

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ЧЕРНІВЕЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ ЮРІЯ ФЕДЬКОВИЧА
Навчально-науковий інститут біології, хімії та біоресурсів
Кафедра біохімії та біотехнології

ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН ПЕЧІНКИ ЩУРІВ ЗА УМОВ
СПОЖИВАННЯ МОЛОЧНИХ СУМІШЕЙ ДЛЯ ДИТЯЧОГО
ХАРЧУВАННЯ

Дипломна робота

Рівень вищої освіти – другий (магістерський)

Виконала:

студентка 6 курсу, 611 М групи
Хабайло Олександра Юріївна

Керівник:

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

До захисту допущено
на засіданні кафедри
протокол № _____ від _____ 2024 р.
Зав. кафедрою _____ проф. Копильчук Г.П.

Чернівці – 2024

АНОТАЦІЯ

Магістерська робота присвячена дослідженню функціонального стану печінки щурів за умов споживання молочних сумішей для дитячого харчування. У роботі досліджено вміст триацилгліцеролів та загального холестеролу, активність мембранозв'язаних ензимів – лужної фосфатази та гамма-глутамілтрансферази, активність ензимів цитолізу – аланінамінотрансферази та аспартатамінотрансферази в сироватці крові щурів.

Встановлено, що зростання рівня триацилгліцеролів в сироватці крові спостерігається лише за умов споживання тваринами молочних сумішей *Gerber* та *Similac*.

Показано зниження рівня загального холестеролу в сироватці крові зареєстровано у щурів, які впродовж експерименту отримували молоко *Селянське* та молочну суміш *Gerber*.

Встановлено, що виражені ознаки холестатичного синдрому за рахунок підвищення рівня лужної фосфатази й гамма-глутамілтрансферази та цитолізу зі зростанням активності аланінамінотрансферази у сироватці крові спостерігались лише за умов споживання молока *Селянське* та молочної суміші *Gerber*.

Ключові слова: холестерол, триацилгліцероли, лужна фосфатаза, гамма-глутамілтрансфераза, аланінамінотрансфераза, аспартатамінотрасфераза, печінка

ABSTRACT

The master's work is dedicated to the investigation of the functional state of the liver of the schuriv for the minds of the production of milk bags for children's food. In the robot, instead of triacylglycerols and cholesterol, the activity of membrane-binding enzymes - necessary phosphatase and gamma-glutamyltransferase, the activity of cytolysis enzymes - alanine aminotransferase and aspartate aminotransferases in blood serum of squirrels.

It has been established that the increase in the level of triacylglycerols in the blood serum is caused by the consumption of Gerber and Similac milk products.

It was shown that a decrease in the level of cholesterol in the blood of the syringe was recorded in the syringes, who during the experiment were fed with Selyanske milk and Gerber milk sum.

It was established that the expression of signs of cholestatic syndrome due to the increase in the level of urinary phosphatase and gamma-glutamyltransferase and cytolysis due to the increased activity of alanine aminotransferase in syrous blood was avoided. for the minds of the production of Selyanske milk and the Gerber milk sum.

Key words: *cholesterol, triacylglycerols, hydroxyphosphatase, gamma-glutamyltransferase, alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, liver*

Кваліфікаційна робота включає результати власних досліджень. Ідеї, результати та тексти наукових робіт інших авторів повинні супроводжуватися посиланнями на відповідні джерела.

_____ **О.Ю. Хабайло**
(підпис)

ЗМІСТ

ВСТУП.....	5
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.....	7
1.1. Особливості біохімічного складу молока.....	7
1.2. Різновиди дитячих сумішей, їх склад та властивості.....	15
1.2.1. Дитячі суміші на основі сої.....	16
1.2.2. Дитячі молочні суміші для передчасно народжених немовлят.....	18
1.2.3. Гіпоалергенні та неалергенні суміші.....	19
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	21
2.1. Об'єкт і методи дослідження.....	21
2.2. Отримання сироватки крові щурів.....	21
2.3. Визначення рівня триацилгліцеролів в крові.....	22
2.4. Визначення рівня холестеролу в крові.....	23
2.5. Визначення активності аланінамінотрансфери.....	23
2.6. Визначення активності аспартатамінотрансфери.....	24
2.7. Визначення активності гамма-глутамілтрансфери.....	24
2.8. Визначення активності лужної фосфатази.....	25
2.9. Статистичний аналіз даних.....	25
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ.....	26
ВИСНОВКИ.....	39
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	40
ДОДАТКИ.....	45

ВСТУП

Харчування немовлят є важливою детермінантою майбутнього. На сьогоднішній день в науковій літературі задокументовані довгострокові переваги грудного вигодовування у зміцненні здоров'я матері та дитини [12, 28].

Грудне молоко — це дуже складна складна рідина поживних речовин для росту немовляти, що складається переважно з жиру, вуглеводів і білків, а також мінералів, вітамінів та інших поживних речовин. Делікатний баланс поживних речовин і динамічний процес лактації роблять жіноче молоко єдиною харчовою речовиною протягом життя, яка є достатнім як єдине джерело харчування протягом певного періоду життя немовляти. Біохімія жіночого молока змінюється протягом етапів грудного вигодовування та залежно від потреб немовляти та вимог щодо росту та розвитку [28].

У жіночому молоці 87% маси складається з води, 1% білка, 4% ліпідів і 7% вуглеводів (з них 1-2,4% - олігосахариди). Також в ньому присутні різноманітні мінерали (кальцій, фосфор, магній, калій, натрій, хлорид і ряд мікроелементів), а також всі необхідні вітаміни. Деякі мінорні білки більш поширені в жіночому молоці (лізоцим, лактоферин тощо), а також небілкова фракція азоту (сечовина та вільні амінокислоти, включаючи таурин, нуклеотиди тощо) [19].

Незважаючи на збільшення обсягу знань, показники грудного вигодовування залишаються нижчими за рекомендовані норми; у всьому світі лише 40 % матерів годують своїх дітей виключно грудьми протягом шести місяців [12, 28].

Існують різні фактори, які впливають на рішення щодо початку та тривалості виключно грудного вигодовування, включаючи соціально-демографічні фактори (рівень освіти, місячний дохід родини та паритет), місце проживання та культурні переконання, політику зайнятості, фактори, пов'язані зі здоров'ям, включаючи протипоказання на основі метаболічних розладів, та біосоціальні фактори (підтримка грудного вигодовування) [8, 30].

Порівняно з немовлятами, які перебувають на виключно грудному вигодовуванні, немовлята, що перебувають на штучному вигодовуванні, не тільки позбавлені переваг грудного молока, але й більш схильні до респіраторних інфекцій, середнього отиту, синдрому раптової смерті немовлят та мають більше шансів швидко набрати вагу в перший рік життя, що підвищує ризик розвитку дитячого ожиріння з подальшими ускладненнями [30].

Актуальність полягає в тому, що наразі до всіх вище перелічених факторів зниження тривалості грудного вигодовування додається ще один значущий фактор, який став ледь не першопричиною ранньої втрати грудного молока серед великої кількості українських матерів – негативний вплив на психологічне та матеріальне становище, спричинене початком повномасштабної війни. Українські матері змушені переходити на штучне вигодовування дитячими молочними сумішами [35, 36].

Міжнародний надзвичайний фонд допомоги дітям при Організації Об'єднаних Націй (ЮНІСЕФ) пише в своїй статті: «...в умовах війни, вимушеного переміщення, великого скупчення людей в укриттях, на вокзалах, у потягах, антисанітарії, відсутності доступу до найнеобхіднішого, використання дитячих сумішей несе в собі багато загроз для здоров'я та розвитку малюка. Чим молодше немовля, тим більше ризиків може викликати штучне вигодовування» [36]. Під час повномасштабного вторгнення було отримано велику кількість дитячих молочних сумішей.

Мета роботи – дослідження біомаркерів функціонального стану печінки щурів, вигодовування яких проводили пастеризованим коров'ячим молоком та штучними молочними сумішами Gerber (США) та Similac (США).

Для досягнення мети за даних експериментальних умов нами були поставлені чергові **завдання**:

1. оцінити вміст триацилгліцеролів та загального холестеролу в сироватці крові щурів;
2. дослідити активність мембранозв'язаних ензимів – лужної фосфатази та гамма-глутамілтрансферази в сироватці крові щурів;

3. оцінити активність ензимів цитолізу – аланінамінотрансферази та аспаратамінотрансферази.

РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Особливості біохімічного складу молока

Молочні суміші для немовлят переважно виготовляються з коров'ячого молока, яке вважається найбільш адекватною альтернативою людському молоку. З точки зору гуманізації молока великої рогатої худоби та кіз, знання відмінностей у складі є життєво важливим для розуміння компонентів, які відіграють вирішальну роль у оптимальному зростанні та довгостроковому здоров'ї. Крім того, кількість білків, жирів, вітамінів і мінералів у молоці ссавців змінюється протягом лактації. Основні компоненти людського, коров'ячого та козячого молока охарактеризовано в Таблиці 1.1. [12].

Таблиця 1.1

Біохімічний огляд відмінностей у складі молока ссавців [12]

Складові молока	Людське, 100 мл	Коров'яче, 100 мл	Козяче, 100 мл
Енергія (ккал)	71	60–70	71
Білки (г)	0.90–1.2	1.8–2.0	3.5
Сироваткові протеїни (г)	0.72	0.6	0.6
Казеїн (г)	0.31	2.6	2.11
Казеїн:сироватка	40:60	80:20	70:30
α -лактальбумін (г)	0.15	0.12	0.14
β -лактоглобулін (г)	Відстеж.	0.2–0.4	0.18–0.28
α_{s1} -Казеїн (г)	Дані відсутні	1.2–1.5	5.6
α_{s2} -Казеїн (г)	Дані відсутні	0.3–0.4	19.2
β -Казеїн (г)	0.26–0.44	0.9–1.1	54.8
К-Казеїн (г)	0.09–0.13	0.2–0.4	20.4
Лактоферин (г)	0.15	Відстеж.	20–200
Лізоцим (мг)	50	Відстеж.	0.025
Імуноглобулін А (мкг)	26.2 (мг)	0.1	30–80
Імуноглобулін G (мкг)	2.1 (мг)	0.3–0.6	10–40
Імуноглобулін М (мкг)	3.8 (мг)	0.4–1.0	100–400
Ліпіди (г)	3.8	3.7	3.8

Жирні кислоти (% , моль та г/100 г)			
Масляна кислота (C4:0)	Дані відсутні	3.3%	2.6 г
Капронова кислота (C6:0)	Відстеж.	1.6%	2.9 г
Каприлова кислота (C8:0)	Відстеж.	1.3%	2.7 г
Капринова кислота (C10:0)	1.3%	3.0%	8.4 г
Лауринова кислота (C12:0)	3.1%	3.1%	3.3 г
Міристинова кислота (C14:0)	5.1%	14.2%	10.3 г
Пальмітинова кислота (C16:0)	20.2%	42.9%	24.6 г
Стеаринова кислота (C18:0)	4.8%	5.7%	12.5 г
1-тетрадеканова кислота (C14:1)	Відстеж.	1.4%	Відстеж.
Пальмітолеїнова кислота (C16:1)	3.1%	2.5%	2.2 г
Олеїнова кислота (C18:1)	46.4%	16.7%	28.5 г
Лінолева кислота (C18:2)	13.0%	1.6%	2.2 г
Докозагексаєнова кислота (C22:6)	0.32%	Дані відсутні	Дані відсутні
Вуглеводи (г)			
Лактоза (г)	7.0	4.8	4.1
Мінерали (мг)			
Залізо	70	50	0.07
Кальцій	33	120	134
Фосфор	95	15	121
Магній	3	12	16
Марганець	0.0025–0.003	0.025–0.1	0.032
Фтор	0.005–0.01	0.022–0.007	Дані відсутні
Йод	7	Дані відсутні	0.022
Селен	16.3 мкг	0.0155	0.0013
Мідь	39	20	0.05
Вітаміни			
Жиророзчинні			
Вітамін А	53 мкг	34 мкг	185 (МО)
Вітамін Е (мг)	0.66	0.10	Дані відсутні
Вітамін D (МО)	42	36	2.3

Вітамін К (мг)	1.5	5.8	Дані відсутні
Водорозчинні			
Аскорбінова кислота (мг)	43	48	1.2
Тіамін (мг)	16	42	68
Інше			
Холін (мг)	9	13	Дані відсутні

Людське грудне молоко містить 87 % води, 3,8 % жиру, 1,0 % білка та 7 % лактози. Жир і лактоза, відповідно, забезпечують 50 % і 40 % загальної енергії молока. Однак склад людського грудного молока є динамічним і змінюється з часом, пристосовуючись до мінливих потреб зростаючої дитини. Наприклад, під час кожного періоду годування молоко, яке зціджується першим (переднє молоко), є рідкішим із вищим вмістом лактози, що задовольняє спрагу дитини, а після переднього молока, заднє молоко, має значно вищий вміст жиру для потреби дитини. Також існують варіації щодо стадії вигодовування (вік немовляти), дієти матері, здоров'я матері та впливу навколишнього середовища. В період ранньої лактації в жіночому молоці коливається вміст білка у межах від 1,4 до 1,6 г/100 мл, після трьох-чотирьох місяців лактаційного періоду 0,8-1,0 г/100, та через 6 місяців вміст білка в межах 0,7-0,8 г/100 мл. Концентрація ліпідів також змінюється залежно від харчового раціону матері, а також залежить від набору ваги, спричиненою вагітністю. Примітно, що материнське грудне молоко майже завжди має достатню кількість необхідних поживних речовин для росту та розвитку доношеної дитини, навіть якщо її власне харчування є недостатнім [7].

Загальний вміст білка в коров'ячому молоці коливається в межах 1,8–2,0 г/100 мл, тоді як вміст білка в жіночому молоці нижчий і становить 0,90–1,2 г/100 мл (Таблиця 1.1). Загалом, у коров'ячому молоці помітні значні відмінності в концентрації та складі білка щодо вмісту казеїну, сироватки та ферментів порівняно з людським молоком. Відомо, що ці білки, як людського, так і коров'ячого походження, мають біологічну активність і відіграють фундаментальну роль у метаболізмі, проявляють імуномодулюючі функції та сприяють засвоєнню поживних речовин [12].

В грудному молоці співвідношення сироватки до казеїну змінюється в періоди лактації, де на початку лактаційного періоду коливається між 70:30 і 80:20, а наприкінці лактації понижується до 50:50. Ця частка значно більша порівняно з молоком інших ссавців. У коров'ячому молоці сироваткові білки становлять лише 18% білка молока. Оскільки амінокислотні профілі казеїну та білків сироватки відрізняються, загальний амінокислотний профіль жіночого молока змінюється залежно від стадії лактації [7].

Казеїни. Казеїну в коров'ячому молоці більше, ніж у жіночому (Таблиця 1.1). Низька концентрація казеїну в грудному молоці людини полегшує перетравлення білка в дитячому шлунку, оскільки відомо, що під впливом шлункового соку казеїн формує великі згустки [12, 24].

Сімейства казеїну можна розділити на основі їх амінокислотної послідовності на $\alpha 1$ -казеїн, $\alpha 2$ -казеїн, β -казеїн і К-казеїн (Таблиця 1.1). Ці казеїни присутні в міцелярній формі (90–95%) у коров'ячому молоці; казеїни жіночого молока, подібні за формою, але значно менші за розміром. Казеїни, які присутні в грудному молоці людини, мають антимікробний потенціал для посилення імунної функції в дитинстві. Хоча коров'ячий казеїн багатий на біоактивні молекули, не всі немовлята здатні метаболізувати ці білки. Таким чином, багато виробників дитячих сумішей пропонують альтернативні варіанти джерел білка, такі як соя, щоб пом'якшити ефекти алергенності [12].

Сироваткові протеїни. Основними білками сироватки людського молока є α -лактальбумін, лактаферин і секреторний IgA. До інших білків належать лізоцим, біфідус-фактор, казеїн, фолат-зв'язуючий білок, ензими амілаза, α -1-антитрипсин, ліпаза, антихімотрипсин та гаптокорин [7].

β -лактоглобулін є переважаючим білком сироватки, що міститься в коров'ячому та козячому молоці. α -лактальбумін є домінуючим білком, присутнім в апараті Гольджі молочної залози жінки. На α -лактальбумін припадає майже 60% незамінних амінокислот, включаючи триптофан, амінокислоту, яка міститься більше в грудному молоці людини, ніж у коров'ячому молоці. Щоб компенсувати цю різницю між людським грудним і

коров'ячим молоком, вміст білка в дитячій суміші регулюється до вищого відсотка, щоб зробити амінокислотний склад подібним до людського грудного молока [12].

Сироваткові білки залишаються розчинними у сироватковій фракції молока і можуть зв'язуватися з гліколіпідами та глікопротеїнами, які менш поширені в усіх типах молока (Таблиця 1.1) [12].

Лактоферин — це сіалільований глікопротеїн, що зв'язує залізо, з молекулярною масою приблизно 78 кДа. Кількість лактоферину у молоці змінюється залежно від вищих рівнів, присутніх у молозиві корів та людському молоці. Лактоферин відіграє важливу роль у розвитку шлунково-кишкового тракту та імунітету. Крім того, відомо, що його протизапальні властивості відіграють важливу роль у нейропротекції, як показано на моделях щурів, які страждають від пошкодження головного мозку [12].

Імуноглобуліни IgG, IgA та IgM містяться в усіх видах молока (Таблиця 1.1). Імуноглобуліни, які надходять із молозивом, відіграють важливу роль у розвитку імунітету та служать для захисту новонародженого від ранньої інфекції. Зокрема, IgA присутній у грудному молоці людини в концентраціях, що в 100 разів перевищують ті, що містяться в коров'ячому та козячому молоці (Таблиця 1.1). Гіперімунне молоко з високими концентраціями IgG вважалося потужним протиінфекційним агентом *in vivo*. Незважаючи на те, що IgG є менш стабільним *in vivo*, докладаються зусилля для оптимізації консистенції IgA у гіперімунному коров'ячому молоці з метою досягнення біоактивності, подібної до людського молока [12].

Ферменти. Лізоцим є найвідомішим антимікробним засобом, даного ензиму більше в жіночому молоці порівняно з коров'ячим чи козячим молоком (Таблиця 1.1). Лізоцим забезпечує захист від грампозитивних і грамнегативних бактерій, механізм ферменту визначається деградацією β -1,4-зв'язків N-ацетилмурамової кислоти та різних залишків, які складають пептидогліканову клітинну стінку цих патогенів. Коров'яче молоко, грудне молоко людини та козяче молоко містять низку місцевих протеаз, більшість з яких зберігаються у

різних видів. Крім того, лізоцим стійкий до протеолізу та денатурації, викликаній високою кислотністю у шлунку, що підкреслює його міцність. Грудне молоко людини містить значний ферментативний потенціал, який цілком може відігравати роль у неонатальному розвитку [12].

Вміст небілкового азоту та амінокислот. Фракція небілкового азоту (НА) у молоці становить 20–25 % загального азоту в зрілому грудному молоці людини, 3–13 % у козячому молоці та лише 3–5 % у коров'ячому молоці. Фракція НА включає комплексні сполуки, такі як сечовина, амінокислоти, пептиди, креатин, сечова кислота та аміак. Сечовина в грудному молоці людини потенційно є джерелом азоту для кишкової мікробіоти. Сечовина переробляється кишковими біфідобактеріями, які потім можуть бути використані організмом немовляти. Наприклад, *Bifidobacterium longum subsp. infantis* кодує кластер гена уреаз, який відповідає за метаболізм олігосахаридів жіночого молока.

Амінокислоти, отримані з небілкового азоту, служать будівельними блоками білків і відіграють важливу роль як сигнальні молекули та регулятори експресії генів. Людське та коров'яче молоко значно відрізняються за вмістом незамінних і незамінних амінокислот [12].

Глутамін, найпоширеніша вільна амінокислота, майже в 20 разів вище в зрілому молоці, ніж його найнижче значення в молозиві. Глутамін важливий для забезпечення кетоглутарової кислоти для циклу лимонної кислоти, можливо, діючи як нейромедіатор у мозку та слугуючи основним енергетичним субстратом для кишкових клітин [7].

Жири є найважливішим складником грудного молока, постачаючи енергію та сприяючи розвитку центральної нервової системи. Загалом жирність грудного молока людини під час лактації коливається від 3,5% до 4,5%. Основну ліпідну фракцію складають триацилгліцероли, на частку яких припадає близько 95% загальної кількості ліпідів [7]. Триацилгліцероли є основним джерелом енергії для немовляти, що становить приблизно 50 % від загального споживання енергії [12].

Майже половина жирних кислот молока є насиченими жирними кислотами, з 23% пальмітинової кислоти (C16:0) у загальній кількості жирних кислот. Мононенасичена жирна кислота, олеїнова кислота (18:1 ω 9), міститься в молоці у найвищому відсотковому відсотку (36%). Людське грудне молоко також містить дві незамінні жирні кислоти: 15% лінолевої кислоти (C18:2 ω 6) і 0,35% альфа-ліноленової кислоти (C18:3 ω 3), які, відповідно, перетворюються на арахідонову кислоту (C20:4 ω 6) та ейкозапентаєнову кислоту (C20:5 ω 3), остання з яких далі перетворюється на докозагексаєнову кислоту (22:6 ω 3). Ненасичені жирні кислоти важливі для регуляції росту, запальних реакцій, імунної функції, зору, когнітивного розвитку та моторних систем у новонароджених [7].

Склад жирних кислот у зрілому грудному молоці людини, бичачому молоці та козячому молоці значно відрізняється (Таблиця 1.1). В організмі триацилгліцероли потрапляють у шлунок і гідролізуються панкреатичною ліпазою, ензимом, який виділяється клітинами слизової оболонки. З жирних кислот, присутніх у триацилгліцеролах молока, пальмітинова кислота погано засвоюється та утворює неперетравлювані мила. Дані продукти розпаду пальмітинової кислоти зменшують всмоктування харчового жиру та кальцію, що призводить до шлунково-кишкового дискомфорту та закрепу. У випадку дитячих сумішей, отриманих з коров'ячого молока, вміст пальмітинової кислоти значно вищий порівняно з людським грудним та козячим молоком (Таблиця 1.1) [12].

Молочні фосфоліпіди, з яких одну третину загальної їх кількості становить сфінгомієлін, присутні в жіночому грудному та коров'ячому молоці, в основному пов'язані з мембраною молочних жирових кульок. Фосфоліпіди є ефективними агентами для зниження захворюваності на некротичний ентероколіт, а також є носіями довголанцюгових поліненасичених жирних кислот, таких як арахідонова та докозагексаєнова кислоти, які відсутні у коров'ячому та козячому молоці (Таблиця 1.1) [12].

У молоці міститься величезна кількість різноманітних і складних вуглеводів, серед яких найпоширенішим є лактоза – дисахарид, що складається з глюкози, ковалентно зв'язаної з галактозою [12].

На відміну від білків і жирів, вміст лактози в зрілому молоці досить постійний (через 21 день після пологів). Стабільний вміст лактози є важливим фактором в підтримці сталого осмотичного тиску в жіночому молоці. Лактоза також сприяє засвоєнню мінералів і кальцію [7].

Лактоза присутня в організмі людини в найвищій концентрації порівняно з будь-яким іншим видом, що відповідає високим енергетичним потребам людського мозку. Олігосахариди людського молока також складають значну частину вуглеводів грудного молока, але вони не засвоюються немовлятами, їх функція полягає в тому, щоб жити мікробіоту шлунково-кишкового тракту [12].

Олігосахариди людського молока (ОЛМ). Олігосахариди є неперетравлюваними вуглеводами в жіночому молоці, при цьому 2'-фукозиллактоза є найбільш поширеною, оскільки вона становить 20–30% усіх ОЛМ. Наукові дані свідчать про те, що ОЛМ є змінними, але забезпечують дитячий кишечник захистом від вірусів і бактерій, таких як *Escherichia coli*, *Campylobacter* і ротавірус. На сьогоднішній день у жіночому молоці було виявлено понад 200 різних олігосахаридів, деякі з них поведуться як пребіотики, вибірково стимулюючи ріст біфідобактерій, роду, який пов'язаний зі зміцненням здоров'я. Види біфідобактерій є одними з перших мікробних колонізаторів кишківника немовлят і відіграють роль у запобіганні прямої адгезії патогенів до поверхонь слизової оболонки немовлят, тим самим знижуючи ризик інфекцій. Вони також можуть модулювати реакції епітелію та імунних клітин. Кількість біфідобактерій зазвичай вище у немовлят, які знаходяться на грудному вигодовуванні [12].

Людське грудне молоко містить достатню кількість більшості вітамінів для підтримки нормального росту немовляти, за винятком вітамінів D і K.

Немовлята, які знаходяться виключно на грудному вигодовуванні, отримують менше рекомендованого мінімального споживання вітаміну D [7].

1.2. Різновиди дитячих сумішей, їх склад та властивості

Розвиток дитячих сумішей можна простежити з кінця 19 століття: у 1867 році компанією Liebig була розроблена та випущена на ринок дитяча молочна суміш, що містила в своєму складі коров'яче молоко, пшеничне борошно, солодове борошно і бікарбонат калію; у 1915 році Герстенбергер було розроблено «адаптоване синтетичне молоко», що містило знежирене коров'яче молоко, лактозу, олію олеїнової кислоти і рослинні олії. Даний продукт освітлив необхідність оброблення коров'ячого молока для уможливлення його придатності до споживання людиною, оскільки дитячі суміші розроблені на основі немодифікованого коров'ячого молока становлять серйозний ризик для здоров'я, і вважається попередником сучасних дитячих сумішей [24].

Поживний склад усіх дитячих сумішей повинен відповідати світовим стандартам, рекомендованим міжнародною експертною групою Європейського товариства дитячої гастроентерології, гепатології та харчування (European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition's), яка була створена в 2004 році. Усі дитячі суміші повинні містити достатню кількість основних поживних речовин, а отже, бути взаємозамінними [28].

Дитячі суміші повинні містити достатню кількість води, вуглеводів, білків, жирів, вітамінів і мінералів. Склад дитячої суміші суворо регламентований, і кожен виробник повинен дотримуватися встановлених інструкцій, встановлених державними органами. Наприклад, усі основні компоненти, що додаються до суміші (білок, ліпіди, вуглеводи), мають діапазон мінімальних і максимальних значень ефективності. Ці компоненти повинні мати історію безпечного використання. Необхідний діапазон кожної поживної речовини повинен підтримуватися протягом усього терміну придатності продукту. Для амінокислот дозволено додавати лише L-форми амінокислот, тоді як D-форми не допускаються, оскільки вони можуть викликати D-лактоацидоз. Слід уникати фруктози через її непереносимість. Гідрогенізовані жири та олії також не допускаються. Іонізуюче випромінювання продукту

формули не допускається, оскільки це може призвести до погіршення якості продукту. Дитяча суміш, готова до вживання, повинна містити не менше 60 ккал (250 кДж) і не більше 70 ккал (295 кДж) енергії на 100 мл. Крім того, переформулювання продукту має ґрунтуватися на медичних і харчових даних. Комітет «Оцінки додавання нових інгредієнтів до суміші для немовлят» рекомендував, щоб «виробники продемонстрували, що суміш, що містить новий інгредієнт, здатна підтримувати фізичний ріст і розвиток протягом 120 днів, коли суміш, ймовірно, є єдиним джерелом дитячого харчування [7].

Наразі на ринку існує широкий вибір дитячих сумішей, що ускладнює вибір відповідної суміші для батьків та медичних працівників. Більшість немовлят, які не перебувають на грудному вигодовуванні, можуть вживати стандартну дитячу суміш, проте певна частина з них потребує більш спеціалізованої суміші, що залежить від низки факторів: терміну вагітності, наявності захворювання та ускладнень [28].

Як зазначають [7] існує три основні класи дитячих сумішей: суміші на основі коров'ячого чи козячого молока, суміші на основі сої та спеціалізовані суміші. Вони відрізняються за поживністю, калорійністю, смаком, засвоюваністю та вартістю. Спеціальні типи формул доступні для задоволення різноманітних потреб. Деякі замінники коров'ячого молока створені на основі амінокислот або містять сильно гідролізовані білки сироватки або казеїну.

Суміші на основі коров'ячого молока для немовлят, так звані «стандартні» дитячі суміші, є найпоширенішими замінниками людського молока. Більшість немовлят потребують саме базової молочної суміші, створені за зразком грудного молока. Вони доступні у вигляді готових до вживання рідин (67 ккал/100 мл), а також у вигляді порошків або рідких концентратів, які можна змішувати з певною кількістю води для отримання необхідної калорійності [7, 24].

1.2.1 Дитячі суміші на основі сої

Дитячі суміші на основі сої (SBIF) мають довгу історію безпечного використання в усьому світі. Розробка соєвих сумішей виросла з потреби в

альтернативі сумішам без молока для немовлят, які мали алергію або непереносимість сумішей з коров'ячого молока. Перші SBIF містили соєве борошно і були введені майже 100 років тому. Ізолят соєвого білка (SPI), очищений, високоякісний, високозасвоюваний соєвий білок, замінив соєве борошно майже 45 років тому. SPI є основним джерелом соєвого білка в SBIF у всьому світі [26].

Ранні SBIF містили соєве борошно, інгредієнт з нижчою засвоюваністю білка та зниженим загальним вмістом білка порівняно з SPI, що використовується в сучасних SBIF. Соєві суміші на основі соєвого борошна містять ряд небілкових компонентів, таких як соєві вуглеводи, клітковина, фітати та інгібітори протеази, які в основному відсутні в сучасних SPI. SPI був розроблений, щоб мати високий показник амінокислотності з поправкою на засвоюваність білка. SPI не менше 90% складається з білка в перерахунку на суху вагу і має засвоюваність 97% або вище і збалансовану високу концентрацію незамінних амінокислот. У 1970-х роках метіонін та інші додаткові поживні речовини були додані до стандартних SBIF. Крім метіоніну, сучасні СБІФ містять додані йод, карнітин, таурин, холін та інозитол [26].

Вміст жиру в формулах на основі соєвого білка отримують переважно з рослинних олій. Кількість конкретних жирів залежить від виробника і зазвичай схожа на кількість жирів у відповідній формулі на основі коров'ячого молока. Вміст жирів коливається від 5,02 до 5,46 г на 100 ккал або від 3,4 до 3,6 г/дл. Використовувані олії включають соєву, пальмову, соняшкову, олеїнову, сафлорову та кокосову. Докозагексаєнова та арахідонова кислоти тепер додаються регулярно.

У SBIF джерелами вуглеводів є кукурудзяний мальтодекстрин, сухі речовини кукурудзяного сиропу та сахароза з вмістом від 10,26 до 10,95 г на 100 ккал або від 6,9 до 7,4 г/дл. До 1980 року абсорбція мінералів із соєвих формул була нестабільною через погану стабільність суспензій та наявність надмірної кількості соєвих фітатів. Оскільки формули ізоляту соєвого білка все

ще містять 1,5% фітатів, а до 30% загального фосфору зв'язано з фітатами, вони містять на 20% більше кальцію та фосфору, ніж суміші на основі коров'ячого молока, і підтримують співвідношення кальцію та доступного фосфору від 1,1 до 2,0:1. При сучасних лікарських формах мінералізація кісток, концентрації кальцію і фосфору в сироватці крові, а також концентрації лужної фосфатази у доношених немовлят до 12 місяців еквівалентні концентраціям, що спостерігаються у немовлят, яких годують сумішами на основі коров'ячого молока. Оскільки соєві фітати та олігосахариди клітковини також зв'язують залізо та цинк, усі формули на основі сої збагачені залізом та цинком [16].

Показаннями до застосування SBIF для немовлят є імуноглобулін E-опосередкована алергія на молоко; постінфекційна діарея внаслідок непереносимості лактози; галактоземія; використання в якості веганського замінника людського молока; і лікування поширених проблем з годуванням, таких як метушливість, гази та плювки. Американська академія педіатрії підтримує використання сумішей на основі SPI як безпечних та ефективних альтернатив для забезпечення належного харчування для нормального росту та розвитку доношених немовлят, чий потреби в харчуванні не задовольняються за рахунок жіночого молока або сумішей на основі коров'ячого молока. Важливо зазначити, що використання соєвих сумішей слід обмежити немовлятами з галактоземією або вродженою лактазною недостатністю [26].

1.2.2 Дитячі молочні суміші для передчасно народжених немовлят

Передчасно народжені діти мають вищі потреби в білках і калоріях. Крім того, вони потребують більше кальцію, магнію та фосфору (мінералів, які потрапляють в організм внутрішньоутробно під час третього триместру) [27].

Відомо, що недоношені немовлята схильні до ризику розвитку метаболічних захворювань кісток, і цей ризик негативно пов'язаний з вагою немовляти при народженні. Дефіцит мінералів у скелеті накопичується між народженням і терміном і призводить до нижчого вмісту мінералів у кістках у

недоношених немовлят на очікуваному терміні, ніж у доношених немовлят при народженні [22].

Дитячі молочні суміші для недоношених призначені для забезпечення споживання поживних речовин відповідно до швидкості внутрішньоутробного росту та накопичення поживних речовин і збагачена енергією, макроелементами, мінералами, вітамінами та мікроелементами порівняно спеціальними сумішами, що використовуються в лікарні, і стандартними дитячими сумішами, що використовуються для доношених немовлят. Годування збагаченими молочними сумішами рекомендовано для недоношених немовлят, особливо для тих, хто має дуже низьку вагу при народженні (≤ 1500 г), до 9 міс або 12 місяців хронологічного віку [21].

Граничні значення ваги та терміну вагітності базуються на думці експертів і можуть відрізнятися в різних установах. Немовлят зазвичай переводять з 24 на 22 ккал на унцію, коли вони досягають ваги 1800 г або 34 тижнів гестаційного віку. Немовлят рідко виписують з лікарні раніше 34 тижнів, тому немовлята, які перебувають на амбулаторному лікуванні, зазвичай отримують суміші з 22 ккал. Не існує досліджень, які б визначали час для припинення застосування збагачених сумішей. Хоча передчасно народжені та збагачені суміші можуть покращити короткострокові параметри росту, вони не впливають на довгостроковий ріст або розвиток у віці 18 місяців [27].

1.2.3 Гіпоалергенні та неалергенні суміші

Лише невелика меншість немовлят мають справжню алергію на молочний білок, опосередковану імуноглобуліном Е (IgE). У цих випадках у немовлят утворюються антитіла проти великих білкових молекул у коров'ячому молоці. Алергія на молочний білок може проявлятися будь-якою комбінацією шкірних, респіраторних та шлунково-кишкових скарг; класичним симптомом є кров у калі.

Непереносимість білка коров'ячого молока, не опосередкована IgE, може

проявлятися у вигляді ентеропатії та ентероколіту. Оскільки більшість немовлят з молочно-індукованою ентеропатією будуть однаково чутливі до соєвого білка, гіпоалергенні та неалергенні суміші є найкращою альтернативою.

Гіпоалергенні суміші містять інтенсивно гідролізовані білки, які з меншою ймовірністю стимулюють вироблення антитіл вироблення антитіл. Немовлята з алергією до молочного білка, яких годують гіпоалергенними сумішами, мають дещо більший приріст ваги протягом першого року, ніж немовлята, яких годували стандартними сумішами. Крім того, у багатьох немовлят спостерігається покращення натопічних симптомів [27].

РОЗДІЛ II МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1 Об'єкт і методи дослідження

Дослідження проводились на білих безпородних молодих щурах з початковою масою 80-140 г, віком 50-70 днів. Всі маніпуляції з тваринами, які здійснювались в ході експерименту, відповідали вимогам «Європейської конвенції про захист хребетних тварин (Страсбург, 1986), що використовуються для дослідних і наукових цілей», та рекомендаціям VII Національного конгресу з біоетики «Загальні етичні принципи експериментів на тваринах» (Київ, 2001).

Модель дослідження передбачала поділ тварин на наступні групи:

I група контролю – щури, яких продовж експерименту годували виключно зерном та водою (К),

II група – щури, яких поїли молоком фірми «Селянське» 2,5% жирності;

III група – щури, які харчувались молоком фірми «Казкове» 2,5% жирності;

IV група – щури, які споживали дитячу суміш Gerber Good Start, GentlePro для дітей віком 0 – 12 місяців;

V група – щури, які утримувались на дитячій суміші Similac Pro-Total Comfort™ для немовлят.

Цервікальну дислокацію тварин здійснювали на 29 день експерименту, для цього тварин піддавали впливу легкого ефірного наркозу.

Вимірювання ваги щурів проводили на початку експерименту, в наприкінці кожного експериментального тижня та безпосередньо перед розтином.

2.2 Отримання сироватки крові щурів

Кров відбирали з ворітної вени печінки тварин у пробірки, які надалі центрифугували за допомогою лабораторної центрифуги 82-А 1500 об/хв протягом 10 хв.

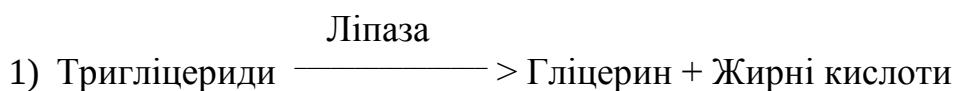
Після центрифугування з пробірок піпеткою відбирали сироватку, а саме

надосадову фракцію, яка складала приблизно 50% первинного об'єму, утилізували осад після першого центрифугування.

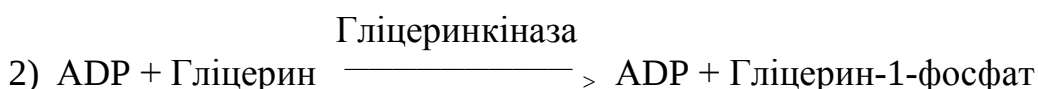
2.3 Визначення рівня триацилгліцеролів в крові

Рівень триацилгліцеролів в сироватці тварин визначали згідно з інструкцією виробника High Technology, Inc.

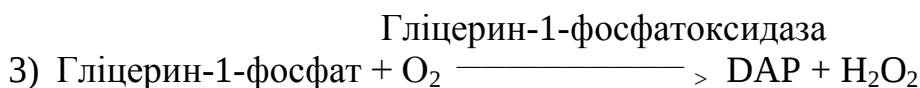
Принцип методу заснований на визначенні концентрації тригліцеридів, шляхом проведення чотирьох ензиматичних реакцій:



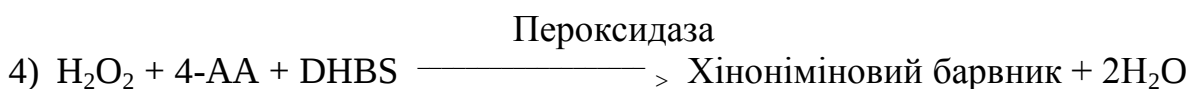
Ліпаза (КФ 3.1.1.) гідролізує складноєфірні зв'язки тригліцеридів, а також їх похідних часткових гліцеридів із сильною 1,3-позиційною специфічністю.



Гліцеринкіназа (КФ 2.7.1.19) каталізує фосфорилування гліцерину з утворенням гліцерин-1-фосфату.



Гліцерин-1-фосфатоксидаза (КФ 1.1.3.21) каталізує окислення гліцерин-1-фосфату до дигідроксіацетонфосфату (DAP) із відновленням O_2 до H_2O_2 .



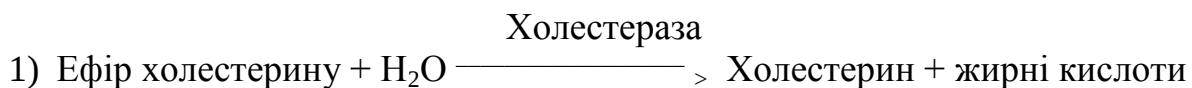
Пероксидаза (КФ 1.11.1) каталізує реакцію окиснення пероксиду водню (H_2O_2) з додаванням 3,5-дихлор-2-гідроксибензолсульфонату та 4-аміноантипірином з подальшим утворенням хінонімінового барвника та води (H_2O).

Метод визначається високою специфічністю, що базується на використанні ферментного гідролізу і кількісного визначення вмісту тригліцеридів, таким чином, що на результати визначення тригліцеріолів фосфоліпіди не впливають.

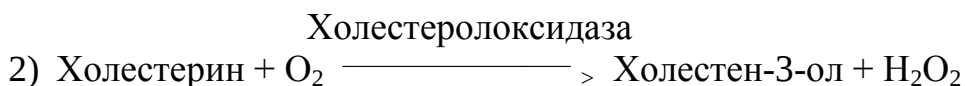
2.4 Визначення рівня холестеролу в крові

Рівень холестеролу в сироватці щурів визначали згідно з інструкцією виробника High Technology, Inc.

Принцип методу заснований на утворенні забарвленого комплексу холестерину у відповідності з наступними реакціями:



Холінестераза (КФ 3.1.1.8) гідролізує ефір холестерину до холестерину та жирних кислот.



Холестеролоксидаза (КФ А5.3.3.1) каталізує окислення 3-бета-гідроксигрупи холестерину та ізомеризацію подвійного зв'язку отриманого продукту з утворенням холестен-3-олу.



У присутності пероксидази суміш фенолу та 4-аміноантипіріну (4-АА) окислюється перекисом водню з утворенням червоного хінонімінового барвника.

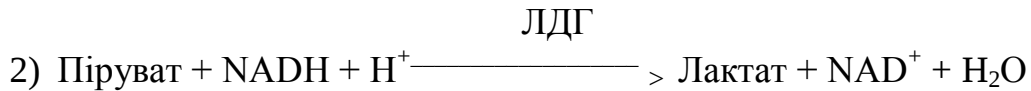
2.5 Визначення активності аланінамінотрансферази

Активність аланінамінотрансферази (АЛТ; КФ 2.6.1.2) сироватці щурів визначали згідно з інструкцією виробника High Technology, Inc.

Ензим АЛТ каталізує реакцію зворотного трансамінування між аланіном та а-кетоглутаратом з утворенням пірувату та глутамату.



За дії лактатдегідрогенази (ЛДГ; КФ 1.1.1.27) піруват відновлюється до лактату при чому NADH окислюється до NAD⁺



Метод базується на фотометричному вимірюванні швидкості зниження концентрації NADH, яка прямо пропорційна активності АЛТ, присутньої в зразку.

2.6 Визначення активності аспаратамінотрансферази

Аспаратамінотрансфераза (АСТ; КФ 2.6.1.1) каталізує реакцію трансамінування аспартату на α -кетоглутарат з утворенням глутамату та оксалоацетату.

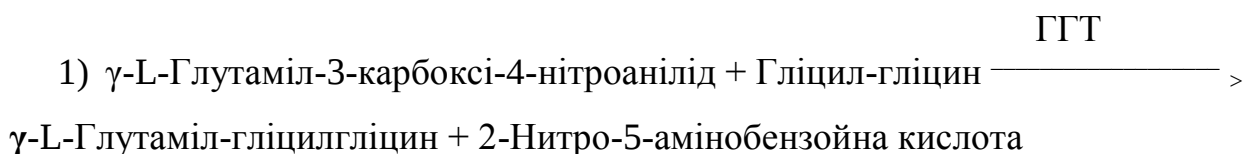
В присутності малатдегідрогенази (МДГ; КФ 1.1.1.37) оксалоацетат відновлюється до малата з одночасним окисненням NADH:



Метод базується на фотометричному вимірюванні швидкості зниження концентрації NADH, яка прямо пропорційна активності АСТ, присутньої в зразку.

2.7 Визначення активності гамма-глутамілтрансферази

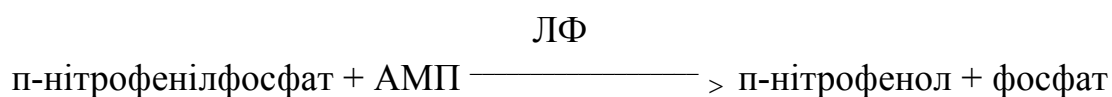
Гама-глутамілтрансфераза (ГГТ; КФ 2.3.2.2.) каталізує перенесення γ -L-Глутамілу від γ -L-Глутаміл-3-карбокси-4-нітроаніліду до гліцил-гліцину:



Показником активності ГГТ в даному методі виступає фотометрично виміряна швидкість утворення 2-нітро-5-амінобензойної кислоти, яка прямо пропорційна концентрації γ -глутамілтрансфери в зразку.

2.8 Визначення активності лужної фосфатази

Лужна фосфатаза (ЛФ; КФ 3.1.3.1) прискорює реакцію перенесення фосфатної групи з п-нітрофенілфосфату на 2-аміно-2-метил-1-пропанол (АМП), утворюючи р-нітрофенол з вільним фосфатом:



Метод базується на фотометричному вимірювання швидкості утворення п-нітрофенолу, яка пропорційна ензиматичній активності лужної фосфатази, що відповідно дозволяє визначити концентрацію ензиму.

2.9 Статистичний аналіз даних

Статистичний аналіз отриманих даних проводили з використанням загальноприйнятих методів варіаційної статистики. Порівняння між дослідними групами та групою контролю здійснювали за допомогою програми Microsoft Excel, використовуючи двовибірковий t-критерій Стюдента для незалежних вибірок. За вірогідні приймали відмінності між групами при $P \leq 0,05$.

РОЗДІЛ III РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Вже більше ніж 1000 днів українські матері з немовлятами перебувають в умовах хронічного стресу, який виник на тлі переміщення, хвилювання за близьких у місцях бойових дій чи окупації. Тому проблеми пов'язані з якістю та характером дитячого харчування за умов пригнічення процесу лактації у жінок призвело до вигодовування молочними сумішами. Популярними різновидами таких сумішей є *Similac Pro-Total Comfort* та *Gerber Good Start, GentlePro*, які адаптовані до потреб дитячого організму, оскільки імітують поживний склад людського молока. Дитяче харчування спеціально призначено для забезпечення харчових потреб дітей віком від 1 дня до 3 років [37].

В результаті проведених досліджень нами зареєстровано статистично вірогідне зростання показника маси тіла як за умов споживання коров'ячого молока марок *Селянське* та *Казкове* (1,5 разів), так і при отриманні тваринами дитячих молочних сумішей *Gerber* (1,3 рази) та *Similac* (1,5 разів) порівняно з тваринами, які споживали стандартний повноцінний раціон віварію (Табл. 3.1.). Зростання ваги у тварин досліджуваних груп може бути пов'язано із підвищенням енергетичної цінності раціону за умов надходження коров'ячого молока чи молочних сумішей.

Відомо, що у немовлят, які споживають молочні суміші у порівнянні з немовлятами, які отримують грудне молоко, ризик розвитку надмірної ваги є більшим [38]. Популярні дитячі молочні суміші, зокрема обрані нами для дослідження *Gerber* (2,2 г/100 мл) та *Similac* (1,63 г/100 мл) містять значно більше протеїнів, ніж грудне молоко (0,90–1,2 г/100 мл). Споживання немовлятами кількості протеїнів, що перевищують метаболічні потреби, запропоновано як фактор зростання концентрації інсуліну в плазмі крові зі збільшенням секреції інсуліноподібного фактора росту 1 (IGF-1) та, як наслідок, раннього збільшення ваги й розвитку ожиріння (протеїнова гіпотеза). В дослідженнях останніх років показано, що надмірне споживання протеїнів стимулює зростання маси тіла [39].

Щодо відносних коефіцієнтів внутрішніх органів тварин (печінки, нирок та підшлункової залози), достовірне збільшення відносної маси печінки нами зареєстровано лише за умов 28-денного споживання дитячої молочної суміші *Gerber* у 1,3 рази порівняно з показниками тварин контрольної групи; зростання показника відносної маси підшлункової залози відбується не тільки за умов споживання молочної суміші *Gerber* (1,5 разів), а й *Similac* (1,6 разів), що, ймовірно, свідчить про посилене функціональне навантаження на ці органи за досліджуваних умов. Статистично вірогідних змін у відносній масі нирок тварин дослідних груп нами не відмічено (Табл. 3.1.). Зростання печінкового коефіцієнту за умов споживання молочної суміші *Gerber*, ймовірно є наслідком накопичення ліпідів чи інфільтрації глікогену з можливим розвитком стеатозу гепатоцитів.

Таблиця 3.1.

**Морфометричні показники щурів за умов споживання молочних сумішей
для дитячого харчування та молока**

Дослідна група	Маса тварин	Відносна маса печінки, %	Відносна маса нирок, %	Відносна маса підшлункової, %
Контроль	124,17±12,34	4,30±0,34	0,95±0,10	0,26±0,08
Селянське	187,76±13,59*	4,00±0,54	0,86±0,07	0,27±0,12
Казкове	184,39±10,25*	4,90±0,75	0,83±0,09	0,29±0,09
Gerber	162,83±13,00*	5,70±0,67*	0,86±0,11	0,38±0,11*
Similac	186,50±10,57*	4,07±0,66	0,81±0,09	0,42±0,07*

Примітка (тут і надалі): Контроль – тварини, що споживали стандартних повноцінний раціон; м. Селянське – щури, раціон яких містив ультрапастеризоване молоко Селянське; м. Казкове – щури, раціон яких включав пастеризоване молоко Казкове; с. Gerber – тварини, які споживали дитячу молочну суміш Gerber, с. Similac – тварини, раціон яких складався з дитячої молочної суміші Similac.

* – $P \leq 0,05$ порівняно з показниками контролю.

Аналіз наукових публікацій свідчить, що у віці приблизно до 3 – 6 місяців у немовлят концентрація панкреатичних ферментів у підшлунковій залозі, враховуючи ліпази є значно нижчою, внаслідок чого засвоюється лише 70% –

90 % споживаних ліпідів. Надмірне зниження рівня засвоєння ліпідів часто спостерігається у недоношених дітей та немовлят, які отримують синтетичні дитячі суміші. Знижена ефективність функціонування підшлункової залози також впливає на засвоєння вуглеводів, оскільки відомо, що продукування амілази розпочинається у віці близько 1 місяця, і досягає рівня характерного для дорослих у віці близько 2 років [40].

За результатами проведених експериментів було встановлено, що рівень триацилгліцеролів (ТАГ) у сироватці крові експериментальних тварин суттєво варіював залежно від типу дієти. У щурів, які щоденно отримували дитячі молочні суміші (*Gerber* та *Similac*), спостерігалось значне підвищення концентрації ТАГ порівняно з контрольною групою, що споживала стандартний повноцінний раціон (рис. 3.1). Зокрема, рівень ТАГ у групи тварин, раціон яких включав молочну суміш *Gerber* та групи з раціоном на основі молочної суміші *Similac* перевищував відповідний показник контрольної групи в 2,5 рази (рис. 3.1).

Крім того, у тварин, що споживали молоко обох марок (пастеризоване молоко *Казкове* та ультрапастеризоване молоко *Селянське*) також було відмічено підвищення рівня ТАГ, однак зростання даного показника було незначним і не досягало рівня статистичної значущості (рис. 3.1).

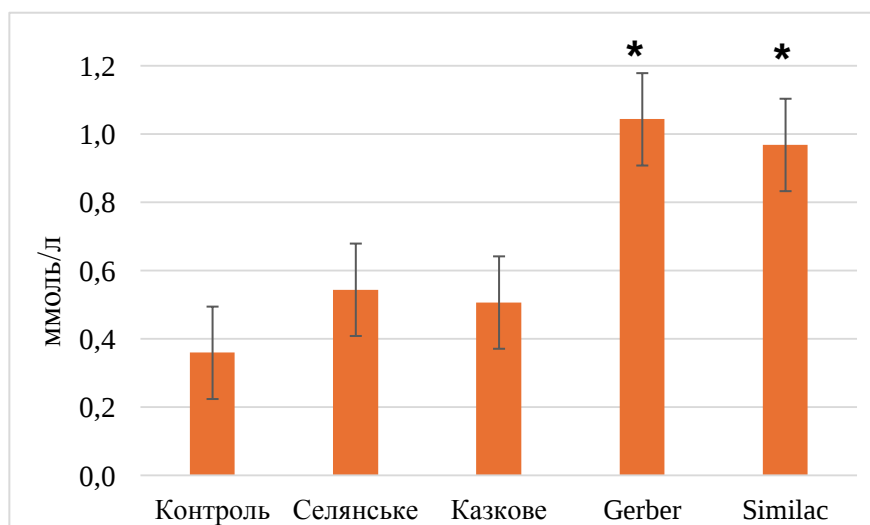


Рис. 3.1. Рівень триацилгліцеролів в сироватці щурів за умов споживання молочних сумішей для дитячого харчування та молока

Підвищення рівня триацилгліцеролів (ТАГ) у сироватці крові щурів, які отримували молочні суміші, можна пояснити специфічними особливостями складу цих продуктів та їх впливом на ліпідний обмін. Відомо, що стандартні молочні суміші призначені для дитячого харчування, характеризуються підвищеним вмістом ліпідів, що забезпечують високу енергетичну цінність. Основними джерелами жирів в сумішах є триацилгліцероли, отримані з рослинних олій (зокрема пальмової, кокосової або рапсової), які додаються для збалансування жирнокислотного складу. Це може спричинити підвищення вмісту ТАГ у сироватці крові через активне всмоктування жирів у кишечнику [32].

ТАГ складаються з скелета молекули гліцерину та трьох жирних кислот (ЖК), які можуть зв'язуватися з молекулою гліцерину в трьох положеннях. Позиції називаються відповідно до стереоспецифічної системи нумерації (sn) як sn-1 (альфа), sn-2 (бета) і sn-3, причому другою є та, яка знаходиться в центрі. Розташування кожної ЖК у триацилгліцеролах відіграє важливу роль у здатності немовлятами засвоювати ліпіди через специфічність розщеплення панкреатичної ліпази [23].

Травлення ТАГ починається в шлунку за допомогою шлункової ліпази, яка переважно гідролізує жирні кислоти, зв'язані з sn-3 положенням ТАГ. Потім ТАГ або утворений діацилгліцерин потрапляє в дванадцятипалу кишку, де жирні кислоти, зв'язані з положенням sn-1, гідролізуються з утворенням вільних жирних кислот (ВЖК) і 2-моноацилгліцеролів (МАГ). Утворені ВЖК і 2-МАГ поглинаються епітеліальними клітинами тонкого кишечника і ресинтезуються в ТАГ.

Молочні суміші містять значну кількість насичених і мононенасичених жирних кислот, зокрема пальмітинової та олеїнової. Пальмітинова кислота є одним із основних компонентів ТАГ у молочних сумішах і здатна стимулювати синтез жирів у печінці. При надмірному надходженні пальмітинової кислоти можливе її ресинтезування у ТАГ. Данний процес ресинтезу, який називають

моноацилгліцероловим шляхом, є можливою причиною сприянню накопиченню триацилгліцеролів в крові та органах-мішенях, зокрема в печінці [5].

У складі молочних сумішей зазвичай також присутній мальтодекстрин або інші вуглеводи, такі як лактоза, які, окрім основної функції забезпечення енергією, можуть брати участь у ліпогенезі. Лактоза є основним вуглеводом, який використовується в складі дитячих молочних сумішей; однак також рекомендується суміш вуглеводів. Мальтодекстрин – це олігосахарид, отриманий кислотним та/або ферментативним гідролізом крохмалю. Це полімер d-глюкозних ланцюгів, з'єднаних α -(1,4) і α -(1,6) зв'язками, утворених лінійними продуктами розпаду амілози та розгалуженого амілопектину. Кристалізація лактози під час зберігання може призвести до більшої кількості вільних жирів, а надлишок вуглеводів здатен конвертуватися у жирні кислоти через механізми *de novo* синтезу в печінці, що додатково може сприяти утворенню та накопиченню ТАГ [1].

Надмірне надходження ТАГ у сироватку може свідчити про розвиток стеатозу печінки, як наслідок підвищеного синтезу та накопичення ліпідів у гепатоцитах. У звичайних умовах печінка не зберігає ТАГ; однак у стресових ситуаціях, таких як ожиріння або високе споживання жирів/вуглеводів, аномальний метаболізм ліпідів призводить до ектопічного накопичення ліпідів у печінці [10].

Накопичення ТАГ у печінці та подальше гепатоцелюлярне пошкодження є багатофакторним і може охоплювати декілька органів. Стеатоз печінки або жирова дистрофія печінки характеризується накопиченням ТАГ принаймні на 5 % маси печінки або 5 % гепатоцитів, що містять ліпідні вакуолі. Простий стеатоз печінки є оборотним станом, який можна виправити шляхом зміни способу життя, наприклад фізичної активності та дієтичного втручання [10].

Тривале підвищення ТАГ також може бути пов'язане з розвитком запальних процесів у гепатоцитах, а також збільшенням маси тіла, що спостерігається у груп щурів, які споживали молочні суміші (*Gerber* та *Similac*).

Водночас у групи щурів, які отримували пастеризоване молоко *Селянське*, нами було зафіксовано зниження концентрації холестеролу в сироватці крові в 1,4 разів порівняно з контрольною групою тварин (рис 3.2).

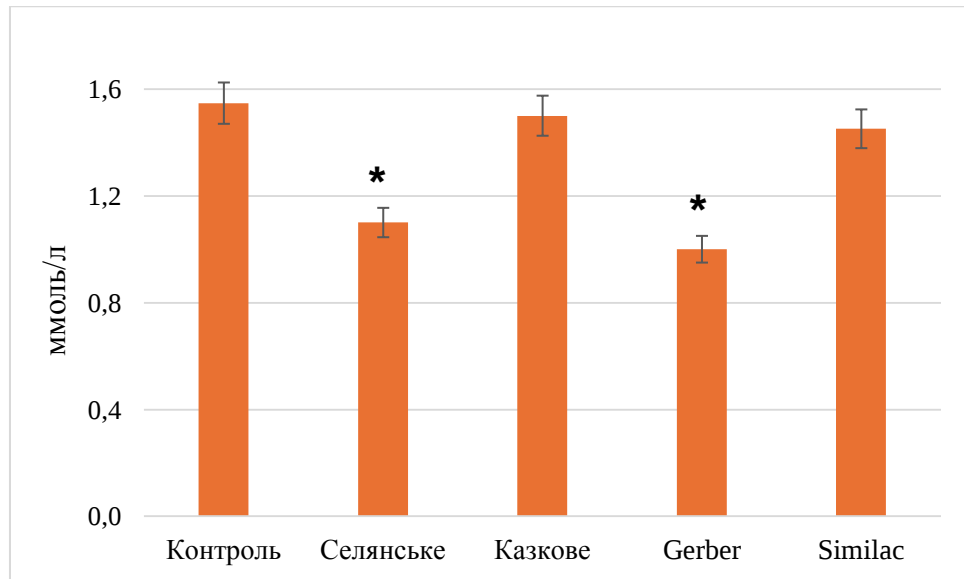


Рис. 3.2. Рівень холестеролу в сироватці щурів за умов споживання молочних сумішей для дитячого харчування та молока

Фітостероли – це узагальнюючий термін, який описує спектр рослинних стеролів. Вони структурно і функціонально подібні до тваринного холестерину, але не можуть бути використані людиною і конкурують із всмоктуванням холестерину в кишечнику. Таким чином, він пригнічує всмоктування холестерину в кишечнику і тим самим знижує рівень холестерину в крові.

Імовірною причиною зниження рівня холестеролу в даній групі щурів можлива включення у вміст молока *Селянське* фітостеролів, флавоноїдів, ізофлавонів (соє), полікозанолу та інших сполук, які знижують абсорбцію холестеролу у кишечнику, шляхом зниження рівня ліпопротеїнів низької щільності (ЛПНЩ), що є переносниками холестеролу до органів-мішеней [29, 33].

Найбільш виражене зниження рівня холестеролу спостерігалось у тварин, раціон яких включав молочну суміш *Gerber* в 1,5 разів порівняно з групою контрольних щурів (рис 3.2).

Відомо [15], що жирні кислоти (зокрема альфа-ліноленова кислота, докозагексаєнова кислота) стимулюють зниження рівня холестеролу шляхом пригнічення його синтезу у печінці та підвищення утилізації через жовчні кислоти.

Імовірною причиною нижчого рівня холестеролу в крові групи щурів, що споживали молочну суміш *Gerber* є зазвичай містить підвищена кількість поліненасичених жирних кислот в складі досліджено суміші (омега-3 та омега-6), порівняно з сумішшю *Similac*.

Зниження рівня холестеролу може негативно вплинути на конформацію та активність мембранних білків (іонні канали, рецептори, транспортери та ін), а також на їх здатність взаємодіяти з іншими молекулами, що знижує ефективність клітинної сигналізації та транспорту речовин [3].

З літератури [6] відомо, що холестерол виконує роль "стабілізатора" ліпідного бішару, впливаючи на його плинність і жорсткість. Низький рівень холестеролу може зумовити надмірну плинність мембран, що робить їх менш стійкими до фізичних і хімічних впливів, таких як температурні зміни чи механічний стрес.

Холестерол також зменшує проникність клітинних мембран для іонів і молекул води. При його дефіциті мембрани стають більш проникними, що може порушувати осмотичний баланс і призводити до неконтрольованого надходження або втрати речовин. Зокрема вихід мембранозв'язуючих ензимів. [6]

Мембрани з недостатньою кількістю холестеролу є більш чутливими до дії активних форм кисню (АФК). Це може спричинити оксидативне пошкодження ліпідів мембран (пероксидацію), що знижує їхню функціональність і стійкість. [6].

У щурів, які отримували пастеризоване молоко *Казкове* та молочну суміш *Similac*, рівень холестеролу у сироватці крові суттєво не відрізнявся від контрольної групи, яка споживала стандартний раціон із зерна та води (рис 3.2).

Відсутність суттєвих змін рівня холестеролу у сироватці груп щурів, які отримували молоко *Казкове* та молочну суміш *Similac* може бути зумовлена відносно збалансованим складом жирів та відсутністю додаткових функціональних компонентів, які впливають на ліпідний обмін.

Як зазначалось вище, одним з наслідків зниження рівня холестеролу є можливе порушення структурної цілісності та функціональних властивостей мембранозв'язаних ензимів.

Лужні фосфатази (ЛФ) – це група гомодимерних ізоензимів, що розташовані на зовнішньому шарі клітинної мембрани. Каталітичний центр всіх ізоензимів ЛФ містить три іони металу, тобто два іони цинку (Zn) і один магнію (Mg), що виступають важливими кофакторами ензимів. ЛФ каталізують гідроліз органічних фосфатних ефірів, які знаходяться в позаклітинному просторі, а також ініціюють реакцію трансфосфорилування в присутності великих концентрацій акцепторів фосфату [18].

Лужна фосфатаза поділяється на 2 типи — тканиноспецифічні та тканинно-неспецифічні. Тканиноспецифічні ЛФ присутні виключно в кишечнику, плаценті та зародковій тканині. Тканиноспецифічні ЛФ можуть вносити свій внесок у циркулюючий пул сироваткової лужної фосфатази при посиленій стимуляції їх продукції. Тканинно-неспецифічні ЛФ є клінічно значущими, оскільки вони складають більшу частину циркулюючої фракції в сироватці крові [18].

Нами встановлено статистично достовірне підвищення активності лужної фосфатази у сироватці крові щурів лише за умов споживання дитячої молочної суміші *Gerber* та пастеризованого молока марки *Селянське*. Зокрема, у тварин даних досліджуваних груп активність лужної фосфатази зростає у 1,6 разів порівняно з показниками контролю (рис. 3.3).

Аналіз наукової літератури, свідчить: везикули прикріплені до синусоїдальних мембран, що містять лужну фосфатазу, виявляються в сироватці крові у пацієнтів з холестазом. Відомо, що у 75 % випадків розвитку внутрішньопечінкового або позапечінкового холестазу в сироватці крові

виявляється підвищення активності лужної фосфатази у понад 4 рази над верхньою межею норми. Відповідно, гіперферментемія лужної фосфатази, локалізованої в синусоїдальних мембранах та ендотелії жовчних шляхів при споживанні суміші *Gerber* та молока *Селянське* може вказувати на розвиток холестатичного синдрому.

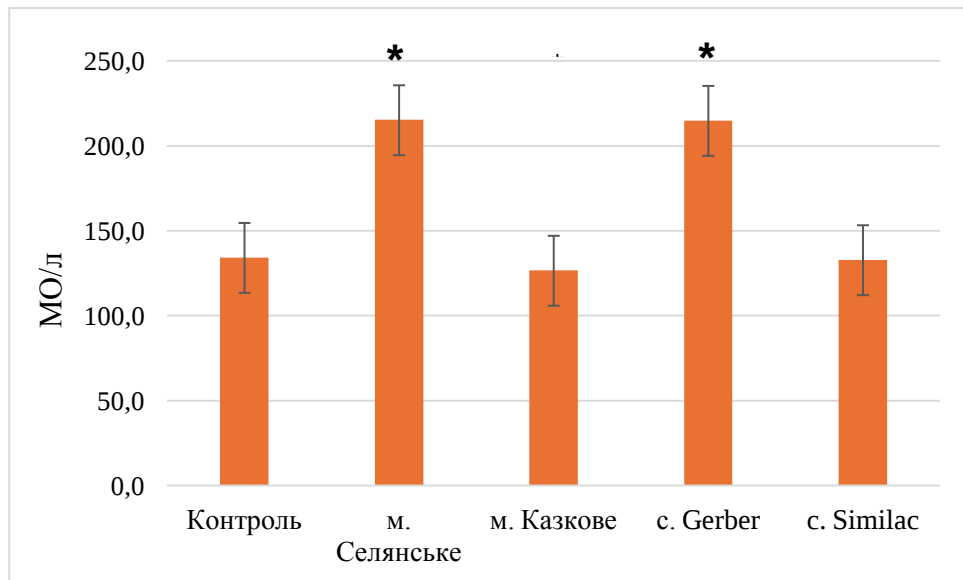


Рис. 3.3. Активність лужної фосфатази в сироватці щурів за умов споживання молочних сумішей для дитячого харчування та молока

Існують дослідження [20], які показують, що накопичення триацилгліцеролів передуює формуванню запалення у гепатоцитах печінки та розвитку стеатозу. Дані фактори можуть стимулювати прогресування поширеного захворювання печінки – неалкогольної жирової хвороби печінки (НАЖХП). У літературі встановлено [25], що при НАЖХП відбувається підвищення активності лужної фосфатази у сироватці крові. Тому ми припускаємо, що показане нами зростання активності ензиму ЛФ у сироватці дослідних тварин, які споживали молочну суміш *Gerber* (рис. 3.3) на тлі зареєстрованого підвищення рівня ТАГ в сироватці тварин даної групи, ймовірно, можна розглядати наслідком розвитку НАЖХП, якій передуює накопичення ТАГ у клітинах печінки (рис. 3.1).

Холестерол стабілізує структуру мембрани, впливаючи на її плинність і мікродоменну організацію. Лужна фосфатаза – мембранозв'язуючий ензим, який прикріплений до зовнішньої поверхні плазматичної мембрани за допомогою ковалентно приєднаного глікозил-фосфатидилінозитового якоря. Відповідно активність ЛФ залежить від фізико-хімічних властивостей клітинної мембрани [9].

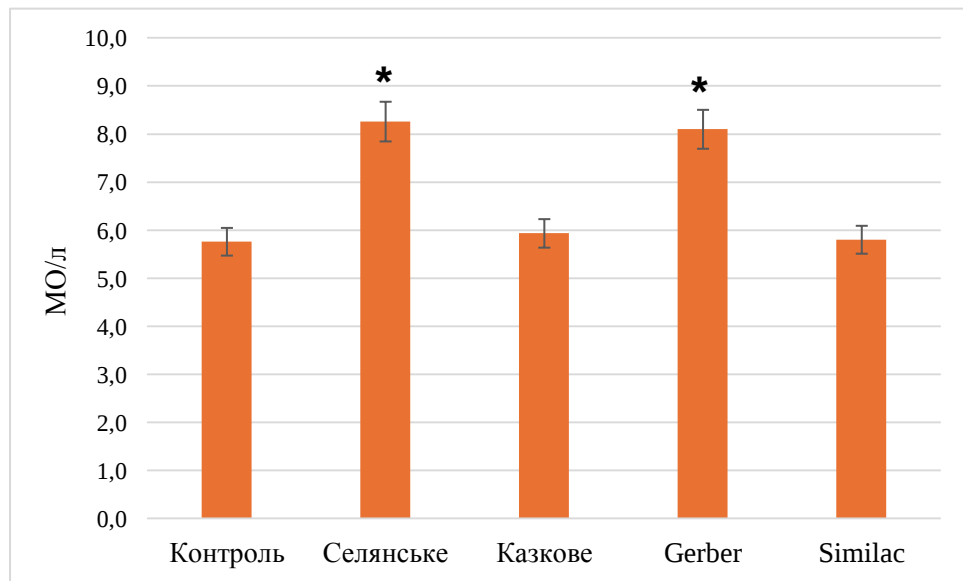
Холестерол робить клітинні мембрани ссавців більш компактними, зменшуючи кількість пустот у мембранній структурі. Завдяки цьому холестерол регулює здатність клітинних мембран запобігати проникненню води та водорозчинних молекул через мембрани. Навіть незначні, на перший погляд, зміни в хімічній структурі холестеролу можуть призвести до помітних змін у властивостях мембран [2].

Показане зниження вмісту холестеролу у сироватці крові тварин, які споживали молоко *Селянське* та молочну суміш *Gerber* може супроводжуватись посиленням вивільненням у сироватку крові мембранозв'язаного ензиму лужної фосфатази, внаслідок ймовірного порушення структурної цілісності клітинних мембран гепатоцитів зі підвищенням їх проникності. Вилучення холестеролу з ліпідного бішару мембрани призводить до зниження мікров'язкості та, як наслідок, збільшення плинності мембран, що сприяє розвитку змін у ефективності функціонування мембранозв'язаних протеїнів [2].

Нами було досліджено можливі відмінності в активності γ -глутамілтранспептидази (ГГТ) між експериментальними групами щурів, які споживали молоко або дитячі молочні суміші, порівняно з контрольною групою.

γ -глутамілтранспептидаза – зв'язаний з плазматичною мембраною ензим, активний центр якого локалізований на зовнішній поверхні клітинної мембрани, зокрема – мембранах гепатоцитів. Ензим забезпечує гідроліз позаклітинного трипептиду глутатіону, таким чином сприяючи клітинному використанню амінокислот, що входять до його складу – глутамінової кислоти, цистеїну й гліцину [14]. Відомо [31], що складові амінокислоти можуть

використовуються для внутрішньоклітинного ресинтезу глутатіону. Результати

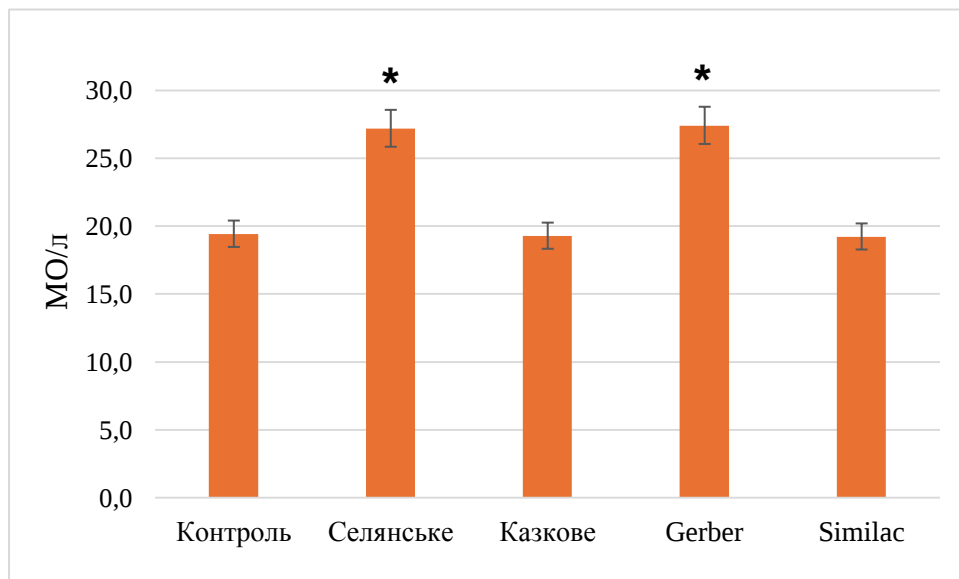


дослідження засвідчили відсутність статистично достовірних відмінностей активності γ -глутамілтрансферази у всіх досліджуваних групах тварин порівняно з контрольними величинами (рис. 3.4).

Рис. 3.4. Активність γ -глутамілтрансферази в сироватці щурів за умов споживання молочних сумішей для дитячого харчування та молока

Аланінамінотрансфераза (АЛТ) – це ензим, що здебільшого агрегується в цитозолі гепатоцита. АЛТ каталізує перенесення аміногруп від L-аланіну до α -кетоглутарату з подальшим утворенням продуктів реакції L-глутамату та пірувату в клітинах печінки, що є критичним процесом циклу трикарбонових кислот (ТЦА). Необхідний кофермент для ензиму виступає піридоксальфосфат. Активність АЛТ у печінкових клітинах приблизно в 3000 разів вища, ніж його активність у сироватці крові. При пошкодженнях гепатоцитів АЛТ вивільняється в кровотік, при чому підвищуючи активність ензиму у сироватці крові. АЛТ також існує в м'язах, жировій тканині, кишечнику, товстій кишці, передміхуровій залозі та головному мозку, однак концентрація аланінамінотрансферази в вищезазначених органах набагато нижче, порівняно з печінкою [34].

У результаті нашого дослідження статистично вірогідне зростання аланінамінотрансферазної активності (рис. 3.5) в сироватці крові зареєстровано за умов споживання тваринами молока *Селянське* та молочної суміші *Gerber*. Проте, істотних відмінностей активності аланінамінотрансферази у групі тварин, які вживали молоко *Казкове* та щурів, які утримувались на молочній суміші *Similac* не спостерігається (рис. 3.5). Відтак, активність аланінамінотрансферази як у групі тварин, раціон яких містив молоко *Селянське*, так і молочну суміш *Gerber* у 1,4 рази перевищує показники контрольної групи (рис. 3.5), що, ймовірно, є прямим наслідком загибелі гепатоцитів з наступним вивільненням аланінамінотрансферази з клітин печінки, тобто – розвитку цитолітичного синдрому [13]. Аспартатамінотрансфераза (АСТ) – органно-неспецифічний ензим, який локалізується в багатьох тканинах організму людини, де каталізує реакцію зворотнього трансамінування. Існує дві ізоформи аспартатамінотрансферази -



цитоплазматична (АСТ1) та мітохондріальна (АСТ2), які зазвичай зустрічаються разом і метаболічно взаємодіють один з одним. Обидві ізоформи є гомодимерами, що містять висококонсервативні ділянки, що відповідають за каталітичні властивості ферменту. Спільною ознакою всіх аспартатних амінотрансфerezів є ковалентне зв'язування Lys - 259 залишку з протетическою групою – піридоксальфосфатом [11].

Рис. 3.5. Активність аланінамінотрансферази в сироватці щурів за умов споживання молочних сумішей для дитячого харчування та молока

Відмінності в первинній структурі ізоформ АСТ визначають їх фізико-хімічні, кінетичні та імунологічні властивості. Через низьку концентрацію L-аспартату (L-Asp) в крові АСТ є єдиним ферментом, який постачає цю амінокислоту як субстрат для багатьох метаболічних процесів, таких як цикл сечовини або пуринових і піримідинових нуклеотидів в печінці, синтез L-аргініну в нирках і пуриновий нуклеотидний цикл в головному мозку і скелетних м'язах [11].

Щодо аспартатамінотрансферазної активності у сироватці крові досліджуваних груп тварин, достовірних відмінностей порівняно з контрольними величинами не було зареєстровано (рис. 3.6).

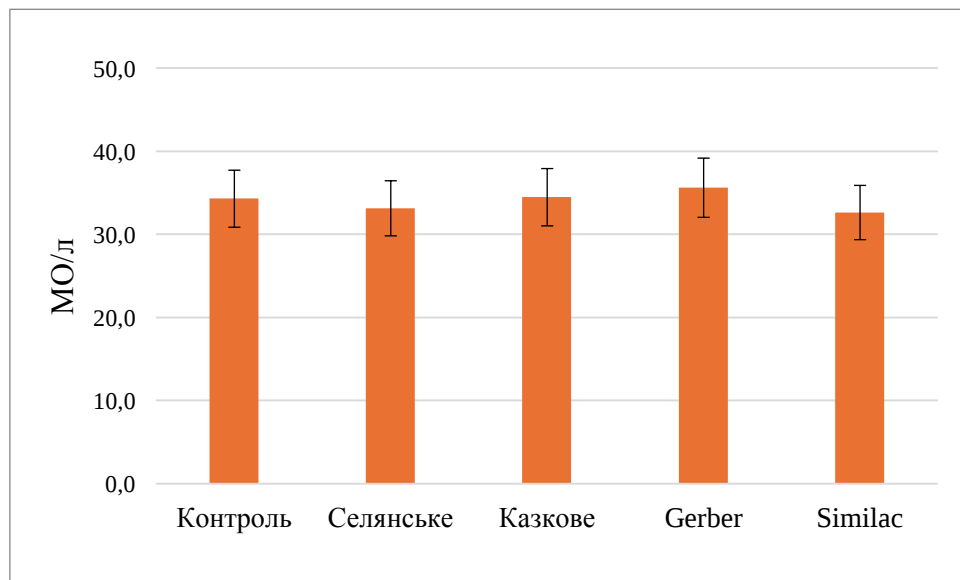


Рис. 3.6. Активність аспартатамінотрансферази в сироватці щурів за умов споживання молочних сумішей для дитячого харчування та молока

Оскільки, $\frac{2}{3}$ загальної внутрішньоклітинної активності аспартатамінотрансферази локалізується у мітохондріях та $\frac{1}{3}$ – в цитозолі клітин печінки, відсутність змін її активності в сироватці крові може свідчити про збереження цілісності мітохондріальних мембран при одночасному пошкодженні плазмолемі клітин печінки з виходом основного пулу

аланінамінотрансферази з гепатоцитів, що переважно розташовується у цитоплазмі [11].

Отже, виражені ознаки холестатичного синдрому за рахунок підвищення рівня ЛФ та ГГТ, та цитолізу зі зростанням активності АЛТ у сироватці крові спостерігались лише за умов споживання молока *Селянське* та молочної суміші *Gerber*.

ВИСНОВКИ

1. Зростання рівня триацилгліцеролів в сироватці крові спостерігається лише за умов споживання тваринами молочних сумішей *Gerber* та *Similac*.
2. Зниження рівня загального холестеролу в сироватці крові зареєстровано у щурів, які впродовж експерименту отримували молоко *Селянське* та молочну суміш *Gerber*.
3. Виражені ознаки холестатичного синдрому за рахунок підвищення рівня лужної фосфатази й гамма-глутамілтрансферази та цитолізу зі зростанням активності аланінамінотрансферази у сироватці крові спостерігались лише за умов споживання молока *Селянське* та молочної суміші *Gerber*.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. A.K.M. Masum, Jayani Chandrapala, Benu Adhikari, Thom Huppertz, Bogdan Zisu. Effect of lactose-to-maltodextrin ratio on emulsion stability and physicochemical properties of spray-dried infant milk formula powders. *Journal of Food Engineering*. 2019. Vol. 254. P. 34-41
2. Agnieszka Olzyńska, Waldemar Kulig, Heikki Mikkolainen. Tail-Oxidized Cholesterol Enhances Membrane Permeability for Small Solutes. *Langmuir*. 2020. Vol. 36, № 35. P10438-10447.
3. Amanda Parker, Keith Miles, Kwan Hon Cheng, Juyang Huang. Lateral Distribution of Cholesterol in Dioleoylphosphatidylcholine Lipid Bilayers: Cholesterol-Phospholipid Interactions at High Cholesterol Limit. *Biophysical Journal*. 2004. Vol. 86, № 3, P. 1532-1544.
4. Andreas, N. J., Kampmann, B., & Mehring Le-Doare, K. Human breast milk: A review on its composition and bioactivity. *Early Human Development*, 2015. Vol. 91, № 11. P. 629–635.
5. Beppu, F., Konno, K., Kawamatsu, T., Nagai, T., Yoshinaga, K., Mizobe, H. Comparison of catabolic rates of ¹³C-labeled palmitic acid bound to the alpha and beta positions of triacylglycerol using CO₂ expired from mice. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 2014. Vol. 117. № 5. P. 718–723.
6. Bruce Alberts, Alexander Johnson, Julian Lewis, Martin Raff, Keith Roberts, and Peter Walter. *Molecular Biology of the Cell*, 4th edition. New York: Garland Science. 2002. Vol. 4. P. 1463.
7. Camilia R. Martin, Pei-Ra Ling, George L. Blackburn. Review of Infant Feeding: Key Features of Breast Milk and Infant Formula. *Nutrients*. 2016. Vol. 8, № 5. P. 279.
8. David R. Hill, Rachael H. Buck. Infants Fed Breastmilk or 2'-FL Supplemented Formula Have Similar Systemic Levels of Microbiota-Derived Secondary Bile Acids. *Nutrients*. 2023. Vol.15, № 10. P. 2339.
9. Dirk P. Cerneus, Elles Ueffing, George Posthuma, Ger J. Strousz, and Arie van der End. Detergent Insolubility of Alkaline Phosphatase during Biosynthetic

Transport and Endocytosis. *The Journal of Biological Chemistry*. 1993. Vol. 268, № 5. P. 3150-3155.

10. Fatiha Nassir, R Scott Rector, Ghassan M Hammoud, Jamal A Ibdah. Pathogenesis and Prevention of Hepatic Steatosis. *Gastroenterol Hepatol (N Y)*. 2015. Vol. 11, № 3. P. 167–175.

11. Gjin Ndrepepa. Aspartate aminotransferase and cardiovascular disease—a narrative review. 2021. *JLPM*. Vol. 6.

12. Grace J. Ahern, A.A. Hennessy, C. Anthony Ryan, R. Paul Ross and Catherine Stanton. Advances in Infant Formula Science. *Annual review of food science and technology*. 2019. Vol. 10. P. 75-102.

13. H. Kopylchuk, I. Nikolaychuk, O. Voloshchuk, A. Motrich, O. Konovchuk. Biochemical and laser-polarimetric markers of hepatocyte cytolysis syndrome under conditions of toxic damage and protein deficiency. *Proceedings of SPIE*. 2021. Vol. 12126.

14. Hanigan M. H., Pitot, H. C. Gamma-glutamyl transpeptidase – its role in hepatocarcinogenesis. *Carcinogenesis*. 1985. Vol. 6, №.2. P.165-172.

15. J Chris Bradberry, Daniel E Hilleman. Overview of Omega-3 Fatty Acid Therapies. *P&T*. 2013. Vol. 38, № 11. P. 681–691.

16. Jatinder Bhatia, MD; Frank Greer, MD; and the Committee on Nutrition. Use of Soy Protein-Based Formulas in Infant Feeding. *Pediatrics*. 2008. Vol. 121, № 5. P. 1062–1068.

17. Jennifer L. Pomeranz, Maria J. Romo Palafox, Jennifer L. Harris. Toddler drinks, formulas, and milks: Labeling practices and policy implications. *Preventive Medicine*. 2018. Vol. 109. P. 11-16.

18. José Luis Millán. Alkaline Phosphatases. Structure, substrate specificity and functional relatedness to other members of a large superfamily of enzymes. *Purinergic Signal*. 2006. Vol. 2, № 2. P. 335–341

19. Julio Plaza-Diaz, Francisco Javier Ruiz-Ojeda, Javier Morales et al. Effects of a Novel Infant Formula on Weight Gain, Body Composition, Safety and

Tolerability to Infants: The INNOVA 2020 Study. *Nutrients*. 2023. Vol. 15, № 1. P. 147.),

20. Kalliopi Pafili, Michael Roden. Nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) from pathogenesis to treatment concepts in humans. *Molecular Metabolism*. 2021. Vol. 50. P. 101122

21. Koo Winston WK, Hockman Elaine M. Posthospital discharge feeding for preterm infants: effects of standard compared with enriched milk formula on growth, bone mass, and body composition. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 2006. Vol. 84, № 6. P. 1357-1364.

22. Lapillonne Alexandre, Salle Bernard , Glorieux Francis H, Claris Olivier. Bone mineralization and growth are enhanced in preterm infants fed an isocaloric, nutrient-enriched preterm formula through term. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 2004. Vol. 80, № 6. P. 1595-1603.

23. Maria Padial-Jaudenes, Esther Castanys-Munoz, Esther Castanys-Munoz, John Lasekan. Physiological Impact of Palm Olein or Palm Oil in Infant Formulas: A Review of Clinical Evidence. *Nutrients*. 2020. Vol. 12, № 12. P. 3676

24. Martinez, J. A., & Ballew, M. P. Infant Formulas. *Pediatrics in Review*. 2011. Vol. 32, № 5. P. 179–189.

25. Matthew W Pantsari, Stephen A Harrison. Nonalcoholic fatty liver disease presenting with an isolated elevated alkaline phosphatase. *J Clin Gastroenterol*. 2006. Vol. 40, № 7. P. 633-635

26. Merritt Russell J., Jenks Belinda H. Safety of Soy-Based Infant Formulas Containing Isoflavones: The Clinical Evidence. *The Journal of Nutrition*. 2004. Vol. 134, № 5. P. 1220S-1224S.

27. Nina R. Connor. Infant formula. *American Family Physician*. 2009. Vol. 79, № 7. P. 565-70.

28. Owens, C., Labuschagne, I., & Lombard, M. The basics of prescribing infant formulas. *South African Family Practice*. 2013. Vol. 55, № 2. P. 123–131.

29. Ribas, S. A., Sichieri, R., Moreira, A. S. B., Souza, D. O., Cabral, C. T. F., Gianinni, D. T., & Cunha, D. B. Phytosterol-enriched milk lowers LDL-

cholesterol levels in Brazilian children and adolescents: Double-blind, cross-over trial. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*. 2017. Vol. 27, № 11. P. 971–977.

30. Safaa Tawfik, Dina Saied, Ola Mostafa, Marwa Salem, Eman Habib. Formula Feeding and Associated Factors among a Group of Egyptian Mothers. *Open Access Maced J Med Sci*. 2019. Vol. 7, № 11. P. 1854–1859.

31. Shelly C. Lu. Glutathione synthesis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*. 2013. Vol. 1830, № 5. P. 3143-3153.

32. Sodhi CP, Fulton WB, Good M, et al. Fat composition in infant formula contributes to the severity of necrotising enterocolitis. *British Journal of Nutrition*. 2018. 120, № 6. P. 665-680.

33. Sónia Gonçalves, Antonio Vasco Maria, Ana S. Silva-Herdade, João Martins e Silva, Carlota Saldanha. Milk enriched with phytosterols reduces plasma cholesterol levels in healthy and hypercholesterolemic subjects. *Nutrition Research*. 2007. Vol. 27, № 4. P. 200-205.

34. Zhengtao Liu, Shuping Que, Jing Xu, Tao Peng. Alanine Aminotransferase-Old Biomarker and New Concept: A Review. *Int J Med Sci*. 2014 Vol.11, № 9. P. 925–935.

35. В. Безрук, І. Семань-Мінько, І. Шкробанець, Т. Булик, Л. Ринжук, М. Гресько, Н. Васильєва, М. Веля. Менеджмент підтримки грудного вигодовування в умовах війни. *Неонатологія, хірургія та перинатальна медицина*. 2024. Vol. 14, № 2(52). P. 145-150.

36. ЮНІСЕФ. Грудне молоко та дитяча суміш: переваги та ризики в умовах війни. 2022. <https://www.unicef.org/ukraine/stories/breastfeeding-baby-food-benefits-risks>

37. Kubyshyna Nadiia, Holoborodko Alina. Determinants of the competitiveness of the "khorol's factory of children's food products" llc trademark. *«Економічний вісник НТУУ "Київський політехнічний інститут"»*. 2024. Vol. 28. P. 75-82

38. Jessica Appleton, Catherine Georgina Russell, Rachel Laws, Cathrine Fowler, Karen Campbell, Elizabeth Denney-Wilson. Infant formula feeding practices associated with rapid weight gain: A systematic review. *Maternal & Child Nutrition*. 2018. Vol. 14, № 3. P. 1-14.
39. Carola Saure EMAIL logo , Marisa Armeno , Consuelo Barcala , Vanesa Giudici and Carmen Silvia Mazza. Excessive weight gain in exclusively breast-fed infants. *Journal of Pediatric Endocrinology and Metabolism*. 2017. Vol.30 № 7. P. 719-724.
40. Stephanie P. Gilley MD, PhD, Nancy F. Krebs MD, MS. Chapter 1 - Infant nutrition. *Present Knowledge in Nutrition (Eleventh Edition)*. 2020. Vol. 2. P. 3-22.

ДОДАТКИ

Охорона праці та безпека в надзвичайних ситуаціях

Правила безпеки передбачають проведення заходів, спрямованих на попередження небезпеки, пов'язаної з особливостями роботи в лабораторії, а саме:

- отруєння, алергізація, опіки та інші ураження, пов'язані із застосуванням отруйних і вогнебезпечних речовин, сильних кислот, лугів тощо;
- вплив шкідливих чинників під час роботи з приладами, обладнанням і скляним посудом.

Обладнання біохімічної лабораторії

До загального обладнання біохімічної лабораторії належать: термостати повітряні, фотоколориметри, спектрофотометри, центрифуги, шафи сушильні, гематологічні аналізатори, біохімічні аналізатори, мікроскопи, дозатори, автоклави, дистилятори тощо.

Під час експлуатації апаратури та обладнання необхідно суворо дотримуватись вимог інструкцій та паспортів. Робота на несправних електроприладах та електрообладнанні забороняється.

Під час *експлуатації центрифуг* необхідно дотримуватись таких вимог:

- при завантаженні пробірками розташовувати їх суворо попарно для рівноваги;
- перед включенням в електромережу перевірити, чи герметично до корпусу прилягає кришка;
- вмикати в електромережу плавно, після вимкнення дати можливість ротору зупинитись, зупиняти рукою забороняється;
- після роботи потрібно провести огляд приладу і протерти його.

Під час *експлуатації термостата* необхідно дотримуватись вимог:

- забороняється ставити в термостат речовини, що легко займаються;
- захисні ковпаки від регулюючих пристроїв не можна знімати без електрика;
- чистити можна тільки після відключення від електромережі.

При роботі з **електрообладнанням** забороняється:

- працювати з незаземленим обладнанням;
- торкатися частин обладнання, через які проходить струм;
- перекладати з місця на місце апарати, які перебувають під напругою;
- користуватись несправним обладнанням;
- самостійно ремонтувати обладнання та замінювати стандартні запобіжники саморобними;
- закріплювати електропровід мотузкою, цвяхами тощо;
- працювати з обладнанням, що не пройшло чергової перевірки згідно з графіком;
- працювати без засобів захисту;
- залишати без догляду ввімкнене обладнання.

Заходи надання першої допомоги

1. При роботі в біохімічній лабораторії найбільш вірогідними випадками є пошкодження, пов'язані з необережним поводженням з хімічними реактивами, вогнем і електронагрівальними приладами, скляним посудом, аваріями лабораторного обладнання.

2. При опіках хімічними речовинами, особливо кислотами і лугами, уражену ділянку шкіри швидко промивають великою кількістю води, а потім на обпечене місце накладають примочку: при опіках кислотою з 2 % розчином питної соди; при опіках лугами з 2 % розчином оцтової кислоти.

3. При термічних опіках обпечене місце присипають двовуглекислим натрієм (питна сода), крохмалем або тальком, або прикладають примочки з 96% етилового спирту, 2 % свіжоприготованим розчином питної соди або 2 % розчином перманганату калію. Потім змащують уражене місце маззю від опіків. При важких опіках потерпілого слід негайно відправити до медпункту.

4. При отруєнні парами шкідливих і отруйних речовин вивести по на чисте повітря, при необхідності зробити штучне дихання, дати протиотруту (молоко), викликати лікаря або відправити до медпункту.

5. При отруєнні через стравохід дати потерпілому велику кількість 2 % розчину перманганату калію, дати протиотруту (молоко), викликати лікаря або відправити до медпункту.