

**ОЦІНКА ЕНДОКРИННОЇ ФУНКЦІЇ ПІДШЛУНКОВОЇ
ЗАЛОЗИ ЗА УМОВ СПОЖИВАННЯ МОЛОЧНОЇ СУМІШІ
«SIMILAC»**

Кваліфікаційна робота

Рівень вищої освіти – перший (бакалаврський)

Виконала:

студентка 4 курсу, 400 А групи
спеціальності 091 Біологія

Тимофтії Анастасія Олегівна

Керівник:

кандидат біологічних наук,
асистент **Николайчук І.М.**

ЗМІСТ

ВСТУП.....	5
РОЗДІЛ I. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.....	7
1.1. Особливості різновидів дитячих сумішей.....	7
1.1.1. Соєві та безлактозні суміші.....	9
1.1.2. Суміш на основі коров'ячого молока.....	11
1.1.3. Гіпоалергенні та амінокислотні суміші.....	12
1.2. Олігосахариди людського молока.....	13
1.2.1. Вплив олігосахаридів людського молока на стан мікробіоти кишечника.....	16
1.2.2. Олігосахариди людського молока в дитячих сумішах.....	17
РОЗДІЛ II. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	19
2.1. Об'єкти та методи досліджень.....	19
2.2. Оцінка маси органів та коефіцієнти маси органів.....	20
2.3. Отримання сироватки крові.....	20
2.4. Визначення концентрації глюкози.....	20
2.5. Визначення рівня інсуліну.....	21
2.6. Визначення рівня С-пептиду.....	22
2.7. Статистична обробка результатів.....	22
РОЗДІЛ III. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ.....	23
ВИСНОВКИ.....	37
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	38
ДОДАТКИ.....	43

Анотація

Бакалаврська робота присвячена дослідженню морфометричних показників органів та оцінки ендокринної функції підшлункової залози за умов споживання молочної суміші «Similac Pro Total Comfort».

Встановлено, що після 28-денного споживання тваринами молока «Селянське» та молочної суміші «Similac Pro-Total Comfort» супроводжувалось збільшенням індексів маси лише селезінки та підшлункової залози.

У тварин незалежно від споживання молока «Селянське» чи молочної суміші «Similac Pro-Total Comfort» відбувається підвищення рівня глюкози, що характеризується розвитком гіперглікемії

Показано розвиток інсулінорезистентності відбувається як у групі тварин, що споживали молоко «Селянське» більшою мірою, так і у групі тварин, які отримували молочну суміш «Similac»

Отже, споживання молока «Селянське» супроводжується виникненням явно вираженої гіперінсулінемії, що може призводити до розвитку інсулінорезистентності, тоді як надходження молочної суміші «Similac Pro-Total Comfort» призводить до підвищення рівня інсуліну в незначних кількостях

Ключові слова: глюкоза, інсулін, підшлункова залоза, молочна суміш «Similac», молоко «Селянське».

Annotation

The bachelor's thesis is devoted to the study of morphometric parameters of organs and the assessment of endocrine function of the pancreas under conditions of consumption of «Similac Pro Total Comfort».milk formula.

It has been established that after 28 days of consumption of «Selyanske» milk and «Similac Pro Total Comfort» formula, animals showed an increase in weight indices of only the spleen and pancreas.

In animals, regardless of the consumption of milk «Selyanske» or milk formula «Similac Pro Total Comfort», an increase in glucose levels is observed, characterized by the development of hyperglycemia

It has been shown that the development of insulin resistance occurs both in the group of animals that consumed «Selyanske» milk to a greater extent and in the group of animals that received «Similac» formula.

Thus, the consumption of milk «Selyanske» is accompanied by the emergence of severe hyperinsulinemia, which can lead to the development of insulin resistance, while the intake of milk formula «Similac Pro Total Comfort» leads to an increase in insulin levels in small amounts

Key words: glucose, insulin, pancreas, Similac formula, Selyanske milk.

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

_____ **А.О.Тимофтії**
(підпис)

ВСТУП

Нині тисячі жінок з немовлятами опинились в умовах хронічного стресу: бойові дії, ризик ракетних обстрілів, вимушене переміщення під час повномасштабного вторгнення, хвилювання за близьких на фронті чи в окупації [1].

За даних умов актуальності набуває проблема грудного вигодовування немовлят. Справа в тому, що за вироблення й виділення молока відповідають 2 гормони: окситоцин і пролактин. Окситоцин — гіпоталамічний нейропептидний гормон, відповідає за виділення молока із грудей. Другий гормон — пролактин — білковий гормон, який синтезується передньою часткою гіпофізата та відповідає безпосередньо за виробництво молока. Окрім того, дані гормони беруть участь у функціях центральної нервової системи: регуляція стресу, енергетичний баланс, тривога, нейрогенез та поведінка матері. Тому при підвищеному стресі синтез даних гормонів пригнічується, що призводить до втрати грудного молока [2, 3].

Тому проблеми, пов'язані з якістю та характером дитячого харчування за умов пригнічення процесу лактації при хронічному стресі призвело до вигодовування молочними сумішами. Завдяки благодійним фондам матері мають змогу вигодовувати немовлят повноцінними дитячими сумішами, наданими в якості гуманітарної допомоги. Проте постає гостре питання в якості цих молочних сумішей. Чи дійсно штучне вигодовування стає альтернативою або заміною грудного вигодовування? Тому вигодовування повноцінними дитячими сумішами для підтримки імунної системи, що розвивається, залишається основною метою досліджень дитячого харчування [4, 5].

Молочні суміші для грудного вигодовування споживаються в усьому світі, визначаючи часткову або повну заміну грудного молока для годування дітей віком від 0 до 36 місяців. Молочні суміші — це оброблені харчові

продукти з типовим складом молочних білків, лактози або інших цукрів, рослинних олій, мікроелементів і деяких інших добавок [6].

Хоча більшість дітей добре перетравлюють традиційну білкову суміш на основі коров'ячого молока, існує безліч сумішей, які містять різні компоненти. Виробники дитячого харчування намагаються підвищити харчову цінність, імітуючи склад та функціональність грудного молока, додаючи імуноживильні пребіотики та функціональні біоактивні сполуки, такі як пробіотики, пребіотики, вітаміни, мінерали, таурин, інозит, остеопонтин, лактоферин, гангліозиди, карнітин, та олігосахариди грудного молока [6].

Тому *метою* стало дослідження морфометричних показників органів та оцінка ендокринної функції підшлункової залози за умов споживання молочної суміші «Similac Pro Total Comfort».

РОЗДІЛ I. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Особливості різновидів дитячих сумішей

У літературі [7] зазначено, що дитячі суміші повинні містити належну кількість вуглеводів, білків, жирів, вітамінів і мінералів. Склад дитячих сумішей суворо регламентований, тому кожен виробник повинен дотримуватися встановлених правил та балансування, які визначені державними органами. Наприклад, всі макронутрієнти, що додаються до сумішей (білки, ліпіди, вуглеводи) мають діапазон мінімальних і максимальних значень для прояву ефективності. Необхідний діапазон кожного нутрієнта повинен підтримуватися протягом усього терміну придатності продукту. Наприклад, для амінокислот дозволено додавати лише L-форми амінокислот, тоді як D-форми не допускаються, оскільки вони можуть спричинити розвиток D-лактоацидозу. Ця незвичайна форма лактоацидозу, при якій утворюється надлишок D-молочної кислоти (зазвичай виробляється в невеликих кількостях як продукт метаболізму вуглеводів бактеріями в товстій кишці). У майбутньому може супроводжуватися різними неврологічними проявами: невиразна мова, сплутаність свідомості, нездатність зосередитися, сонливість, галюцинації, незграбність, слабкість, атаксія, нестійка хода [8]. Фруктозу слід уникати через непереносимість фруктози [9].

Гідрогенізовані жири та олії також не допускаються, оскільки мембрани клітин мають спеціальні рецепторні утворення, які призначені для прийому певних молекул жиру. Коли потрібна жирна кислота надходить, вона займає відведене місце на рецепторах мембран. Проте гідрогенізовані жири можуть також проникати у ці рецепторні утворення, які не призначені для них. Це призводить до блокування потрібних рецепторів, що заважає молекулам жиру досягати своїх місць призначення і виконувати свої функції, що може

послабити або пошкодити клітинні мембрани життєво важливих структур, таких як мозок [10].

Не допускається іонізуюче випромінювання молочної суміші, оскільки це може призвести до псування продукту. Ще одним несприятливим наслідком у хворих немовлят, яких годують сумішами, що містять фруктозу або сахарозу, розвиток гіпоглікемії, виникнення блювання, недоїдання, цирозу печінки і, особливо в молодшому віці, раптова смерть.

Молочні суміші для немовлят, підготовлені до споживання, повинні містити не менше 60 ккал (250 кДж) і не більше 70 ккал (295 кДж) енергії на 100 мл [7].

Глюкоза міститься лише в незначних кількостях у жіночому молоці і вважається непридатною для звичайного використання в сумішах для немовлят. Під час термічної обробки суміші глюкоза може неферментативно реагувати з білком і утворювати продукти Майяра. Під час цієї реакції глюкоза реагує з аміногрупами амінокислот білка, утворюючи адвансовані продукти глікацій. Це може призвести до змін в структурі та функції білка, що буде впливати на його біологічну активність. Додавання глюкози до суміші для немовлят також призведе до помітного підвищення осмолярності, що є небажаним і може спричинити негативні наслідки в немовлят-реципієнтів. Додавання 1 г глюкози на 100 мл суміші підвищує осмолярність на 58 мОсм/кг. Тому додавати глюкозу в суміші для немовлят не рекомендується [11].

Окрім того, зміна рецептури продукту повинна ґрунтуватися на медичних та нутріціологічних висновках. Суміш, яка містить новий інгредієнт, має підтримувати фізичний ріст і розвиток впродовж 120 днів, коли суміш, ймовірно, буде єдиним джерелом харчування немовляти [7].

Дитячі суміші доступні у трьох формах:

- 1) порошок — найдешевша форма дитячої суміші, яку потрібно змішувати з водою перед годуванням;

2) рідина — концентрована рідина, яку потрібно змішувати з водою у рівній кількості;

3) готова до вживання суміш.

Окрім того, існує три основні класи дитячих сумішей:

1) суміші на основі коров'ячого молока;

2) суміші на основі сої;

3) спеціалізовані суміші. Вони відрізняються за поживністю, калорійністю, смаком, засвоюваністю та вартістю [7, 12].

1.1.1. Соєві та безлактозні суміші

На соєву суміш припадає майже 25% споживання, незважаючи на обмежені показання до використання. Ці формули виготовлені з вуглеводів на основі кукурудзи та соєвого білка, що робить їх вільними від лактози та протеїнів коров'ячого молока. Багато батьків вважають, що це покращує засвоюваність. Згідно з нещодавно опублікованими рекомендаціями Американської академії педіатрії, використання соєвої суміші має бути обмежене немовлятами з галактоземією або вродженою лактазною недостатністю [13].

Соєву суміш також можуть використовувати вегани, які бажають уникати тваринного молока. Соєва суміш все частіше використовується для немовлят з шлунково-кишковим дискомфортом. Поживний склад соєвої суміші розроблено з урахуванням потреб новонародженого в поживних речовинах; однак деякі аспекти його складу потребують додаткового розгляду. Рівень білка в соєвих сумішах зазвичай вищий, ніж у сумішах на основі молока, частково через різницю в засвоюваності білка, а частково через відмінності в амінокислотному складі. Соєвий білок містить фітоестрогени та ізофлавіони, які проявляють естрогенну дію на тварин. Раніше висловлювалося, що ці сполуки можуть мати шкідливий гормональний вплив на немовлят, що ростуть. Наявність фітинової кислоти в соєвій суміші створює

проблему щодо біодоступності мінералів і мікроелементів. Щоб звести цю проблему до мінімуму, можна вжити кілька кроків: шляхом зменшення вмісту фітату в ізоляті соєвого білка або зміни рівня мінералів/мікроелементів у формулі. Також високий рівень марганцю в соєвих сумішах є потенційною проблемою, оскільки марганець засвоюється та утримується у грудному віці [14, 15].

Безлактозні суміші є альтернативою соєвим сумішам, що нівелюють надходження лактози. Безлактозні суміші рекомендовані при галактоземії — порушення вуглеводного обміну, спричинене спадковою недостатністю ферментів, які перетворюють галактозу в глюкозу, та лактазній недостатності [16]. Лактазна недостатність або непереносимість лактози (гіполактазія) клінічний синдром, який проявляється характерними ознаками та симптомами при вживанні харчових речовин, що містять лактозу — дисахарид. Зазвичай під час споживання лактози вона гідролізується до глюкози та галактози ферментом лактазою, який міститься в щітковій облямівці тонкої кишки. Дефіцит ферменту лактази може виникнути в осіб із низьким рівнем цього ферменту, що призводить до нездатності гідролізувати лактозу до компонентів глюкози та галактози, що всмоктуються. Існує чотири основні причини лактазної недостатності:

1) *первинна лактазна недостатність* — це найпоширеніша причина дефіциту лактази, також відомого як неперсистенція лактази. З віком спостерігається поступове зниження активності ферменту лактази. Активність ферментів починає знижуватися в дитинстві, а симптоми проявляються в підлітковому або ранньому дорослому віці. Зовсім недавно було помічено, що неперсистенція лактази має предкову форму (нормальна менделівська спадковість), а персистенція лактази є вторинною внаслідок мутації;

2) *вторинна лактазна недостатність* — через низку інфекційних, запальних або інших захворювань пошкодження слизової оболонки

кишечника. Поширені причини включають: гастроентерит, хвороба Крона, хіміотерапія, антибіотики;

3) *вроджена лактазна недостатність* — спостерігається зниження або відсутність активності ферменту лактази з народження внаслідок аутосомно-рецесивного успадкування. Виявляється у новонароджених після вживання молока. Це рідкісна причина дефіциту, і його генетика не дуже добре відома.

4) *дефіцит лактази* під час розвитку — виявляється у недоношених дітей, народжених на 28-37 тижні вагітності. Кишечник немовляти недорозвинений, що призводить до нездатності гідролізувати лактозу. Цей стан покращується з віком завдяки дозріванню кишечника, що призводить до адекватної активності лактази [17].

Щоб діагностувати дефіцит лактози немовлятам із порушенням функціональності шлунково-кишкового тракту, потрібно за допомогою водневого дихального тесту або кишкової біопсії. Тому більшість лікарів замість цього пропонують спробувати безлактозну суміш, щоб побачити, чи покращаться симптоми. Тимчасова недостатність лактази також може виникнути після гострого гастроентериту. Безсоєві та безлактозні суміші скорочують перебіг діареї, проте не впливають на загальний стан. Дітям із групи ризику (до трьох місяців або недоїданням) може бути корисним перехід на безлактозну суміш після гострого гастроентериту [18].

1.1.2. Суміш на основі коров'ячого молока

Коров'яче молоко є основою для більшості дитячих сумішей. Однак коров'яче молоко містить більший рівень жиру, мінеральних речовин і білка порівняно з грудним молоком людини. Таким чином коров'яче молоко має бути знежиреним і розбавленим, щоб воно було більш схожим на материнське молоко. Дитяча суміш на основі коров'ячого молока містить додані рослинні олії, вітаміни, мінерали та залізо для споживання більшістю здорових доношених немовлят.

Окрім того, дитячий організм не може сприймати високий рівень протеїну, натрію та калію в немодифікованому коров'ячому молоці. Суміші з вмістом білка 2–2,5 г/100 мл і співвідношенням білок/енергія <3 г/100 ккал використовують для фізіологічно здорових немовлят, тоді як суміші з вищим вмістом білка (2,9 г/100 мл) і вищим співвідношенням білок/енергія (3,5) г/100 ккал) призначені для дітей з низькою вагою при народженні або недоношених немовлят. Високий вміст молочного білка в сумішах для немовлят пов'язаний із збільшенням надмірної ваги в дитинстві, що може призвести до 20 % ризику ожиріння в подальшому житті [19].

1.1.3. Гіпоалергенні та амінокислотні суміші

Суміші з протеїновим гідролізатом призначені для немовлят і немовлят, які не можуть переносити суміші на основі коров'ячого молока або сої. Вони містять білок, який був гідролізований — частково або екстенсивно — до менших розмірів, ніж ті, що містяться в продуктах на основі корови або сої. Для немовлят, які мають алергію на білок, суміші з інтенсивним гідролізом є задовільною альтернативою [19, 20].

Гіпоалергенні формули обробляються шляхом ферментативного гідролізу різних джерел протеїну, таких як коров'ячий казеїн/сироватка та соя з подальшою термічною обробкою та/або ультрафільтрацією, або вони засновані на сумішах амінокислот. Продукти були класифіковані відповідно до ступеня гідролізу білка як «значно» або «частково» гідролізовані білкові продукти. Властивості продукту можна охарактеризувати за допомогою біохімічних методів, а зниження алергенності можна оцінити *in vitro* різними імунологічними методами та *in vivo* за допомогою контрольних тестів. Тести *in vitro* не передбачають алергенних ефектів у людей, і наразі немає доказів специфічного порогу імуногенного білка. Тільки суміші чистих амінокислот вважаються неалергенними. Інші «гіпоалергенні» продукти містять залишкову алергенність. Наразі потенціал продукту для лікування та

профілактики харчової алергії можна визначити лише шляхом клінічних випробувань з використанням науково прийнятних стандартів. Рекомендовано, щоб дієтичні продукти для лікування алергії на білок коров'ячого молока у немовлят сприймалися принаймні 90% (з 95% достовірністю) немовлят із документально підтвердженою алергією на білок коров'ячого молока. Деякі високогідролізовані продукти та продукти на основі амінокислот відповідають цим критеріям [21, 22].

Усунення всіх продуктів коров'ячого молока без належним чином модифікованих і збагачених замінників може призвести до недоїдання та/або дефіциту певних нутрієнтів у той час, коли немовлята та діти ростуть [20].

1.2. Олігосахариди людського молока

Виробники молочних сумішей намагаються підвищити харчову цінність, імітуючи склад та функціональність грудного молока, додаючи імуноживильні пребіотики та функціональні біоактивні сполуки, такі як пробіотики, пребіотики, вітаміни, мінерали, таурин, інозит, остеопонтин, лактоферин, гангліозиди, карнітин, та олігосахариди грудного молока (ОЛМ).

Олігосахариди людського молока — це багатофункціональні, некон'юговані та неперетравлювані глікани, які побудовані з п'яти компонентів моносахаридів: галактози, глюкози, фукози, N-ацетилглюкозаміну та похідної сілової кислоти N-ацетилнейрамінової кислоти.

Хоча олігосахариди людського молока мають невелику харчову цінність для немовляти, у кількісному співвідношенні становить приблизно 20% від загального вмісту вуглеводів у грудному молоці та є третім за величиною компонентом у жіночому молоці після лактози та ліпідів. Концентрація олігосахаридів людського молока коливається від 20 до 25 г/л (у середньому 9–22 г/л) у молозиві, до 10–15 г/л (у середньому 8–19 г/л) у зрілому молоці, та

4–6 г/л після 6 місяців вигодовування. Приблизно 10 грамів ОЛМ щодня споживає доношена дитина, яка споживає 800 мілілітрів людського молока.

Порівняно з людським молоком концентрація олігосахаридів у молоці сільськогосподарських тварин, таких як корови, кози та вівці, у 100–1000 разів нижча. Фактично, ці унікальні складні вуглеводні структури в грудному молоці практично відсутні в коров'ячому молоці або будь-якому іншому молоці тварин, вирощених на фермах, і їх різноманітність набагато нижча. Різниця у вмісті олігосахаридів у грудному молоці та коров'ячому молоці, а отже, і в дитячих сумішах на основі коров'ячого молока, ймовірно, пояснює, принаймні частково, відмінності в результатах для функціонального стану між немовлятами, які отримують суміші, і немовлятами, які перебувають на грудному вигодовуванні [23, 24].

На сьогоднішній день ідентифіковано понад 200 різних вільних олігосахаридних структур із змінною структурою та складом молока між матерями та протягом періоду лактації. В кожній жінки у складі грудного молока є близько 15-20 різних видів ОЛМ у різних комбінацій, яка є унікальною в конкретному грудному молоці та є найбільш досконалою для конкретної дитини. На склад ОЛМ впливає багато змінних, включаючи генетичне походження, навколишнє середовище, споживання їжі та багато інших факторів. Структурно п'ять моносахаридів утворюють будівельні блоки ОЛМ: це D-глюкоза (Glc), D-галактоза (Gal), N-ацетилглюкозамін (GlcNAc), L-фукоза (Fuc) і сіалова кислота, яка зустрічається в організмі людини виключно як N-ацетилнейрамінова кислота (Neu5Ac). Усі ці моносахариди додаються до молекули-попередника лактози, яка утворює серцевину молекули, і організовує в різні структури. Лактозне ядро може бути подовжене ферментативно за допомогою β 1-3 зв'язку з лакто-N-біозою або за допомогою β 1-6 зв'язку з N-ацетиллактозаміном. Структуру ОЛМ можна подовжити далі шляхом додавання: (1) одиниць лакто-N-біози ацетиллактозаміну (за допомогою зв'язків β 1-3 та β 1-6); (2) L-фукоза(Fuc), пов'язаний із зв'язками

$\alpha 1-2$, $\alpha 1-3$ або $\alpha 1-4$; (3) та/або залишки сілової кислоти, приєднані зв'язками $\alpha 2-3$ або $\alpha 2-6$ у кінцевих положеннях [25].

ОЛМ можуть бути лінійними або розгалуженими. Подовження за допомогою лакто-N-біози, мабуть, обриває ланцюг ОЛМ, тоді як N-ацетиллактозамін може бути подовжений шляхом додавання будь-якого з двох дисахаридів. Зв'язок $\beta 1-6$ між двома дисахаридними одиницями вводить розгалуження ланцюга до ОЛМ. Розгалужені структури називаються ізо-ОЛМ, а лінійні структури без розгалужень — пара-ОЛМ. Лактоза або подовжений олігосахаридний ланцюг можуть бути фукозильовані зв'язками $\alpha 1-2$, $\alpha 1-3$ або $\alpha 1-4$ та/або сіалільовані зв'язками $\alpha 2-3$ або $\alpha 2-6$. Подовження або розгалуження може призвести до ОЛМ довжиною до 15 моносакхаридів. Майже всі ОЛМ містять лактозу на відновлювальному кінці, який можна подовжити додаванням N-ацетилглюкозамін і D-глюкоза утворюючи ланцюги типу 1 ($\text{Gal}\beta 1-3\text{GlcNAc}$) або типу 2 ($\text{Gal}\beta 1-4\text{GlcNAc}$) у зв'язках $\beta 1-3$ або $\beta 1-6$. Крім того, L-фукоза і N-ацетилнейрамінова кислота можуть бути приєднані до ядра ОЛМ або безпосередньо до кінця, що відновлює лактозу [26].

Відомо три основні категорії олігосахаридів в грудному молоці:

- 1) нейтральні фукозильовані, вони нейтральні та містять фукозу в кінцевій позиції (35–50%; наприклад, 2'-FL і DFL);
- 2) кислі сіалільовані вони кислі та містять сілову кислоту в кінцевому положенні (12–14%; наприклад, 3'-SL і 6'-SL);
- 3) нейтральні нефукозильовані, це нейтральні N-вмісні ОЛМ і містять N-ацетилглюкозамін у кінцевій позиції (42–55%, наприклад, L_{Nn}T, LNT) [26, 27].

Так чи інакше, існує два найбільш розповсюджених олігосахариди, яких найчастіше виявляють у складі кожного грудного молока— 2'-фукозиллактоза (2'FL) і лакто-N-неотетраоза (L_{Nn}T).

Завдяки своїй унікальній складній структурі вуглеводів ОЛМ протистоять шлунково-кишковому гідролізу та травленню кислотністю

шлунка та ферментами підшлункової залози та ензимами щіткової кайми, отже, не засвоюються у значних кількостях [28].

1.2.1. Вплив олігосахаридів людського молока на стан мікробіоти кишечника

Коли олігосахариди людського молока потрапляють у товстий кишечник ми починаємо розуміти, для чого вони потрібні. Насамперед у товстому кишечнику ОЛМ служать метаболічними субстратами для росту корисних мікроорганізмів, зокрема сприяє зростанню специфічних видів *Bifidobacterium*. У немовлят, які знаходяться на грудному вигодовуванні, переважають біфідобактерії, і таке домінування є наслідком наявності біфідогенного агента в жіночому молоці. ОЛМ є таким агентом, за допомогою якого вони ферментуються в товстому кишечнику біфідобактеріальними видами. *B. longum* subsp. *Infantis* є найбільшими споживачами ОЛМ, а *B. bifidum* і *B. breve* також можуть частково споживати ОЛМ. Коли ОЛМ ферментуються бактеріями, виробляються коротколанцюгові жирні кислоти, створюючи при цьому середовище з низьким рН у товстій кишці, що сприяє росту корисних бактерій і пригнічує патогени. Коротколанцюгові жирні кислоти мають численні корисні фізіологічні ефекти, такі як діючи як протизапальні агенти, слугуючи енергетичними субстратами для епітеліальних клітин кишечника та сприяючи моториці шлунково-кишкового тракту [29].

Окрім того, інші жирні кислоти з коротким ланцюгом утворюються шляхом бродіння, наприклад масляна та пропіонова кислоти, де масляна кислота є важливим джерелом енергії для колоноцитів. Отже, ОЛМ є джерелом розвитку корисних мікроорганізмів, необхідних для підтримки здоров'я кишечника [26, 27].

Більше того, патогенні мікроорганізми сприймають ОЛМ як клітинну стінку, та фіксується на них, фактично стаючи пасткою для патогенних

бактерій. Таким чином, ОЛМ діють як розчинні рецептори-приманки, які блокують приєднання специфічних вірусних, бактеріальних або найпростіших збудників паразитів до поверхневих вуглеводів епітеліальних клітин, що, в свою чергу, може допомогти запобігти інфекційним захворюванням кишечника, дихальних і сечовидільних шляхів. Окрім того, ОЛМ також змінюють реакцію епітелію та імунних клітин хазяїна з потенційною користю для новонародженого, крім захисту від інфекційних захворювань [29].

1.2.2. Олігосахариди людського молока в дитячих сумішах

Хоча функції ОЛМ вже відомі впродовж багатьох років, синтезувати їх у промислових масштабах до недавнього часу було неможливо. З метою імітації їх ефекту до сумішей для немовлят додано олігосахариди не людського молока, зокрема фрукто— та галактоолігосахариди. Останніми роками стало певною мірою технічно можливим додавати 2'-фукозиллактозу (2'FL) і лакто-N-неотетраозу (LNnT) до суміші для немовлят. Однією з таких сумішей є «Similac Pro-Total Comfort», яка намагається імітувати склад та функціональність людського молока [30].

Додавання одного ОЛМ, а саме 2'-фукозиллактозу, є кроком вперед у наближенні штучного вигодовування до золотого стандарту— материнського молока. Дослідження *in vitro* та дослідження на тваринах показали переваги додавання 2'-фукозиллактози до дитячої суміші. Перші клінічні дані у немовлят вказують на нормальний характер фізіологічного росту та нормальну дефекацію, що свідчать про клінічну користь. Для оцінки клінічних ефектів цієї добавки все ще потрібні проспективні рандомізовані дослідження на немовлятах, які б порівнювали суміші без і з ОЛМ. Таким чином можна зробити висновок, що 2'-фукозиллактоза є безпечною добавкою дитячої суміші [24].

Клінічні дослідження показали, що додавання 2'-FL до дитячої суміші добре переноситься і сприяє системному зниженню рівня цитокінів запалення

порівняно з контрольною сумішшю та порівняно з немовлятами, які перебувають на грудному вигодовуванні.

ОЛМ, і 2'-фукозиллактоза зокрема, досліджені як потужні пребіотичні сполуки *in vitro*. Збагачення дитячої суміші пребіотиком 2'-фукозиллактози може призвести до появи ефектів на системні метаболіти через його вплив на склад мікробіоти, що розвивається, і наступний вплив цих мікроорганізмів на метаболічну активність кишечника. Збагачення дитячої суміші 2'-фукозиллактози призводить до дозозалежного відновлення певних метаболітів, отриманих від мікробної активності в шлунково-кишковому тракті, зокрема вторинних жовчевих кислот. Ці вторинні жовчні кислоти відіграють передбачувану роль у розвитку та підтримці імунного гомеостазу. Дослідження підтверджують кореляцію між підвищеними рівнями циркулюючих вторинних жовчевих кислот і активацією системних імунних медіаторів [31].

РОЗДІЛ II. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1. Об'єкти та методи досліджень

Дослідження проводили на базі кафедри біохімії та біотехнології Чернівецького національного університету імені Юрія Федьковича. Експерименти над тваринами проводили згідно з Міжнародними вимогами про гуманне ставлення до тварин та виконанням вимог Директиви 86/609/ЄЕС стосовно питання захисту тварин.

В ході експерименту використовували білих безпородних щурів з початковою масою тіла 90-130 г, яких утримували в пластмасових клітках, розміщених у лабораторних кімнатах віварію. Лабораторні тварини знаходились на різних харчових раціонах та за умов вільного доступу до води.

У ході експерименту дослідних тварин було розділено на 3 групи:

I — тварини, які споживали повноцінний раціон, рекомендований Американським інститутом харчування AIN-93 (K);

II — щури, які впродовж експерименту отримували молоко «Селянське 2,5 %» (M);

III — тварини, які споживали молочну суміш «Similac Pro-Total Comfort» (C).

Дослідні тварини II та III груп впродовж експерименту споживали стандартний раціон віварію та одночасно отримували по 30 мл молока «Селянське» та молочної суміші «Similac Pro-Total Comfort» відповідно з вільним доступом до води та зерна.

Вимірювання маси тіла щурів проводили раз в 4 дні.

Умертвіння тварин проводили під легким наркозом. Використовуючи хлороформ, на 28-у добу після початку експерименту в спеціальній секційній кімнаті за відсутності інших тварин. Перед початком розтину зважували кожну тварину. Розтин тварин виконувався стерильними інструментами та в стерильних умовах.

Для подальших досліджень відбирали сироватку крові та органи: печінку, селезінку, підшлункову залозу та нирки.

2.2. Оцінка маси органів та коефіцієнти маси органів

Оцінку маси органів проводили на лабораторних вагах. Органи були окремо зважені — печінка, селезінка, нирки та підшлункова залоза. Маса кожного органу зафіксована в грамах. Отримані дані про масу тварин та їх органи оброблено та розраховано — середні значення маси кожного органу та маси тіла, коефіцієнти мас органів для всіх груп тварин.

2.3. Отримання сироватки крові

Пробірки попередньо прогрівають до температури тіла тварини. Взявши кров у тварини, отримують сироватку крові шляхом відстоювання. Обережно зливають сироватку (не менше 0,5-1,0 мл) в пробірку об'ємом 1,5-2 мл (типу Епендорф), яка щільно закривається [32].

2.4. Визначення концентрації глюкози

Визначення вмісту глюкози проводили за інструкцією виробника ТОВ НВП «Філісіт-Діагностика» глюкозооксидазним методом з використанням біореагенту. Принцип методу полягає в присутності глюкозооксидази киснем повітря, який використовується для окислення глюкози в глюконову кислоту і перекис водню. За наявності пероксидази глюконова кислота і перекис водню реагують з фенолом та 4-амінофеназоном утворюючи червонувато-фіолетовий хінонімін, який можна визначити фотометрично

Для вимірювання використовували холосту (контрольну), калібрувальну та дослідну проби. За допомогою автоматичної піпетки в кожному з пробірок вносили спочатку по 0,02 мл калібрувального розчину та сироватку крові в кожному відповідну пробірку. Далі в кожному з пробірок додавали по 1 мл буферного розчину та розчину ензимів. Ретельно змішавши вміст пробірок,

перемістили пробірки в камеру термостату та інкубували 12 хв проби. Визначали екстинкцію отриманих розчинів на ФЕКу при довжині хвилі 525 нм. Дані нотували в зошит лабораторних досліджень.

Концентрацію глюкози в дослідних пробах визначали за формулою:

$$C = (E_{\text{досл.}} / E_{\text{кал.}}) \times K \times 10, \text{ де}$$

C — концентрація глюкози в дослідній пробі, ммоль/л;

10 — концентрація глюкози в калібрувальному розчині, ммоль/л;

E_{досл.} — оптична щільність дослідної проби, од. опт. щільності;

E_{кал.} — оптична щільність калібрувальної проби, од. опт. щільності

K — коефіцієнт розведення (=1).

2.5. Визначення рівня інсуліну

Рівень інсуліну у крові визначали методом імуноферментного аналізу. Перед початком аналізу усі реагенти були доведені до кімнатної температури.

За допомогою автоматичної піпетки з чистим носиком у кожную лунку додавали спочатку по 25 мкл калібрувальних проб зразків та по 25 мкл кон'югату. Потім протягом 10 секунд ретельно перемішували вміст лунок та інкубували впродовж 30 хв при кімнатній температурі. Після чого струшували вміст лунок для вилучення попереднього реагенту та тричі промивали спеціальним розчином для промивання.

Згодом залишки розчину струшували, після чого у кожную лунку вносили 50 мкл ферментативного комплексу інкубуючи 30 хв при кімнатній температурі. Далі, кожную лунку попередньо стряхнули та ретельно тричі промили розчином для промивання.

Наступним кроком було додано в кожную лунку по 50 мкл розчину ТМБ, після чого протягом 15 хвилин інкубували в темному місці при кімнатній температурі. В кожную лунку для зупинки ферментативної реакції вносили по 50 мкл стоп-реагента. На спектофотометрі оптичну густину вимірювали при довжині хвилі 450 нм.

2.6. Визначення рівня С-пептиду

У кожному лунку спеціальних стрипів, використовуючи завчасно підготовлені реагенти, вносили по 100 мкл сироватки крові. Після цього додавали 50 мкл атисироватки та 100 мкл кон'югату у кожен лунку відповідно. Проби ретельно змішували впродовж 10 секунд до повного розмішування.

Далі після 60-хвилинної інкубації при температурі $+37^{\circ}\text{C}$ у термошейкері зі швидкістю 400-500 об/хв вміст лунок перемішали та тричі ретельно промивали розчином для промивання.

Наступним кроком було додавання по 100 мкл розчину ферментативного комплексу у кожен лунку з подальшим інкубуванням впродовж 30 хвилин при кімнатній температурі. Вміст лунок промили спеціальним розведеним розчином тричі.

У кожну промиту лунку додали 100 мкл розчину ТМБ та знову протягом 20 хвилин інкубували. У всі лунки вносили по 100 мкл стоп-реагенту для зупинки ферментативної реакції. Оптичну густину вимірювали при довжині хвилі 450 нм.

2.7. Статистична обробка результатів

На персональному комп'ютері за допомогою програми Microsoft Excel оброблено статистичні результати досліджень, використовуючи різні методи варіаційної статистики. Зокрема визначали середньоарифметичне та похибку середньоарифметичного. За допомогою метода варіаційної статистики із використанням критерію Стюдента (t) визначали показник достовірності (P). Цифрові результати та значення наведені в графіках.

РОЗДІЛ III. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Грудне молоко є оптимальним джерелом поживних речовин для немовлят. Молоко також служить транспортним засобом для передачі факторів росту, коменсальних мікроорганізмів і пребіотичних сполук до незрілого шлунково-кишкового тракту. Ці імуномодулюючі та пребіотичні функції молока все більше оцінюються як критичні фактори розвитку кишківника немовляти та пов'язаного з ним мікробного співтовариства. Досягнення в композиції сумішей для немовлят спрямовані на повторення деяких пребіотичних та імуномодулюючих функцій молока шляхом збагачення олігосахаридами грудного молока з метою сприяння здоровому розвитку як у шлунково-кишковому тракті, так і системно [33].

Фахівці давно стверджують, що виключно грудне вигодовування є найкращим джерелом харчування та імунного захисту в ранньому віці. Виняткові консультативні групи, включаючи Американську академію педіатрії і Всесвітню організацію охорони здоров'я, настійно заохочують виключно грудне вигодовування до 12-місячного віку. Однак доступ до медичного обслуговування, культурні очікування та робота поза домом можуть становити значні проблеми для виключного та тривалого грудного вигодовування. Крім того, є незвичайні, але переконливі випадки, коли грудне вигодовування може бути протипоказане, наприклад, у немовлят зі значними порушеннями обміну речовин, у матерів, які проходять променеву терапію або приймають певні фармакологічні агенти, які можуть передаватися через молоко, наявність деяких трансмісивних інфекційних захворювань, або після мастектомії. Таким чином, надання повноцінних дитячих сумішей для підтримки імунної системи, що розвивається, залишається основною метою досліджень дитячого харчування.

На першому етапі наше дослідження передбачало оцінку морфометричних параметрів органів щурів, які отримували впродовж 28 днів

експерименту молочну суміш «Similac Pro-Total Comfort» та молоко «Селянське».

Результати проведених досліджень показали збільшення маси тіла в обох дослідних групах щурів. Відповідно показник маси тіла тварин, які споживали молоко «Селянське», збільшується в 1,8 рази порівняно з контролем, та становив $167,8 \pm 6,5$ г. Водночас щурі, які отримували молочну суміш «Similac Pro-Total Comfort» набирали у вазі до $186,5 \pm 10,5$ г, що в 2 рази перевищувало значення контрольних тварин (рис. 1).

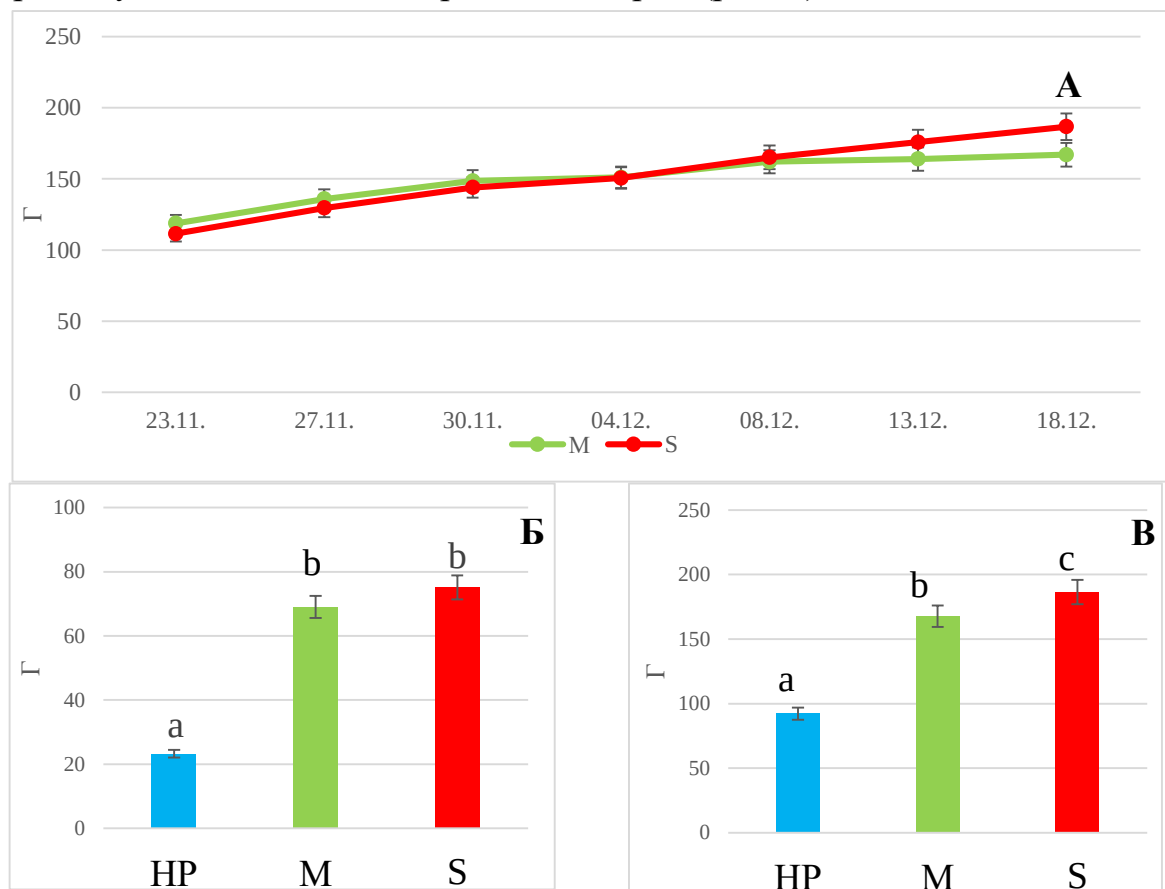


Рис. 1. Зміна маси тіла дослідних тварин впродовж експерименту

А – динаміка зміни маси тіла; Б – питомий приріст ваги; В – маса тіла тварин наприкінці експерименту

Примітка (тут і надалі): HP – група тварин які споживали напівсинтетичний раціон(контроль); М – щури, які отримували молоко «Селянське»; S – щури, які отримували «Similac Pro-Total Comfort»; a, b, c – статистично вірогідна різниця між групами тварин.

Після 28-ми днів перебування тварин на різних раціонах та відповідно за умов споживання молока «Селянське» та молочної суміші «Similac Pro-Total Comfort» нами здійснено оцінку морфометричних показників органів щурів контрольної та дослідних груп. Отримані значення представлені в таблиці 3.1.

Таблиця 3.1.

Маси органів за умов споживання молока «Селянське» та молочної суміші «Similac Pro-Total Comfort»

Групи тварин	Контроль	Молоко «Селянське»	Суміш «Similac»
Печінка	3,64±0,08	7,52±0,53*	7,64±0,66*
Селезінка	0,22±0,02	0,36±0,04*	0,78±0,14*#
Нирки	1,14±0,15	1,40±0,07	1,51±0,08
Підшлункова залоза	0,37±0,04	0,51±0,12*	0,78±0,06*#

Примітка:

* – статистично вірогідна різниця порівняно з контролем,

– статистично вірогідна різниця порівняно з групою тварин, які споживали молоко «Селянське».

Отримані нами дані засвідчують у щурів, які отримували молоко «Селянське» спостерігається збільшення маси печінки (в 2 рази), селезінки (в 1,6 рази) та підшлункової залози (в 1,4 рази) відповідно порівняно з контролем. Тоді як у тварин, які отримували молочну суміш «Similac Pro-Total Comfort» нами зареєстровано збільшення маси печінки (в 2 рази), селезінки (в 3,5 рази) та підшлункової залози (в 2,1 рази) відповідно порівняно з контрольними величинами.

Слід зауважити, що маси селезінки (в 2,2 рази) та підшлункової залози (в 1,5 рази) у тварин, які отримували молочну суміш «Similac Pro-Total Comfort» виявилися вищими й порівняно з показниками у тварин, які

впродовж експерименту споживали ультрапастеризоване молоко 2,5 % «Селянське».

Отримані нами результати підтверджуються змінами відповідних коефіцієнтів маси органів. Різниця коефіцієнтів мас органів, зокрема показник коефіцієнту маси селезінки та підшлункової залози у груп тварин, які вживали молоко «Селянське» та молочну суміш «Similac Pro-Total Comfort» вірогідно перевищували значення контрольних величин та статистично відрізнялися в межах двох дослідних груп (рис. 3.2).

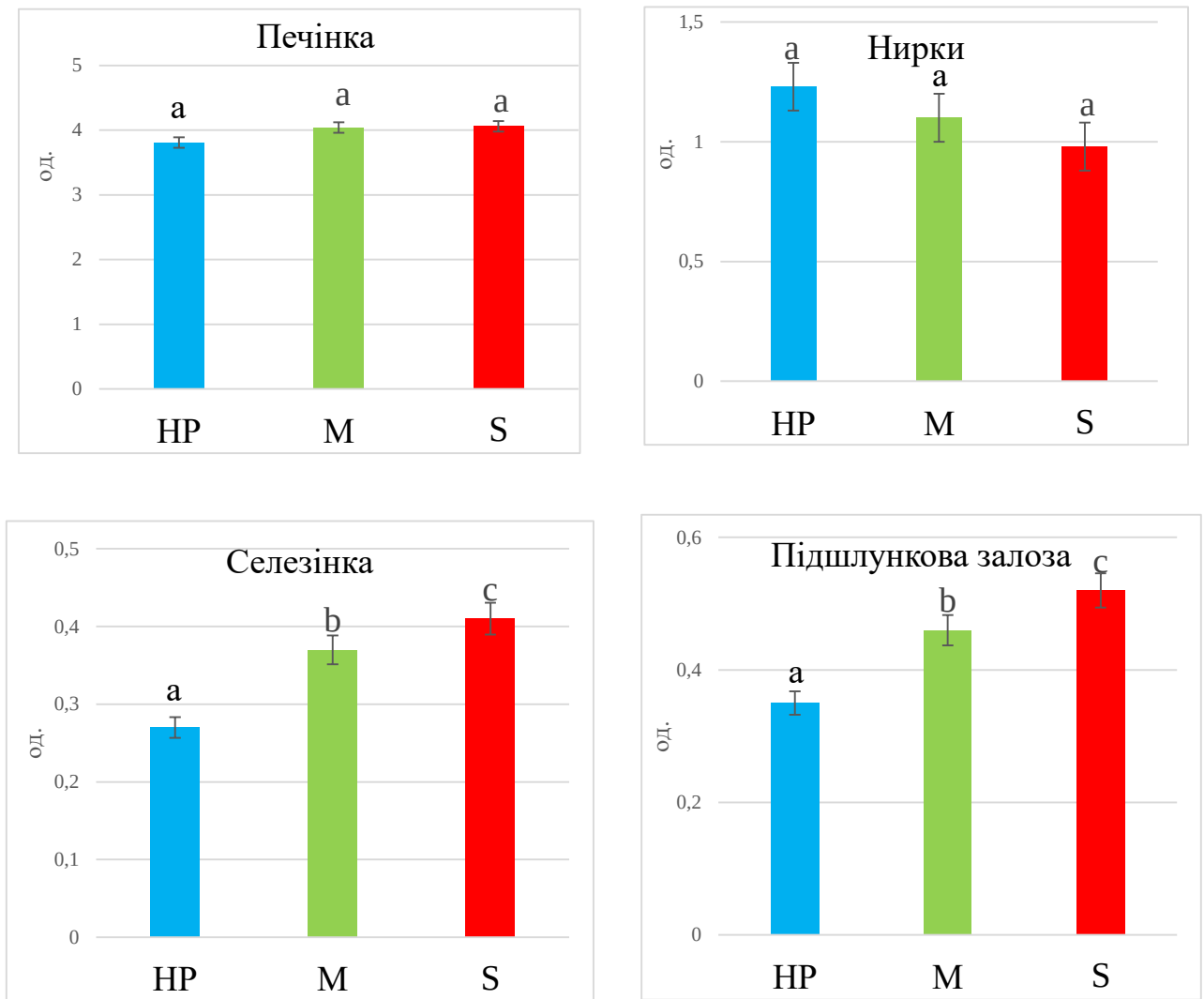


Рис. 3.2. Коефіцієнти маси органів щурів за умов споживання молока «Селянське» та молочної суміші «Similac Pro-Total Comfort»

Отже, 28-денне споживання тваринами молока «Селянське» та молочної суміші «Similac Pro-Total Comfort» супроводжувалось збільшенням індексів маси лише селезінки та підшлункової залози.

Тому наступним етапом нашої роботи стала оцінка рівня глюкози в сироватці крові щурів та ендокринної функції підшлункової залози за даних експериментальних умов.

Результати проведених нами досліджень засвідчують, що в сироватці крові щурів, які щоденно впродовж 28 днів отримували молоко «Селянське», спостерігається підвищення вмісту глюкози в 1,7 рази порівняно зі значеннями контролю. У тварин, які отримували молочну суміш «Similac Pro-Total Comfort» зростання даного показника відбувається 1,4 рази (рис. 3.3). Виходячи з отриманих результатів, незалежно від споживання молока «Селянське» чи молочної суміші «Similac Pro-Total Comfort» тварин обох дослідних груп зареєстровано розвиток гіперглікемії.

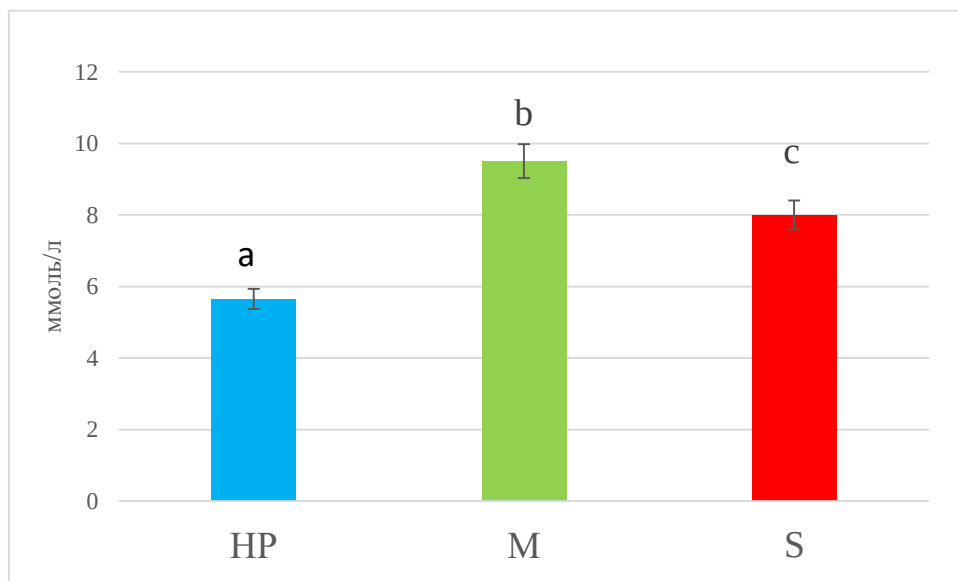


Рис. 3.3. Концентрація глюкози в сироватці крові щурів за умов споживання молока «Селянське» та молочної суміші «Similac Pro-Total Comfort»

Споживання молока було досліджено на предмет зв'язку з різноманітними наслідками для здоров'я у великій кількості мета-аналізів. Молоко містить 18 із 22 основних поживних речовин, включаючи різноманітні біоактивні пептиди та жирні кислоти, такі як казеїни, сироваткові білки, молочні полярні ліпіди (MPL), α -ліноленова кислота (ALA), кон'югована лінолева кислота (CLA), пальмітинова кислота, лактоза та інші незначні компоненти (тобто кальцій, фосфор, магній і вітамін D), які мають важливий вплив на обмін речовин. Докази показали, що молоко має широкий спектр фізіологічних функцій, включаючи антиканцерогенну, протизапальну, антиоксидантну, антиадипогенну, антигіпертензивну, і проти остеопорозу. Проте в літературі є відомості, що споживання молока було навпаки пов'язане з ризиком цукрового діабету 2 типу, метаболічного синдрому та ожиріння [34].

Все частіше вважають, що коров'яче молоко відіграє роль у розвитку хронічних дегенеративних неінфекційних захворювань, тоді як козяче молоко має ряд переваг для здоров'я. Коров'яче молоко є багатим і дешевим джерелом білка і кальцію, а також цінним продуктом харчування для здоров'я кісток. Раннє введення коров'ячого молока є сильною негативною детермінантою статусу заліза. Немодифіковане коров'яче молоко не відповідає харчовим вимогам немовлят, хоча допускається додавати невеликі об'єми коров'ячого молока до прикорму. Алергія на білок коров'ячого молока поширена в діапазоні від 2 до 7%, а вік одужання зазвичай становить близько 2-3 років. Докази, що зв'язують споживання коров'ячого молока з пізнім ризиком розвитку діабету 1 типу або хронічних дегенеративних неінфекційних розладів (ожиріння, метаболічний синдром, діабет 2 типу, гіпертонія), не є переконливими, але все ж таки зустрічаються в літературі [35].

Натомість у літературі [36] зазначено, що при споживанні стандартної молочної суміші на основі коров'ячого молока, сумішей без лактози та суміші на основі соєвого білка мали подібний підвищений глікемічний індекс, незважаючи на різний склад.

Комерційні дитячі суміші намагаються імітувати унікальний склад грудного молока. Після води вуглеводи є найбільш поширеною поживною речовиною в грудному молоці у формі лактози та олігосахаридів. І лактоза, і молочні білки сприяють низькому глікемічному індексу. Продукти з низьким глікемічним індексом є бажаним компонентом харчування в сучасну епоху, і епідеміологічні дані свідчать про багато переваг дієти з низьким глікемічним індексом. Проте як лактозу, так і молочні білки часто замінюють у сумішах для немовлят замінниками через медичні причини, такі як метаболічні захворювання (наприклад, галактоземія) та алергія на білок коров'ячого молока, а також через особисті переваги (наприклад, релігія та веганство). Основними альтернативами вуглеводів у сумішах для немовлят є сахароза, кукурудзяний сироп і тапіока або кукурудзяний крохмаль. Однією з альтернатив молочному білку є суміш на основі соєвого білка.

В літературі [36] зазначено, що споживання суміші на основі соєвого білка призводить до значно більшого підвищення пікових рівнів глюкози. Наслідки подібних глікемічних індексів, але різних пікових рівнів глюкози ще належить дослідити, але вони можуть вказувати на швидкі зміни концентрації глюкози в крові після споживання суміші на основі соєвого білка.

Слід зазначити, що в молочній суміші «Similac Pro-Total Comfort», яку отримували дослідні тварини містить велика кількість соєвої олії, що може слугувати поясненням однією із причин зростання рівня глюкози в сироватці крові (рис. 3.3).

Ще одним моментом, на якому слід акцентувати увагу, є те, що до складу даної суміші «Similac Pro-Total Comfort» входить кукурудзяний мальтодекстрин. Це рослинний полісахарид, який є формально складним вуглеводом (містить багато молекул глюкози) та майже миттєвою трансформуються у простий вуглевод (одичичну молекулу глюкозу) під час травлення. Відомий під індексом DE 18-20, є легкозасвоюваним і добре

розчинним у воді, складається з молекул мальтози, глюкози і декстрину, іноді включає в себе диметилкетон та деякі інші органічні сполуки.[37]

Тому можна припустити, що наявність даного складника у молочній суміші «Similac Pro-Total Comfort» може також призводити до розвитку гіперглікемії

Отже, у тварин незалежно від споживання молока «Селянське» чи молочної суміші «Similac Pro-Total Comfort» відбувається підвищення рівня глюкози, що характеризується розвитком гіперглікемії.

Встановлена нами гіперглікемія у щурів обох дослідних груп безумовно наштовхнула думку щодо оцінки ендокринної функції підшлункової залози за даних експериментальних умов.

Встановлено, що рівень інсуліну в сироватці крові щурів, які споживали молоко «Селянське» та молочну суміш «Similac Pro-Total Comfort» зростає в 3,4 та 2 рази відповідно порівняно з контролем (рис. 3.4).

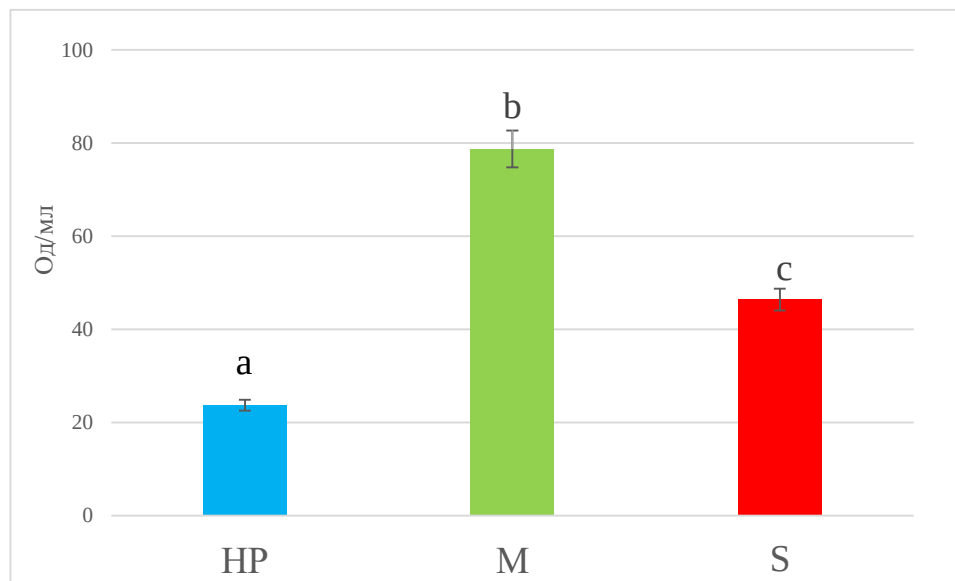


Рис. 3.4. Концентрація інсуліну в сироватці крові щурів за умов споживання молока «Селянське» та молочної суміші «Similac Pro-Total Comfort»

Високий показник рівня інсуліну в сироватці крові щурів, які отримували молоко [38] «Селянське» можна пояснити з наступних позицій. У літературі зазначено, що, наприклад, цукровий діабет 1 типу базується на

аутоімунітеті, і його розвиток частково визначається факторами зовнішнього середовища. Серед них споживання молока обговорюється як відігравання патогенної ролі. Географічні та часові зв'язки між поширеністю діабету 1 типу та споживанням коров'ячого молока були виявлені в екологічних дослідженнях. Кілька досліджень типу «випадок-контроль» виявили негативну кореляцію між частотою та/або тривалістю грудного вигодовування та діабетом, але це підтверджено не всіма авторами. Вважається, що Т-клітинні та гуморальні реакції, пов'язані з білками коров'ячого молока, викликають діабет. На відміну від діабету 1 типу, етіологія діабету 2 типу, що характеризується резистентністю до інсуліну, досі не з'ясована. У популяції з високою поширеністю діабету 2 типу, люди, які були виключно на грудному вигодовуванні, мали значно нижчий рівень діабету 2 типу, ніж ті, хто був виключно на штучному вигодовуванні. Дослідження [38] свідчать про те, що споживання молочних продуктів із низьким вмістом жиру пов'язане зі зниженням захворюваності та смертності від діабету та зниженням артеріального тиску. Навпаки, перевага дієти з високим вмістом тваринного жиру може бути патогенним фактором, а молоко та молочні продукти з високим вмістом жиру сприяють значному споживанню жиру в їжі. Що стосується складу молочного жиру, слід враховувати протилежні ефекти різних жирних кислот (насичених жирних кислот, транс-жирних кислот, кон'югованої лінолевої кислоти) *in vitro*, у тварин і людей.

Натомість високий вміст білка в молочній суміші може стимулювати вивільнення інсуліну у немовлят на штучному вигодовуванні та позитивно пов'язаний із ризиком надмірної ваги. Дослідження показали, що немовлята, які перебувають на штучному вигодовуванні, мають вищі рівні інсуліну в плазмі після прийому їжі та подовжену відповідь на інсулін на 6-й день свого життя, ніж немовлята, які перебувають на грудному вигодовуванні. Більше споживання білка призводить до підвищення концентрації інсуліну та інсуліноподібного фактора росту (IGF-I), що сприяє відкладенню жирової

тканини та ризику надмірної ваги, ожиріння та діабету 2 типу в подальшому [39].

Інсулін — це поліпептидний гормон, що складається з 51 амінокислоти з молекулярною масою 5808 Да, який виділяється підшлунковою залозою. Насамперед бере участь в анаболічних процесах, включаючи ріст і розвиток тканин. Окрім того, що інсулін контролює метаболізм ліпідів, стимулюючи синтез ліпідів у печінці та жирових клітинах, і послаблюючи тим самим ліполіз, тобто розпад тригліцеридів до жирних кислот, він також є центральним регуляторним гормоном у підтримці гомеостазу глюкози. Це відбувається за регуляцією синтезу глюкози печінкою, меншою мірою нирками, а також поглинання периферичними тканинами, включаючи скелетні м'язи, печінку та жирову тканину [40].

Як правило, резистентність до інсуліну розглядається так як із зниженням чутливості або відповідь на метаболічні дії інсуліну, так і утилізацію глюкози інсуліном [41]. Отже, це говорить про те, що розвиток інсулінорезистентності відбувається як у групі тварин, що споживали молоко «Селянське» більшою мірою, так і у групі тварин, які отримували молочну суміш «Similac».

Інсулінорезистентність клінічно визначається як нездатність відомої кількості екзогенного або ендогенного інсуліну збільшити поглинання та використання глюкози в індивідумі так само, як це відбувається у нормальній популяції. Дія інсуліну є наслідком зв'язування інсуліну з рецептором його плазматичної мембрани та передається через клітину за допомогою серії білок-білкових взаємодій. Два основні каскади білок-білкових взаємодій опосередковують внутрішньоклітинну дію інсуліну: один шлях бере участь у регуляції проміжного метаболізму, а інший відіграє роль у контролі процесів росту та мітозів. Регулювання цих двох різних шляхів може бути роз'єднане. Дійсно, деякі дані свідчать про те, що шлях регуляції проміжного метаболізму при цукровому діабеті 2 типу порушується, тоді як регуляція процесів росту

та мітозів є нормальною. Було запропоновано кілька механізмів як можливих причин, що лежать в основі розвитку інсулінорезистентності та синдрому інсулінорезистентності. До них належать: (1) генетичні аномалії одного або кількох білків каскаду дії інсуліну (2) гіпотрофія плода (3) збільшення вісцерального ожиріння. Інсулінорезистентність виникає як частина групи серцево-судинних і метаболічних аномалій, які зазвичай називають «синдромом інсулінорезистентності» або «метаболічним синдромом»[42]

Реавен припустив, що інсулінорезистентність (ІР), яка проявляється у вигляді гіперінсулінемії, є рушійним фактором розвитку дисліпідемії, підвищення артеріального тиску та зміни метаболізму глюкози. Визначення ІР у фізіологічних термінах полягає в тому, що потрібні більші концентрації інсуліну, щоб викликати фізіологічний ефект, який раніше був викликаний нижчими концентраціями гормону. Слід зазначити, що основним фактором, що визначає концентрацію інсуліну, є його вплив на метаболізм глюкози. Таким чином, більший рівень глюкози в плазмі, незалежно від того, отримано з ендогенних (вироблення глюкози в печінці) чи екзогенних (дієтичні) джерел призведе до вищих концентрацій інсуліну за умови, що ємність бета-клітин збережена, чого не відбувається у пацієнтів з діабетом.

Чутливість до інсуліну відрізняється між кількома органами, які реагують на інсулін, так що, наприклад, за певних умов вироблення глюкози в печінці може бути адекватно пригнічено, тоді як поглинання глюкози м'язами може бути низьким при дії тієї самої концентрації інсуліну. Крім того, ІР у контексті метаболічного синдрому може бути присутньою саме в шляху передачі сигналу інсуліну, пов'язаному з метаболізмом глюкози в тканині, але не в інших внутрішньоклітинних елементах цього шляху, пов'язаних з іншими функціями, такими як метаболізм ліпідів або проліферація. Наприклад, це може означати, що резистентність до інсуліну при пригніченні шляху глюконеогенезу в печінці може призвести до вищих системних концентрацій інсуліну, але відповідь на паралельні ефекти інсуліну в печінці [такі як синтез

ліпопротеїнів дуже низької щільності (ЛПДНЩ)] може не порушуватися і таким чином адекватно реагувати на вищі концентрації інсуліну шляхом збільшення метаболічного потоку в цьому сегменті шляху [43]

Основними тканинами, чутливими до інсуліну, пов'язаними з метаболізмом глюкози, є печінка, скелетні м'язи та жирова тканина. Під час голодування виробництво глюкози в печінці регулюється базальним рівнем інсуліну, тоді як поглинання глюкози з плазми м'язами є низьким, а жирова тканина забезпечує вільні жирні кислоти (ВЖК) через ліполіз як джерело енергії.

У стані після прийому їжі, тобто коли рівень інсуліну підвищений, виробництво глюкози в печінці та ліполіз жирової тканини пригнічуються, тоді як поглинання глюкози м'язами збільшується. Це досягається шляхом пригнічення глюконеогенезу та розпаду глікогену в печінці та збільшенням транспортування транспортера глюкози типу 4 у м'язах.

В умовах після прийому їжі ліпогенез активується в жировій тканині, а ліполіз пригнічується. Основним регулятором секреції інсуліну є концентрація глюкози в плазмі. Якщо, наприклад, спостерігається підвищення ІР у скелетних м'язах, знадобляться більші концентрації інсуліну, щоб індукувати поглинання глюкози м'язами. Якщо присутній ІР печінки (тобто резистентність у шляху передачі сигналу інсуліну, що регулює глюконеогенез), для підтримки нормального рівня глюкози натщесерце будуть необхідні більші базальні концентрації інсуліну.

Обидва приклади, які зазвичай певною мірою відбуваються одночасно, призводять до відносної гіперінсулінемії, якій піддаються всі тканини та органи. У цьому сценарії метаболічні шляхи, які регулюються інсуліном, але не обов'язково пов'язані з глюкозою, будуть активовані в надлишку, оскільки немає опору в цих елементах шляху передачі сигналу інсуліну. Наприклад, у нирках інсулін стимулює посилену реабсорбцію натрію. В умовах системної гіперінсулінемії це призведе до надмірної реабсорбції натрію, що призведе до

збільшення внутрішньосудинного об'єму та потенційно до підвищення артеріального тиску. Було показано, що інсулінорезистентні особи мають послаблену натрійуретичну реакцію на підвищене споживання натрію [44]

Цікавим є ще один момент. Критичними молекулами, які безпосередньо беруть участь у розвитку резистентності до інсуліну на рівні тканин, є ліпіди, такі як диацилгліцероли (DAG), які є проміжними продуктами синтезу триацилгліцеролів (TAG). На відміну від TAG, які вважаються безпечною формою зберігання ліпідів, DAG є біоактивними ліпідами, які, як було показано, безпосередньо впливають на передачу сигналів інсуліну. І навпаки, терапевтичний підхід, який знижує DAG, може покращити ІР.

Пребіотики – це неперетравлювані харчові інгредієнти, такі як складні олігосахариди. Вважається, що ці неперетравлювані олігосахариди можуть принести користь здоров'ю організму-господаря, сприяючи росту або активності специфічних мікроорганізмів у кишечнику, наприклад, стимулюючи ріст *Bifidobacterium genera*. Нещодавній мета-аналіз показав, що лікування пребіотиками може покращити маркери цілісності печінки, такі як АЛТ у пацієнтів з неалкогольною жировою хворобою печінки (НАЖХП), що свідчить про вплив пребіотиків на печінку за межами кишечника, яка відіграє важливу роль у метаболізмі всього організму.

2'-фукозиллактоза (2'-FL) є найбільш поширеним олігосахаридом жіночого молока, присутнім у грудному молоці людини, і, як повідомляється, захищає від патогенів. Крім того, він може стимулювати ріст корисних кишкових бактерій і пом'якшувати спричинене етанолом пошкодження печінки на моделі гризунів. Передбачуваний вплив ОЛМ 2'-FL на НАЖХП досі не вивчався, і невідомо, чи може 2'-FL зменшити розвиток патології НАЖХП у терапевтичних умовах, тобто при ожирінні, дисліпідемії (високі ЛПДНЩ/ЛПНЩ) та гіперінсулінемії вже на початку прийому добавки 2'-FL.

2'-FL може впливати за межі кишечника та може впливати на більш віддалені органи, такі як печінка, у якій він покращує роботу з ліпідами та

зменшує стеатоз, пов'язаний з ожирінням. Гіперінсулінемія корелювала з внутрішньопечінковими DAG, а лікування 2'-FL зменшувало DAG, а також НОМА-IR і медіатори стресу ендоплазматичного ретикулуму. Поліпшення мікровезикулярного стеатозу за допомогою 2'-FL підтримується покращеним катаболізмом ліпідів і пригніченням сигнальних шляхів ліпогенезу *de novo*. Таким чином, специфічні ОЛМ, такі як 2'-FL, можуть бути засобом для корекції кишкової дисфункції, дисметаболізму та резистентності до інсуліну, які всі сприяють розвитку метаболічних захворювань, включаючи НАЖХП.

Отже, споживання молока «Селянське» супроводжується виникненням явно вираженої гіперінсулінемії, що може призводити до розвитку інсулінорезистентності, тоді як надходження молочної суміші «Similac Pro-Total Comfort» призводить до підвищення рівня інсуліну в незначних кількостях.

ВИСНОВКИ

1. 28-денне споживання тваринами молока «Селянське» та молочної суміші «Similac Pro-Total Comfort» супроводжувалось збільшенням індексів маси лише селезінки та підшлункової залози.
2. У тварин незалежно від споживання молока «Селянське» чи молочної суміші «Similac Pro-Total Comfort» відбувається підвищення рівня глюкози, що характеризується розвитком гіперглікемії
3. Споживання молока «Селянське» супроводжується виникненням явно вираженої гіперінсулінемії, що може призводити до розвитку інсулінорезистентності, тоді як надходження молочної суміші «Similac Pro-Total Comfort» призводить до підвищення рівня інсуліну в незначних кількостях.