення глутамату натрію на тлі періодичного введення мультипробіотика був таким же, як у щурів контрольної групи. А у 4-х місячних щурів з глутамат-індукованим СГ на тлі періодичного введення НДЦ маса селезінки і кількість спленоцитів суттєво зростали, хоча рівня інтактного контролю вони не досягали. Одержані дані свідчать про стимулюючий вплив мультипробіотика та НДЦ на стан імунної системи у щурів, що, безумовно, проявляється у позитивній його дії на морфо-функціональний стан печінки.

Жовчосекреторна функція печінки у щурів з глутамат-індукованим СГ та його корекція.

У 4-х місячних щурів, яким в неонатальному періоді вводили глутамат натрію, об'ємна швидкість секреції жовчі зменшувалась та суттєво змінювався спектр холатів в жовчі. Показано збільшення концентрації вільних жовчних кислот і зменшення концентрації кон'югованих жирних кислот в жовчі, що підтверджено у суттєвому зменшенні коефіцієнта кон'югації жовчних кислот у всіх пробах експерименту. Коефіцієнт гідроксилювання знижувався в перші чотири проби, а потім повертався до контрольних значень. Зростання концентрації вільної жовчної кислоти, холевої кислоти, приводить до токсичних впливів як на печінку, так і організм в цілому. Також одержані результати свідчать про зростання активності холестерол-7 α -

гідроксилази, за участі якої відбувається синтез холевої кислоти класичним, тобто нейтральним шляхом.

У 4-х місячних щурів з глутамат-індукованим СГ, яким періодично вводили мультипробіотик, об'ємна швидкість секреції жовчі, концентрація триглікоксихоланових жовчних кислот, концентрація диглікоксихоланових жовчних кислот, коефіцієнт кон'югації та гідроксилювання жовчних кислот відновлювались до рівня контролю. У 4-х місячних щурів з глутамат-індукованим СГ на тлі періодичного введення НДЦ збільшувався холерез, покращувався спектр холатів у жовчі та зростав коефіцієнт кон'югації жовчних кислот у порівнянні з щурами після неонатального введення глутамату натрію. Коефіцієнт гідроксилювання досягав рівня контролю у четвертій пробі.

Експресія генів *Tgfb1*, *Ptgs2* та *Hgf* в гепатоцитах щурів за умов розвитку глутамат-індукованого СГ та його корекція.

Одним з ключових прозапальних цитокінів в патогенезі даної патології є трансформуючий фактор росту бета (TGF β), оскільки сприяє накопиченню ліпідів шляхом дисрегуляції метаболізму ліпідів і посилення апоптозу ліпіднакопичувальних гепатоцитів, що призводить до прогресування НЖХП. TGF- β 1 кодується геном *Tgfb1* та впливає на різні типи клітин і бере участь у ремоделюванні екстрацелюлярного матриксу [Yang L., 2014]. У процесі розвитку неалкогольного стеатогепатиту активізуються резидентні імунні клітини печінки, що продукують і вивільняють цитокіни, а також малі молекули медіаторів запалення, серед яких простагландин E2 (PGE₂) [Henkel J., 2018]. Залучення PGE₂ та надекспресія мРНК гену *Ptgs2*, що кодує PGE₂, при запальних процесах в печінці не викликає сумніву [Cha S.H., 2018; Tang F., 2018]. До факторів протидії запальним процесам в печінці, апоптозу та фіброзу належить фактор росту гепатоцитів - HGF, що кодується геном *Hgf* [Morishita R., 2004; Nakamura T., 2011].

Показано, що рівень експресії мРНК гену *Tgfb1* у тварин з глутамат-індукованим СГ зростав у 1,7 раза ($p < 0,001$) в порівнянні з контролем. Рівень експресії мРНК гену *Ptgs2* у тварин із стеатогепатозом був вищим у 8,2 разів ($p < 0,001$) у порівнянні з контрольними щурами. Одержані дані підтверджують, що реактивні форми кисню, які продукуються за умов запалення, є потужними стимуляторами експресії мРНК гена *Ptgs2* [Cha S.H., 2018; Tang F., 2018]. Рівень експресії гена *Hgf* в групі тварин з СГ був вищим в 4,2 раза ($p \leq 0,001$) в порівнянні з контрольними щурами. Так як рівень експресії гену *Hgf* в печінці зростає у відповідь на порушення регенерації та ангиогенезу і за розвитку фіброзу на будь-якій його стадії [Morishita R., 2004; Nakamura T., 2011], доведено, що збільшення експресії гену *Hgf* в печінці є показником патологічних змін в гепатоцитах.

Періодичне введення мультипробіотика у щурів з глутамат-індукованим СГ відновлювало рівень експресії мРНК генів *Ptgs2*, *Tgfb1* і *Hgf* у гепатоцитах до рівня контролю. Періодичне введення НДЦ у щурів з глутамат-індукованим СГ частково знижувало рівень експресії мРНК генів *Tgfb1*, *Ptgs2* та *Hgf*, хоча даний показник залишався дещо більшими за їх рівень у контрольних щурах. Одержані дані свідчать про зменшення рівня фіброзу та запальних процесів за дії мультипробіотика та НДЦ.

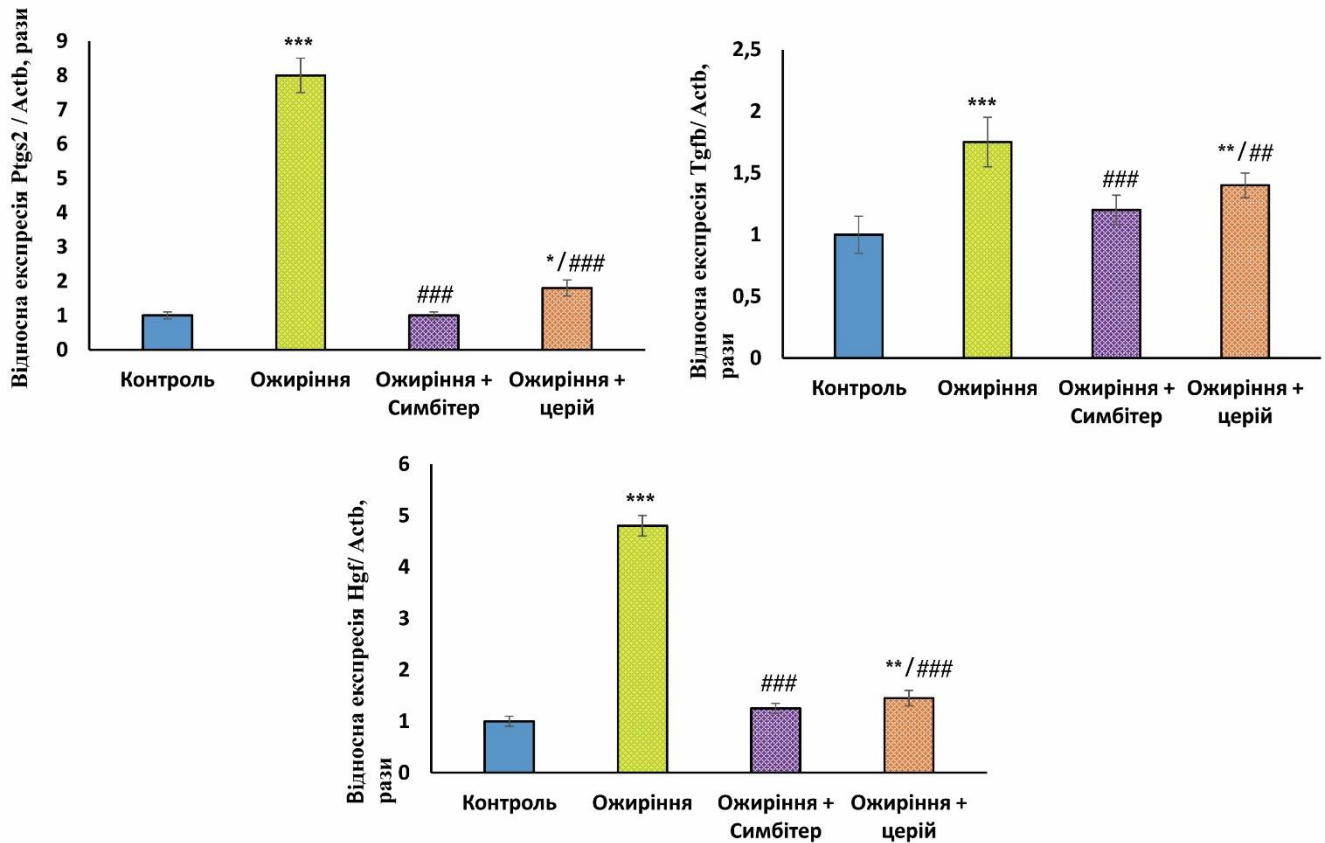


Рисунок 1. Вплив мультипробіотика та нанокристалічного діоксиду церію на рівень експресії мРНК генів *Ptg2*, *Tgfb1*, *Hgf* у печінці щурів з глутамат-індукованим стеатогепатозом.

* - $p < 0,05$, ** – $p \leq 0,01$, *** – $p < 0,001$ у порівнянні з групою контролю;

- $p \leq 0,01$, ### – $p < 0,001$ відносно тварин із стеатогепатозом.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі вирішена актуальна наукова проблема у галузі фізіології травлення, що стосується обґрунтування механізмів розвитку стеатогепатозу за умов дієт- та глутамат-індукованого ожиріння та корекції мультипробіотиком «Симбітер ацидофільний» концентрований або нанокристалічним діоксидом церію.

1. У щурів, які упродовж 20 тижнів перебували на висококалорійній дієті з високим вмістом жирів, вуглеводів та зменшеним вмістом білків, та у 4-х місячних щурів, яким в неонатальному періоді вводили глутамат натрію, реєструвалось вісцеральне ожиріння без прояву гіперфагії, що характеризувалось дисліпідемією, порушенням чутливості периферичних тканин до інсуліну та розвитком стеатогепатозу, підтвердженого ультразвуковим методом оцінки жорсткості печінки – еластографією хвилі зсуву. Періодичне введення щурам з глутамат-індукованим стеатогепатозом мультипробіотика «Симбітер ацидофільний» концентрований або нанокристалічного діоксиду церію суттєво відновлювало морфо-функціональний стан печінки та запобігало розвитку стеатогепатозу.

2. Вміст серотоніну та показники його обміну в мозку у 4-х місячних щурів, яким у неонатальному періоді вводили глютамат натрію, змінювались наступним чином:
 - у мозку щурів вміст серотоніну зменшувався на 72,9% внаслідок зменшення на 93,3% рівня субстрату для синтезу серотоніну триптофану порівняно з контролем;
 - зменшення вмісту серотоніну в мозку дослідних тварин не пов'язано зі зміною активності триптофан-гідроксилази та триптофан-декарбоксілази. Зменшення вмісту серотоніну в мозку нижче контрольних значень стимулює реакції, які протидіють подальшому падінню вмісту серотоніну;
 - на тлі суттєвого падіння вмісту триптофану в мозку підвищення триптофан-декарбоксілазної активності на 65,9% не впливало на вміст серотоніну;
 - однією із причин зниженого вмісту серотоніну в мозку є підвищення активності моноамінооксидази на 41,7% у тканині;
 - в мозку щурів з глютамат-індукованим стеатогепатозом зростала індоламін 2, 3-диоксигеназна активність на 122,2%, що свідчить про активацію альтернативного кінуренінового шляху метаболізму триптофану в мозку, яка може розглядатись як одна із причин зниженого вмісту серотоніну в мозку щурів даної групи;
3. Встановлено односпрямованість змін концентрації серотоніну та триптофану, а також моноамінооксидазної активності в мозку і сироватці крові у щурів з глютамат-індукованим СГ. Доведено активацію серотонінового шляху метаболізму серотоніну в дванадцятипалій кишці, що свідчить про зменшення індоламін 2,3-диоксигеназної активності та зменшення триптофан-гідроксилазної активності на тлі незміненої триптофан-декарбоксілазної активності в гомогенаті дванадцятипалої кишки щурів із глютамат-індукованим СГ.
4. Періодичне введення мультипробіотика призводило до відновлення показників серотонінового обміну у головному мозку, сироватці крові та дванадцятипалій кишці у щурів з глютамат-індукованим СГ. Після періодичного введення нанокристалічного діоксиду церію у дослідних щурів показники серотонінового обміну також суттєво покращувались до рівня контролю.
5. У щурів, з глютамат-індукованим СГ, періодичне застосування мультипробіотика «Симбітер ацидофільний» концентрований або нанокристалічного діоксиду церію сприяло зростанню вмісту високомолекулярних білків і зниженню вмісту низькомолекулярних білків, що свідчить про зменшення швидкості деградації високомолекулярних білків і покращення білок-синтезуючої функції печінки.
6. Особливістю розвитку дієт- та глютамат-індукованого СГ є «мітохондріальна дисфункція», що характеризується змінами ліпідного складу внутрішньої мембрани мітохондрій гепатоцитів, підвищенням окислених продуктів, змінами ферментативної активності всіх компонентів електронно-транспортного ланцюга. Періодичне застосування мультипробіотика «Симбітер ацидофільний» концентрований або нанокристалічного діоксиду церію, суттєво відновлювало ліпідний склад внутрішньої мембрани мітохондрій гепатоцитів та ферментативну активність всіх компонентів електронно-транспортного ланцюга у щурів, яким в неонатальному періоді вводили глютамат натрію.
7. У щурів із СГ, викликаним висококалорійною дієтою або введенням глютамаму натрію змінюється фосфоліпідний склад внутрішньої мембрани мітохондрій та

відбуваються не лише структурні зміни у мембрані, але й дисфункціональні зміни у мітохондрії в цілому, які проявляються, що в дихальному ланцюгу замість АТФ генерується АФК і це спричинює розвиток окисного стресу як у мітохондрії, так і у всьому гепатоциті. Застосування мультипробіотика «Симбітер ацидофільний» концентрований або нанокристалічного діоксиду церію суттєво зменшує прояви оксидативного стресу, знижує вміст окислених форм фосфатидилхоліну і фосфатидилетаноламіну у внутрішній мембрані мітохондрій гепатоцитів на тлі нормалізації вмісту кардіоліпіну, що свідчить про антиоксидантну дію даних препаратів та можливість їх застосування для профілактики стеатогепатозу.

8. У щурів, яким у неонатальному періоді вводили глютамату натрію або які тривало перебували на висококалорійній дієті, розвиток СГ характеризується зменшенням маси селезінки та кількості спленоцитів, наслідком є дисфункція імунної системи, зокрема, дисбаланс вмісту про- та протизапальних цитокінів у сироватці крові. Зміни цитоморфологічного стану селезінки більш значні у щурів після неонатального введення глютамату натрію у порівнянні з щурами, що тривало перебували на висококалорійній дієті. Періодичне застосування мультипробіотика або нанокристалічного діоксиду церію суттєво покращувало досліджувані показники у тварин з глютамат-індукованими змінами.
9. У щурів із СГ, індукованим тривалим перебуванням на висококалорійній дієті, зростає холерез та суттєво змінюється жовчочислотний склад жовчі. Зокрема зростає концентрація таурокон'югатів жовчних кислот, що, очевидно, лежить в основі механізму посилення об'ємної секреції жовчі. При цьому коефіцієнт кон'югації не змінюється, а коефіцієнт гідроксилування зменшується, що свідчить про активацію альтернативного шляху біосинтезу жовчних кислот. У щурів із глютамат-індукованим стеатогепатозом, холерез, навпаки, зменшується, проте суттєво змінюється спектр холатів в жовчі: концентрація вільних жовчних кислот зростає, а концентрація кон'югованих жовчних кислот зменшується, що зумовлює суттєве зменшення коефіцієнта кон'югації та гідроксилування. Періодичне застосування мультипробіотика або нанокристалічного діоксиду церію після неонатального введення глютамату натрію суттєво відновлювало жовчосекреторну функцію печінки та склад холатів.
10. В гепатоцитах щурів за умов розвитку глютамат-індукованого ожиріння суттєво зростають рівні експресії мРНК генів *Tgfb1*, *Ptgs2* та *Hgf*, що є свідчить про розвиток фіброзу та запального процесу в печінці. Періодичне застосування введення нанокристалічного діоксиду церію у тварин знижує рівні експресії мРНК генів *Tgfb1*, *Ptgs2* та *Hgf* порівняно з тваринами з глютамат-індукованим стеатогепатозом без корекції. Періодичне введення мультипробіотика щурам з глютамат-індукованими змінами також відновлює рівень експресії мРНК генів *Ptgs2*, *Tgfb1* і *Hgf* у гепатоцитах до рівня контролю.

СПИСОК ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

– *Статті в наукових періодичних фахових виданнях України, в т.ч., що входять до міжнародних наукометричних баз:*

1. Полякова ВВ, Кондро ММ, Савчук ОМ. Розвиток перед-діабетичного стану на фоні висококалорійної дієти. Актуальні проблеми сучасної медицини (Українська

- медична стоматологічна академія). 2012;11;4(36):194–197. *(Здобувачу належить ідея проведення досліджень та узагальнення результатів, написання та оформлення публікації; аналіз літературних джерел, виконання лабораторних досліджень та аналіз отриманих даних виконано у співавторстві).*
2. Кондро ММ, Гжегоцький МР, Галенова ТІ, Кузнецова МЮ, Савчук ОМ. Функціональний стан печінки за умов впливу висококалорійної дієти. Експериментальна та клінічна фізіологія та біохімія. 2013;1:39–47. *(Здобувачу належить ідея проведення досліджень, здобувачем проведено аналіз літературних джерел та узагальнення результатів, здобувачем особисто виконані лабораторні дослідження по моделювання неалкогольної жирової хвороби печінки, індукованої висококалорійною дієтою; дослідження функціонального стану печінки, написання та оформлення публікації виконано у співавторстві).*
 3. Кондро ММ, Галенова ТІ, Кузнецова МЮ, Савчук ОМ. Експресія інсулінового рецептора у субклітинних фракціях м'язової та жирової тканин як фактор розвитку тканинної інсулінорезистентності у щурів за умов висококалорійної дієти. Фізіологічний журнал. 2013;2(59):59–64. (Scopus). *(Здобувачу належить ідея проведення досліджень, аналіз літературних джерел та узагальнення результатів, здобувачем особисто виконані лабораторні дослідження по моделювання неалкогольної жирової хвороби печінки; дослідження експресії інсулінового рецептора в тканинах, написання та оформлення публікації виконано у співавторстві).*
 4. Кобиляк НМ, Кондро ММ, Вірченко ОВ, Фалалєєва ТМ. Патолофізіологічна роль лептину у розвитку ожиріння та супутніх захворювань. Експериментальна та клінічна фізіологія та біохімія. 2013;63(3):55–63. *(Здобувач провела аналіз літературних джерел; написання та оформлення публікації виконано у співавторстві).*
 5. Воєйкова Д, Любас Г, Степанов Л, Остапченко Л, Кондро М. Характеристика ліпідного складу внутрішньої мітохондріальної мембрани гепатоцитів експериментальних тварин за умов утримання на висококалорійній дієті. ВІСНИК Київського національного університету імені Тараса Шевченка: Проблеми регуляції фізіологічних функцій. 2015; 2(19): 37–40 (ISSN 1728-3817; ISSN 1728-2748). *(Здобувачу належить ідея проведення досліджень, здобувачем проведено аналіз літературних джерел та узагальнення результатів; виконання лабораторних досліджень виконано у співавторстві, написання та оформлення публікації).*
 6. Воєйкова Д, Степанова Л, Савчук О, Остапченко Л, Кондро М. Склад білків гепатоцитів щурів за умов глутамат-індукованого ожиріння та його корекція. ВІСНИК Київського національного університету імені Тараса Шевченка: Біологія. 2015; 2(70): 81–84 (ISSN 1728-3817; ISSN 1728-2748). *(Здобувачу належить ідея проведення досліджень, здобувачем проведено аналіз літературних джерел та узагальнення результатів; виконання лабораторних досліджень виконано у співавторстві, написання та оформлення публікації).*
 7. Voieikova D, Stepanova L, Beregova T, Ostapchenko L, Kondro M. Phospholipid composition in the inner mitochondrial membrane of rat hepatocytes under the developing of different types of steatohepatosis. ВІСНИК Київського національного університету імені Тараса Шевченка: Проблеми регуляції фізіологічних функцій. 2016, 1(20): 30–33 (ISSN 1728-3817; ISSN 1728-2624). *(Здобувачу належить ідея проведення досліджень, здобувачем проведено аналіз літературних джерел та узагальнення результатів; виконання лабораторних досліджень виконано у співавторстві, написання та оформлення публікації).*

8. Кондро ММ, Воєйкова ДО, Степанова ЛІ, Фалалєєва ТМ, Берегова ТВ, Остапченко ЛІ. Вплив висококалорійного харчування на ферментативну активність основних комплексів електронно-транспортного ланцюга мітохондрій гепатоцитів за умов розвитку стеатогепатозу різної етіології. Гепатологія. 2016;1(31):33–41. *(Здобувачу належить ідея проведення досліджень, здобувачем проведено аналіз літературних джерел та узагальнення результатів; виконання лабораторних досліджень, аналіз одержаних даних, написання та оформлення публікації виконано у співавторстві).*
9. Воєйкова ДО, Кондро ММ, Савчук ОМ, Остапченко ЛІ. Аналіз вмісту білкових фракцій гепатоцитів за умов моделювання дієт-індукованого стеатогепатозу у щурів. Вісник проблем біології і медицини. 2016;4;1(133):73–76. *(Здобувачу належить ідея проведення досліджень, здобувачем проведено аналіз літературних джерел та узагальнення результатів; виконання лабораторних досліджень, аналіз одержаних даних, написання та оформлення публікації виконано у співавторстві).*
10. Кондро ММ, Воєйкова ДО, Степанова ЛІ. Вплив мультипробіотика на склад білків гепатоцитів за умов глутамат-індукованого ожиріння. Гепатологія. 2017;4(38):14–20. *(Здобувачу належить ідея проведення досліджень, здобувачем проведено аналіз літературних джерел та узагальнення результатів, написання та оформлення публікації; виконання лабораторних досліджень виконано у співавторстві).*
11. Кондро ММ, Воєйкова ДО, Степанова ЛІ, Співак МЯ. Вплив нанокристалічного діоксиду церію на ліпідний склад внутрішньої мембрани мітохондрій гепатоцитів у щурів з глутамат-індукованим стеатогепатозом. Гепатологія. 2018;3(41):22–29. *(Здобувачу належить ідея проведення досліджень, здобувачем проведено аналіз літературних джерел та узагальнення результатів, написання та оформлення публікації; виконання лабораторних досліджень виконано у співавторстві).*
12. Драніцина АС, Кондро ММ, Степанова ЛІ, Співак МЯ, Остапченко ЛІ. Експресія генів Tgfb1, Ptgs2 в гепатоцитах щурів за умов розвитку глутамат-індукованого стеатогепатозу та при використанні нанокристалічного діоксиду церію. Експериментальна та клінічна фізіологія та біохімія. 2019;1(85):26–31. *(Здобувачу належить ідея проведення досліджень, здобувачем проведено аналіз літературних джерел та узагальнення результатів, написання та оформлення публікації; виконання лабораторних досліджень виконано у співавторстві).*
13. Kondro MM, Veselskyi SP, Dovbynchuk TV, Prybytko IYu. Range of bile acid cholates in bile of rats with steatohepatosis, induced by high-calorie diet. Experimental and clinical physiology and biochemistry, ECPB. 2019;2(86):24–30. *(Здобувачу належить ідея проведення досліджень, здобувачем проведено аналіз літературних джерел та узагальнення результатів, написання та оформлення публікації; виконання лабораторних досліджень виконано у співавторстві).*
14. Кондро ММ. Вплив глутамат-індукованого ожиріння на жовчосекреторну функцію печінки та профілактика мультипробіотиком «Симбітер ацидофільний» концентрований. Гепатологія. 2019;46(4):40–51.
15. Кондро М.М. Модуляція параметрів імунної системи за розвитку глутамат-індукованого стеатогепатозу та його корекція мультипробіотиком «Симбітер ацидофільний» концентрований. Експериментальна та клінічна фізіологія та біохімія. 2021;1/2(92):16–28.

– **Статті в наукових періодичних виданнях інших держав, в т.ч., що входять до міжнародних наукометричних баз:**

16. Bodnar P, Dynnyk O, Myhalchyshyn G, Beregova T, Kobyliak N, Prybytko I, Kondro M. Diagnosis of experimental steatohepatosis using ultrasound shear wave elastography. *Wydawca Uniwersytet Medyczny w Lublinie Current Issues in Pharmacy and Medical Sciences*. 2013;1(26):109–113. (*Scopus*) (Здобувачем виконані дослідження по моделюванню розвитку стеатогепатозу у щурів, проведено аналіз літературних джерел, оформлення публікації до друку; виконання лабораторних досліджень, аналіз та обговорення результатів, формулювання висновків виконано у співавторстві).
17. Kondro M, Mykhalchyshyn G, Bodnar P, Kobyliak N, Falalyeyeva T., Metabolic profile and morfo-functional state of the liver in rats with glutamate-induced obesity. *Wydawca Uniwersytet Medyczny w Lublinie Current Issues in Pharmacy and Medical Sciences*. 2013;4(26):379–381. (*Scopus*) (Здобувачу належить ідея проведення досліджень, здобувачем проведено аналіз літературних джерел та узагальнення результатів, виконання лабораторних досліджень; написання та оформлення публікації виконано у співавторстві).
18. Kondro M, Kobyliak N, Virchenko O, Falalyeyeva T, Beregova T, Bodnar P. Multiprobiotic therapy from childhood prevents the development of nonalcoholic fatty liver disease in adult monosodium glutamate-induced obese rats. *Wydawca Uniwersytet Medyczny w Lublinie Current Issues in Pharmacy and Medical Sciences*. 2014;4(27):243–245. (*Scopus*) (Здобувачу належить ідея проведення досліджень, здобувачем проведено аналіз літературних джерел та виконання лабораторних досліджень; узагальнення результатів, написання та оформлення публікації виконано у співавторстві).
19. Kondro M, Kobyliak N, Falalyeyeva T, Virchenko O, Konopelyuk V, Halenova T, Savchuk O. Serum Serotonin And Other Biochemical Parameters In Conditions Of High Calorie Diet In Rats. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. 2015;6(1):127–135. ISSN: 0975-8585 (*Scopus*) (Здобувачу належить ідея проведення досліджень, здобувачем проведено аналіз літературних джерел та узагальнення результатів; виконання лабораторних досліджень, написання та оформлення публікації виконано у співавторстві).
20. Voieikova DO, Kondro MM, Falaleyeveva TM, Ostapchenko LI. Activity of Enzymes of Mitochondrial Electron Transport Chain of Rat Hepatocytes under Different Steatosis. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. 2016;7(4):752–755. ISSN: 0975-8585. (*Scopus*) (Здобувачу належить ідея проведення досліджень, здобувачем проведено аналіз літературних джерел та узагальнення результатів; виконання лабораторних досліджень, написання та оформлення публікації виконано у співавторстві).
21. Kobyliak N, Virchernko O, Falalyeyeva T, Kondro M, Beregova T, Bodnar P, Shcherbakov O, Bubnov R, Caprnda M, Devel D, Sabo J, Kruzliak P, Rodrigo L, Opatrilova R, Spivak M. Cerium dioxide nanoparticles possess anti-inflammatory properties in the conditions of the obesity-associated NAFLD in rats. *Biomedicine and Pharmacotherapy*. 2017;90:608-614. (*Scopus*, *IF=3,457. Medicine- Q1*). (Здобувачу належить ідея проведення досліджень, здобувачем проведено аналіз літературних джерел та узагальнення результатів; виконання лабораторних досліджень, написання та оформлення публікації виконано у співавторстві).
22. Kondro MM, Dranitsina AS, Stepanova LI, Nikitina N, Ostapchenko LI, Beregova TV. An effect of the multiprobiotic symbiter acidophilic concentrated on the lever of expression of mRNA gene *Ptgs2* and *Tgfb1* in rats liver with monosodium glutamate-

induced steatohepatosis. International Journal of Current Advanced Research ISSN: O: 2319-6475, ISSN: P: 2319-6505, Available Online at www.journalijcar.org. April 2019; 8(Issue 04 (E)): 18373-18377. (*Index Copernicus, PubMed, Thompson Reuters Researcher ID:V-3274-2017 et al.*). (Здобувачу належить ідея проведення досліджень, здобувачем проведено аналіз літературних джерел та узагальнення результатів; виконання лабораторних досліджень, написання та оформлення публікації виконано у співавторстві).

23. Kondro MM, Voieikova O, Stepanova LI, Antonenko AV, Spivak MYa, Beregova TV. The phospholipid composition of internal membrane of hepatocytes in rats with glutamat-induced steatohepatitis and its correction by cerium dioxide nanoparticles Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences ISSN: 0975-8585 March–April 2019;10(2):411–417. (*Cross Ref et al.*) (Здобувачу належить ідея проведення досліджень, здобувачем проведено аналіз літературних джерел та узагальнення результатів, написання та оформлення публікації; виконання лабораторних досліджень виконано у співавторстві).

– **Статті в інших наукових виданнях:**

24. Боднар ПМ, Динник ОБ, Михальчишин ГА, Берегова ТВ, Кобиляк НМ, Фалалєєва ТМ, Кондро ММ. Діагностична ефективність нового ультразвукового методу оцінки жорсткості печінки – еластографії хвилі зсуву у тварин з експериментальним ожирінням. Доповіді НАН України. 2013;4:159–166. (Здобувачем виконані лабораторні дослідження по моделювання неалкогольної жирової хвороби печінки, особисто оформлена стаття; аналіз літературних джерел, проведення досліджень по оцінці еластографії хвилі зсуву, аналіз одержаних даних та написання статті виконано у співавторстві).
25. Кондро ММ. Вплив висококалорійної дієти на розвиток переддіабетичного стану. Практична медицина. 2012;3(18):111–117.
26. Боднар ПМ, Динник ОБ, Михальчишин ГП, Кондро ММ, Берегова ТВ, Кухарський ВМ, Прибисько ІЮ. Оцінка еластографії хвилі зсуву в діагностиці експериментальної неалкогольної жирової хвороби печінки. Журнал Національної академії медичних наук України: наук. журн. Президії НАМН України. 2011;17(4):422–430. (Здобувачем виконані дослідження по моделюванню розвитку стеатогепатозу у щурів, аналіз літературних джерел, підготовлена публікація до друку; проведення досліджень по оцінці еластографії хвилі зсуву, аналіз одержаних даних, формулювання висновків та написання статті виконано у співавторстві).
27. Шелест ДА, Савчук АН, Остапченко ЛІ, Кондро ММ. Характеристика белковых фракций цитозоля гепатоцитов крыс в условиях развития экспериментального метаболического синдрома. Universum: Химия и биология: электрон. научн. журн. 2015. 3–4 (12): URL: <http://7universum.com/ru/nature/archive/item/2043>. (*Ulrich's Periodicals Directory, GoogleScholar, Index Copernicus та ін.*). (Здобувачу належить ідея проведення досліджень, здобувачем проведено аналіз літературних джерел та узагальнення результатів; виконання лабораторних досліджень, написання та оформлення публікації виконано у співавторстві).

– **Патенти та свідоцтва**

28. Пат № 145809 Україна, МПК (2021.01) G09B 23/28 (2006.01) A61K 33/00 A61K 35/00 A61P 1/16 (2006.01). Спосіб профілактики глутамат-індукованого

стеатогепатозу за умов експериментального вісцерального ожиріння. М.М. Кондро. Заявник та патентовласник – Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького. и 2020 04099; заявл. 06.07.2020; опубл. 06.01.2021, Бюл. №1.

29. Свідоцтво на раціоналізаторську пропозицію № 1927. Нанокристалічний діоксид церію як засіб профілактики стеатогепатозу, індукованого глютаматом натрію. Львів. 17.02.2020.
30. Свідоцтво на раціоналізаторську пропозицію № 1928. Експериментальні та доклінічні дослідження використання вітчизняного мультипробіотика «Симбітер ацидофільний» концентрований за умов розвитку вісцерального ожиріння різного генезу. Львів. 17.02.2020.

Тези наукових доповідей:

31. Середницька КР, Конопельнюк ВВ, Савчук ОМ, Кондро ММ. Висококалорійна дієта як фактор розвитку перед діабетичного стану. Український науково–медичний молодіжний журнал. 2011;1:148–149.
32. Полякова ВВ, Кондро ММ, Савчук ОВ, Гладун ДВ. Розвиток перед-діабетичного стану на фоні висококалорійної дієти. Медична хімія. 2011;Т.13;4(49):226.
33. Гладун Д, Кондро М, Прибитько І, Кравченко О, Гайда Л. Вплив висококалорійної дієти на активність глутатіонзалежних ферментів у гепатоцитах щурів. Молодь і поступ біології – VIII міжнародна наукова конференція студентів та аспірантів. Львів 3–6 квітня 2012:39–40.
34. Kondro MM, Prybytko IYu, Bernyk OO, Gzhegotsky MR. Antioxidant system and enzyme activity in hepatocytes of rats in process of development of metabolic syndrome. Advances in pharmacology and pathology of the digestive tract – 4th international scientific conference. Kiev. September 26–28 2012:46.
35. Боднар ПМ, Берегова ТВ, Фалалєєва ТМ, Кондро ММ, Михальчишин ГП, Кобиляк НМ. Морфологічні зміни печінки щурів за умов експериментального ожиріння, викликаного глютаматом натрію. Від експериментальних досліджень до клінічної патофізіології. Матеріали 6 Конгресу патофізіологів України Тавричеський медико-біологічний вестник. 3 ч. 2(59); Т.15; Крим, 3–5 жовтня 2012:341–342.
36. Боднар П, Динник О, Михальчишин Г, Кобиляк Н, Кондро М. Жорсткість тканин печінки щурів in vivo і in vitro з експериментальним ожирінням за даними ультразвукової еластографії хвилі зсуву. Матеріали XIV конгресу світової федерації українських лікарських товариств. Донецьк, 4–6 жовтня 2012:398.
37. Kobylak N, Bodnar P, Mykhalchyshyn G, Dynnyk O, Kondro M. Performance of new ultrasound method for assessing liver stiffness-shear wave tm elastography imagic in rats with experimental obesity. The International Liver Congress 2013, 48th annual meeting of the European Association of the Study of the Liver, Amsterdam. The Netherlands, april 24–28 2013. Journal of Hepatology supplement. 2013;1(58):S512.
38. Hzhhotskyi MR, Kondro MM, Veselskyi SP, Dovbynchuk TV. The spectrum of bile acid cholates in bile of rats with metabolic syndrome. 7th Lviv-Lublin conference of experimental and clinical biochemistry. May 23–24 2013. Lviv, Ukraine:80.

39. Шелест ДВ, Кондро ММ, Степанова ЛИ, Береговая ТВ, Остапченко ЛИ. Влияние высококалорийной диеты на ферментативную активность основных комплексов дыхательной цепи митохондрий и активность H^+ -АТФазы внутренней мембраны митохондрий гепатоцитов крыс. Матеріали міжнародної міждисциплінарної науково-практичної конференції Биологически активные вещества и материалы: фундаментальные и прикладные вопросы получения и применения. Новий Світ, Україна (27 травня – 1 червня). 2013; 2:133–134.
40. Falalyeyeva T, Kondro M, Mykhalchyshyn G, Kobyljak N, Bodnar P, Beregova T, Yankovsky D. Correction of low-grade chronic inflammation by multiprobiotic Symbiter in patients with type2 diabetes and non-alcoholic fatty liver disease. The 21st United European Gastroenterology Week in Berlin, 12–16 October 2013:A450.
41. Mykhalchyshyn G, Bodnar P, Kobyljak N, Falalyeyeva T, Kondro M. Gender dimorphism of non-alcoholic fatty liver disease in rats with monosodium glutamate obesity are related to low adiponectin levels and severity of visceral obesity. Цукровий діабет як інтегральна проблема внутрішньої медицини: матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю. Харків, 12 вересня 2013:26.
42. Кондро ММ. Аналіз метаболічних порушень, які призводять до формування гендерного диморфізму неалкогольної жирової хвороби печінки у щурів з експериментальним ожирінням. Фізіологічний журнал Матеріали ХІХ-го з'їзду Українського фізіологічного товариства імені П.Г.Костюка з міжнародною участю, присвяченого 90-річчю від дня народження академіка П.Г.Костюка. 2014; 3(60):117.
43. Kobyljak N, Virchenko O, Falalyeyeva T, Kondro M, Mykhalchyshyn G, Spivak M, Beregova T, Bodnar P. Are the type of probiotic strains and their amount equally effective for NAFLD prevention: experimental comparative study? Experimental comparative study. 50th Annual Meeting of the European Association for the Study of the Liver. The International Liver Congress. April 26-28 2015, Vienna, Austria. Journal of Hepatology. 2015;62(2):S709. DOI: 10.1016/S0168-8278(15)31169-7.
44. Шелест ДО, Кондро ММ, Іщенко ГС, Остапченко ЛІ. Зміни вмісту білкових фракцій цитозолу гепатоцитів щурів за умов дієт-індукованого метаболічного синдрому. ХІІІ Міжнародна наукова конференція молодих вчених «Шевченківська весна». Біологія. 2015:98.
45. Kobyljak N, Virchenko O, Falalyeyeva T, Kondro M, Mykhalchyshyn G, Spivak M, Beregova T, Bodnar P. Are the type of probiotic strains and their amount equally effective for NAFLD prevention: experimental comparative study? EASL monothematic conference: Microbiota, Metabolism and NAFLD. Innsbruck, Austria. February 26–28, 2015:99.
46. Kobyljak N, Virchenko O, Falalyeyeva T, Kondro M, Mykhalchyshyn G, Spivak M, Bodnar P, Beregova T. Comparison of lyophilized mono- and threestrain probiotic and a live multistrain probiotic administration from childhood for prevention of obesity in adult. 23th United European Gastroenterology Week: Abstract Issue (October 24–28, 2015, Barcelona, Spain): United European Gastroenterology Journal. Barcelona. 2015; 1(3):A86.

47. Воейкова ДО, Степанова ЛІ, Кондро ММ, Остапченко ЛІ. Зміни активності деяких ферментів електрон-транспортного ланцюга мітохондрій гепатоцитів щурів за умов розвитку глутамат-індукованого ожиріння та його корекції. VII Всеукраїнська науково-практична конференція «Біологічні дослідження – 2016», 10–11 березня 2016 р.: матер.конфер. Житомир, 2016:67–68.
48. Воейкова Д, Кондро М, Степанова Л, Фалалєєва Т, Берегова Т, Остапченко Л. Функціональна активність комплексів електронно-транспортного ланцюга мітохондрій гепатоцитів щурів за умов розвитку стеатогепатозу у щурів з глутамат-індукованим ожирінням. XII Міжнародна наукова конференція студентів та аспірантів «Молодь і поступ біології». Львів. 19–21 квітня 2016: 25–26.
49. Antonenko A, Beregova TV, Voieikova DO, Stepanova LI, Kondro MM, Falalyeyeva TM, Ostapchenko LI. Influence of steatosis on the activity of enzymes of mitochondrial electron transport chain of rat hepatocytes. «New Treatment Targets in Gut and Liver Diseases». Lucerne, Switzerland. October 21–22, 2016:7.
50. Кондро М. Спектр холатів жовчних кислот у жовчі щурів з метаболічним синдромом. Праці НТШ, Медичні науки. 2017;XLVII:107.
51. Kondro MM, Beregova TV, Ostapchenko LI. Influence of high-energy diet on enzyme activity of main complexes of mitochondrial respiratory chain and activity of H⁺- atpase of mitochondrial inner membrane of rat hepatocytes «Medicine UpDate 2017 Smart Lion». Праці НТШ, Медичні науки. XLIX:28.
52. Antonenko A, Beregova TV, Ostapchenko LI, Veselskiy S, Kondro MM. The intensity of biliary secretion and bile composition in rats with monosodium induced obesity. «Probiotics, Prebiotics and New Foods, Nutraceuticals and Botanicals for Nutrition and Human and Microbiota Health». Rome. September 10–12 2017:96.
53. Kondro MM, Voieikova DO, Stepanova LI, Beregova TV, Spivak MYa. The influence of cerium dioxide nanoparticles on lipide composition of inner mitochondrial membrane hepatocytes in rats with glutamate – induced steatohepatosis. 2ND Symposium «Innovation in Medicine Smart Lion 2018»:65–67.

АНОТАЦІЯ

Кондро М.М. Механізми розвитку стеатогепатозу за умов вісцерального ожиріння різного генезу та його корекція. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 14.03.03 – нормальна фізіологія. – Державна установа «Інститут геронтології імені Д.Ф. Чеботарьова НАМН України», Київ, 2021.

Дисертацію присвячено вивченню механізмів розвитку стеатогепатозу (СГ) за умов вісцерального ожиріння, індукованого висококалорійною дієтою (ВКД) і глутаматом натрію (ГН) та оцінці профілактичного впливу мультипробіотика «Симбітер ацидофільний» концентрований та нанокристалічного діоксиду церію (НДЦ). Встановлено, що у щурів, які упродовж 15 тижнів перебували на ВКД та у 4-х місячних щурів після неонатального введення ГН розвивалося вісцеральне ожиріння, що супроводжувалось дисліпідемією, порушенням чутливості

периферичних тканин до інсуліну та розвитком СГ, підтвердженого різними методами. СГ супроводжувався змінами у ліпідному складі внутрішньої мембрани мітохондрій гепатоцитів із підвищенням окислених продуктів та зміною ферментативної активності всіх комплексів дихального ланцюга. У щурів із СГ, викликаним ВКД зростав холерез та змінювався жовчोकислотний склад жовчі. У щурів із СГ, викликаним ГН зменшувався холерез та змінювався спектр холатів в жовчі. У щурів із СГ порушувався обмін серотоніну в мозку, дванадцятипалій кишці і в сироватці крові, зменшувалася маса селезінки та кількість спленоцитів, що спричиняло дисфункцію імунної системи, проявом якої був дисбаланс у вмісті про- та протизапальних цитокінів у сироватці крові. В гепатоцитах щурів за умов розвитку ГІО зростали рівні експресії мРНК генів *Tgfb1*, *Ptgs2* і *Hgf*, що є свідченням розвитку фіброзу та запального процесу в печінці. Періодичне введення щурам з глутамат-індукованим СГ мультипробіотика або НДЦ суттєво відновлювало досліджувані показники та запобігало розвитку СГ.

Ключові слова: стеатогепатоз, висококалорійна дієта, глутамат натрію, вісцеральне ожиріння, інсулінорезистентність, серотонін, мультипробіотик, нанокристалічний діоксид церію.

АННОТАЦІЯ

Кондро М.М. Механізми розвитку стеатогепатоза в умовах висцерального ожиріння різного генеза і його корекція. – Кваліфікаційна наукова робота на правах рукопису.

Дисертація на соискание ученої ступені доктора медичинських наук по спеціальності 14.03.03 – нормальна фізіологія. – Государственне учреждение «Институт геронтології імені Д.Ф. Чеботарева НАМН України». Київ, 2021.

Дисертація посвячена вивченню механізмів розвитку стеатогепатоза (СГ) в умовах висцерального ожиріння, індукованого висококалорійної дієтою (ВКД) і глутаматом натрія (ГН), а також оцінці профілактичного впливу мультипробіотика «Симбітер ацидофільний» концентрований і нанокристалічного діоксида церія (НДЦ). Установлено, що у крыс, котрі в теченні 15 тижнів перебували на ВКД і у 4-місячних крыс після неонатального введення ГН розвивалось висцеральне ожиріння, котрє супроводжалося дисліпідемією, порушенням чутливості периферических тканин к інсуліну і розвитком СГ, підтвердженого різними методами. На фоні СГ змінювався ліпідний склад внутрішньої мембрани мітохондрій гепатоцитів з підвищеним вмістом окислених продуктів і зміною ферментативної активності всіх комплексів дихальної ланцюга. У крыс з СГ, викликаним ВКД зростає холерез і змінюється склад жовчаних кислот. У крыс з СГ, викликаним ГН холерез зменшується і змінюється спектр холатів в жовчі. У крыс з СГ порушується обмін серотоніну в мозку, дванадцятипалої кишкї і в сироваткї крові, зменшується маса селезінки і кількість спленоцитів, що викликає дисфункцію імунної системи, проявленою котрою є дисбаланс в вмісті про- і антивоспалительних цитокінів в сироваткї крові. В гепатоцитах крыс при розвитку ГІО зростає

уровни экспрессии мРНК генов *Tgfb1*, *Ptgs2* и *Hgf*, что является свидетельством развития фиброза и воспалительного процесса в печени. Периодическое введение крысам с глутамат-индуцированным СГ мультипробиотика или НДЦ существенно восстанавливало исследуемые показатели и предотвращало развитие СГ.

Ключевые слова: стеатогепатоз, высококалорийная диета, глутамат натрия, висцеральное ожирение, инсулинорезистентность, серотонин, мультипробиотик, нанокристаллический диоксид церия.

SUMMARY

Kondro M.M. “The mechanisms of the hepatic steatosis development in the event of a visceral obesity of various origin and its adjustment.” – Manuscript.

Thesis for Doctor of Science degree in specialty 14.03.03 – normal physiology. – State Institution “D. F. Chebotarev Institute of Gerontology by the National Academy of Medical Sciences of Ukraine”. Kyiv, 2021.

The dissertation is devoted to the study of the mechanisms of development of hepatic steatosis in conditions of visceral obesity induced by a high-calorie diet and monosodium glutamate (GS), as well as the assessment of the preventive effect of the multiprobiotic "Simbiter acidophilic" concentrated and nanocrystalline cerium dioxide. It was found that in rats that were on high-calorie diet for 15 weeks and in 4-month-old rats after neonatal administration of GS, visceral obesity developed, which was accompanied by dyslipidemia, impaired sensitivity of peripheral tissues to insulin and the development of hepatic steatosis, being confirmed by morphological and morphometric analysis methods and shear wave elasticity imaging (Shear Wave Elasticity Imaging, SWEI). Against the background of hepatic steatosis, the lipid composition of the inner mitochondrial membrane of hepatocytes changed with an increased content of oxidized products, changed the enzymatic activity of all complexes of the respiratory chain. The periodic administration of the multi-probiotic Symbiter® acidophilic concentrated or nanocrystalline cerium dioxide in rats with GS - induced hepatic steatosis triggered the significant restoration of the morphological functional liver condition and the prevention of the hepatic steatosis development.

The liver protein synthesis function was disturbed in 4-month-old rats with neonatal injection of GS and in rats being under a high-calorie diet for a long time: the content of high molecular proteins decreased and the content of low molecular proteins increased. The content of high molecular proteins increased and the content of low molecular proteins decreased in 4-month-old rats with neonatal injection of sodium glutamate which were regularly administered the multi-probiotic Symbiter® acidophilic concentrated or nanocrystalline cerium dioxide, which evidences the decreased rate of high molecular proteins degradation and the improvement of liver protein synthesis function.

The obtained findings allowed to determine the new mechanisms of the hepatic steatosis development. In rats with hepatic steatosis, serotonin metabolism in the brain, duodenum and blood serum was impaired. In rats with GS -induced obesity the level of serotonin in the brain was decreased. The level of the substrate for the synthesis of serotonin tryptophan in the brain tissue of rats with obesity caused by GS was diminished in comparison to in the control group, that explains the low level of serotonin in the brain. A

decrease in serotonin level in the brain of rats with GS-induced obesity is not associated with the changes in activity of tryptophan-hydroxylase and tryptophan-decarboxylase. We believe that the increase in tryptophan decarboxylase activity in the brain of GS-induced obese rats is part of homeostasis in the body, because the decrease in serotonin below control values stimulates reactions that counteract the further decline in serotonin. The activity of monoamine oxidase in the brain of rats with GS -induced obesity was increased, which may be one of the reasons for the reduced content of serotonin in the brain. Indolamine 2, 3-dioxygenase activity in the brain of rats with GS-induced obesity increased, which is evidence of activation of the alternative kynurenine pathway of tryptophan metabolism in the brain, which may also be one of the reasons for reduced serotonin level in the brain. Changes in the concentrations of serotonin and tryptophan, as well as monoamine oxidase activity in the brain and serum of rats with GS -induced obesity were unidirectional. The predominance of the serotonin pathway of serotonin metabolism in the duodenum has been proven. The serotonin metabolism in brain, blood serum and duodenum in rats with neonatal injection of GS approached the intact control level secondary to regular administration of the multi-probiotic, and the parameters of serotonin metabolism in rats significantly improved secondary to regular administration of nanocrystalline cerium dioxide.

The long-term rats' being under a high-calorie diet, resulted in hepatic steatosis development, increases choleresis and significantly changes the bile acid composition of the rats' bile. The concentration of tauroconjugates of bile acids in the rats' bile has increased after 20 weeks of being under a high-calorie diet, which obviously is the basis for the mechanism of increase in the volume of bile secretion. At the same time, the conjugation coefficient did not alter, while the hydroxylation coefficient decreased, which evidences the activation of the alternative way of bile acids biosynthesis. In rats with GS-induced obesity which results in the hepatic steatosis development, the choleresis has been reduced and the cholates spectrum in bile has been significantly altered: the concentration of free bile acids increased and the concentration of conjugated fatty acids decreased, which has been substantiated by the significant decrease of the conjugation coefficient of bile acids in all experimental study specimens. The periodic administration of the multi-probiotic or nanocrystalline cerium dioxide in rats after neonatal injection of GS significantly restored the bile secretion function of the liver and the composition of the cholates.

In rats with hepatic steatosis the spleen mass and the number of splenocytes decreased, which caused dysfunction of the immune system, the manifestation of which was an imbalance in the content of pro- and anti-inflammatory cytokines in the blood serum. The changes in cytomorphological condition of the spleen were more marked in rats with neonatal injection of GS as compared to the rats being under a high-calorie diet for a long time. The studied parameters were significantly improved as a result of the regular administration of the multi-probiotic or nanocrystalline cerium dioxide in rats after neonatal injection of GS.

It has been first determined that the levels of mRNA expression of *Tgfb1*, *Ptgs2* and *Hgf* genes in the rats' hepatocytes significantly increased in case of GS-induced obesity development, which evidences the development of fibrosis and inflammatory process in the liver. The levels of mRNA expression of *Tgfb1*, *Ptgs2* and *Hgf* genes were in 1.3 times ($p < 0.01$), 4.8 times ($p < 0.001$) and 2.8 times ($p < 0.001$) respectively less in rats with neonatal

injection of GS secondary to periodic administration of nanocrystalline cerium dioxide than in rats with glutamate-induced hepatic steatosis. The periodic administration of the multiprobiotic in rats with neonatal injection of SG restored the level of mRNA expression of *Ptgs2*, *Tgfb1* and *Ngf* genes in hepatocytes to the intact control level.

Key words: hepatic steatosis, high-calorie diet, monosodium glutamate, visceral obesity, insulin resistance, serotonin, multiprobiotic, nanocrystalline cerium dioxide.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

5-HT	– серотонін
5-НТР	– 5-гідрокситриптофан
АЛТ	– аланінамінотрансфераза
АОС	– антиоксидантна система
АСТ	– аспартатамінотрансфераза
АФК	– активні форми кисню
ВКД	– висококалорійна дієта
ГГТ	– γ -глутамілтранспептидаза
ГЮ	– глутамат-індуковане ожиріння
ГН	– глутамат натрію
ДЮ	– дієт-індуковане ожиріння
ДНК	– дезоксирибонуклеїнова кислота
ЕТЛ	– електронно-транспортний ланцюг
ЕХЗ	– еластографія хвилі зсуву
ЛПВЩ	– ліпопротеїди високої щільності
ЛПНЩ	– ліпопротеїди низької щільності
м.м.	– молекулярна маса
МАО	– моноаміноксидаза
мРНК	– матрична рибонуклеїнова кислота
НАД+	– нікотинамідаденіндинуклеотид окиснений
НАДН	– нікотинамідаденіндинуклеотид відновлений
НЖХП	– неалкогольна жирова хвороба печінки
НДЦ	– нанокристалічний діоксид церію
ПОЛ	– перекисне окиснення ліпідів
СГ	– стеатогепатоз
СОД	– супероксиддисмутаза
ЕС	– ентерохромафінні клітини
ІЛ	– інтерлейкін
ІНФ	– інтерферон
TGF β	– трансформуючий фактор росту бета
n	– кількість тварин у експериментальній групі

Підписано до друку 02.08.21
Формат 60x84/16. Папір офсетний.
Друк на різнографі. Зам. №02/08-1
Ум. друк. арк. 1,8
Наклад 100 прим.

Видавництво “Галич-Прес”
Видавець ФОП Король І.В.
м. Львів, вул. Гнатюка, 17
Ел. пошта: lvivprint@ukr.net. Тел. 096-59-88-924
Свідоцтво ДК №5353 від 24.05.2017 р.