

М. М. Кондро¹, Б. М. Вервега¹, Т. В. Берегова², М. Я. Співак³¹Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького²ННЦ "Інститут біології та медицини" Київського національного університету

імені Тараса Шевченка

³Інститут мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного НАН України, Київ

ВПЛИВ ГЛУТАМАТІНДУКОВАНОГО ОЖИРІННЯ НА МЕТАБОЛІЧНИЙ ПРОФІЛЬ ПЕЧІНКИ ТА КОРЕКЦІЯ МУЛЬТИПРОБІОТИКОМ АБО НАНОКРИСТАЛІЧНИМ ДІОКСИДОМ ЦЕРІЮ

Вступ. На сьогодні немає однонаправленого формулювання щодо механізмів патогенезу стеатогепатозу та його зв'язку із супутніми патологіями, що в цілому визначає актуальність досліджень. З'ясування біохімічних процесів, що лежать в основі розвитку ожиріння, дозволить впровадити в медичну практику нові ефективні засоби для корекції цього захворювання і супутніх патологій.

Мета дослідження – оцінити корекційний вплив мультипробіотика "Симбітер ацидофільний" концентрований або нанокристалічного діоксиду церію на формування стеатогепатозу, індукованого неонатальним введенням глютамату натрію.

Методи дослідження. Досліди проведено на білих нелінійних щурах-самцях. Напрямок включав дослідження механізмів розвитку стеатогепатозу у тварин протягом 16 тижнів, яким у неонатальний період вводили глютамат натрію, та дослідження структурно-функціонального стану печінки у щурів після неонатального введення глютамату натрію на тлі періодичного введення мультипробіотика або нанокристалічного діоксиду церію.

Результати й обговорення. Встановлено, що неонатальне введення глютамату натрію викликало у щурів віком 16 тижнів метаболічні зміни, які проявлялися диспропорційним накопиченням жиру з розвитком вісцерального ожиріння без гіперфагії, дисліпідемії, стеатогепатозу. Після неонатального введення глютамату натрію у тварин порушувався ліпідний обмін, що проявлялося підвищенням концентрації триацилгліцеролів, загального холестеролу, ліпопротеїнів низької і дуже низької щільності та зниженням концентрації ліпопротеїнів високої щільності. Періодичне введення щурам мультипробіотика або нанокристалічного діоксиду церію після неонатального введення глютамату натрію суттєво нормалізувало показники ліпідного обміну.

Висновки. У щурів, яким у неонатальний період вводили глютамат натрію, періодичне застосування мультипробіотика "Симбітер ацидофільний" концентрований або нанокристалічного діоксиду церію суттєво відновлювало морфофункціональний стан печінки, зменшувало прояви оксидативного стресу і запобігало розвитку стеатогепатозу, що свідчить про антиоксидантну дію цих препаратів та можливість їх використання для профілактики стеатогепатозу.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: глютамат натрію; ожиріння; стеатогепатоз; мультипробіотик; нанокристалічний діоксид церію.

ВСТУП. Структурно-функціональні зміни в печінці, що передують розвитку стеатогепатозу, залишаються невивченою проблемою. Очевидно, підвищений вміст вісцерального жиру впливає на метаболізм глюкози і ліпідів, унаслідок чого розвивається стеатоз, а потім запалення печінки. Результати численних експериментальних і клінічних досліджень патогенезу стеатогепатозу, отримані протягом останніх років, показали доволі суперечливі дані. Деякі дослідники стверджують, що на початкових етапах жирової інфільтра-

© М. М. Кондро, Б. М. Вервега, Т. В. Берегова, М. Я. Співак, 2024.

ції гепатоцитів можуть значно посилюватися процеси окиснення ліпідів, особливо щодо функціонування транспортних процесів через мітохондріальну мембрану. Інші наголошують на протилежному ефекті від надмірного надходження ліпідів і вуглеводів, а саме посиленні синтезу триацилгліцеролів у цитоплазмі, що сприяє посиленню акумуляційних процесів. Така неоднозначність експериментальних даних пов'язана з досить поганим діагностуванням ранніх етапів, які у хворих перебігають безсимптомно, та ускладнює встановлення чіткої послідовності подій, що супроводжують розвиток стеатогепатозу.

За фізіологічних умов триацилгліцероли генерують енергію і слугують субстратом для синтезу мембран, хоча при їх надлишку можливе гепатоцелюлярне ураження. Вважають, що чотири патогенетичних механізми відповідальні за накопичення ліпідних крапель на основі триацилгліцеролів, а саме: посилене поглинання вільних жирних кислот при споживанні їжі з високим вмісту жиру або з адипоцитів жирової тканини; збільшений синтез вільних жирних кислот у печінці з глюкози чи ацетилкоензиму А, особливо при надлишку останнього і за наявності інсулінорезистентності [1]; зниження активності мітохондріального β -окиснення вільних жирних кислот, викликане безліччю речовин (лікарські препарати – естрогени, кортикостероїди, аналоги нуклеозидів, деякі високомолекулярні антибіотики, вітамін А та ін., хімічні сполуки, що володіють гепатотоксичністю) [2]; недостатня інкорпорація або експорт триацилгліцеролів у ліпопротеїни дуже низької щільності (ЛПДНЩ) [3].

На сьогодні популярна “теорія множинних паралельних ударів” [4]. Згідно з нею, першим ударом є інсулінорезистентність і ті порушення в організмі, які вона викликає. Інсулінорезистентність спричиняє зростання секреції інсуліну і підвищення його концентрації у крові, тобто розвивається гіперінсулінемія. Остання викликає посилення синтезу ліпідів у печінці та гальмування ліполізу в жировій тканині. У результаті збільшується надходження в печінку вільних жирних кислот із жирової тканини. Далі серія ударів справляє уражаючий вплив на гепатоцити, для яких характерною вже є жирова інфільтрація. Стеатоз починає переростати в неалкогольний стеатогепатит і фіброз. До таких ударів належать окисне ушкодження гепатоцитів, порушення регуляції апоптозу гепатоцитів, активація трансформуючого фактора росту β (TGF- β) [4].

Аналіз літератури щодо ролі кишкової мікробіоти у розвитку ожиріння [5, 6] дозволив обрати як науково обґрунтовані корекційні засоби два препарати: пробіотичний препарат для нормалізації якісного і кількісного складу мікрофлори кишечника – мультипробіотик “Симбітер ацидофільний” концентрований (фірма НВП “О.Д. Пролісок”, Україна); препарат із пребіотичною активністю – нанокристалічний діоксид церію.

Мета дослідження – оцінити корекційний вплив мультипробіотика “Симбітер ацидофільний” концентрований або нанокристалічного діоксиду церію на формування стеатогепатозу, індукованого неонатальним введенням глутамату натрію.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Експерименти проведено на білих нелінійних щурах-самцях,

яких утримували у віваріях Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького і Київського національного університету імені Тараса Шевченка з дотриманням правил Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986) і Загальних етичних принципів експериментів на тваринах, ухвалених на Першому національному конгресі з біоетики (Київ, 2001). Комісії з питань біоетики Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького (протокол № 5 від 22.06.2020 р.) і Навчально-наукового центру “Інститут біології та медицини” Київського національного університету імені Тараса Шевченка (протокол № 1 від 04.02.2019 р.) морально-етичних порушень при проведенні експериментальних досліджень не виявили.

Модель ожиріння полягала у введенні щурам у неонатальний період глутамату натрію, доза якого становила 4 мг/г, розчиненого у воді для ін’єкцій об’ємом 8 мкл/г [7]. Глутамат натрію вводили підшкірно на 2-й, 4-й, 6-й, 8-й і 10-й дні після народження. Загальна кількість ін’єкцій дорівнювала п’яти. За цією методикою, введення глутамату натрію у великих дозах щурам у ранній неонатальний період призводило до руйнування аркуатних ядер, у результаті чого у щурів віком 16 тижнів розвивались ожиріння та інсулінорезистентність, а також реєстрували ураження печінки [8].

Дослідження, присвячені розробці методів корекції ожиріння, проведено на моделі глутаматіндукованого ожиріння, оскільки глутамат натрію Е 621 (натрієва сіль глутамінової амінокислоти) є одним з найбільш відомих і популярних у всьому світі посилювачів смаку, аромату, замінників солі та, нарешті, речовин, що маскують старі й зіпсовані продукти, роблячи їх на вигляд і смак свіжими. Глутамат натрію успішно маскує смак сої, надаючи їй смаку м’яса. Кількості сої у ковбасних виробках навіть не маркують. Регулярне споживання їжі з високим вмістом глутамату натрію викликає фізичне і психічне звикання до такої їжі, що робить зрозумілою залежність людей від ресторанів фаст фуд, які широко використовують глутамат натрію. Відомо, що глутамат натрію викликає ряд захворювань: “синдром китайського ресторану”, гастрит, виразкову хворобу шлунка, ожиріння. Дизайн і експериментальні групи тварин наведено в таблиці 1 [9].

Після закінчення експерименту тварин зважували та умертвляли шляхом цервікальної дислокації. Далі відпрепарували і зважували вісцеральну жирову тканину (епідимальний, периренальний та сальниковий жир).

Таблиця 1 – Дизайн і експериментальні групи тварин із глутаматіндукованим ожирінням (n=20)

Група тварин			
1-ша – контрольна	2-га – глутаматіндуковане ожиріння	3-тя – глутаматіндуковане ожиріння + пробіотик	4-та – глутаматіндуковане ожиріння + нанокристалічний діоксид церію
8 мкл/г води на 2-й, 4-й, 6-й, 8-й, 10-й дні життя	4 мг/г глутамату натрію, розчиненого у воді для ін'єкцій об'ємом 8 мкл/г води, на 2-й, 4-й, 6-й, 8-й, 10-й дні життя	4 мг/г глутамату натрію, розчиненого у воді для ін'єкцій об'ємом 8 мкл/г води, на 2-й, 4-й, 6-й, 8-й, 10-й дні життя	4 мг/г глутамату натрію, розчиненого у воді для ін'єкцій об'ємом 8 мкл/г води, на 2-й, 4-й, 6-й, 8-й, 10-й дні життя
Вода об'ємом 0,25 мл/100 г (двотижневе курсове введення впродовж 3 місяців після 1 місяця життя)	Вода об'ємом 0,25 мл/100 г (двотижневе курсове введення впродовж 3 місяців після 1 місяця життя)	Водний розчин мультипробіотика "Симбітер ацидофільний" концентрований (140 мг/кг) об'ємом 0,25 мл/100 г (двотижневе курсове введення впродовж 3 місяців після 1 місяця життя)	Нанокристалічний діоксид церію (1 мг/кг), розчинений у воді, об'ємом 0,29 мл/100 г (двотижневе курсове введення впродовж 3 місяців після 1 місяця життя)

У кожної тварини наявність ожиріння визначали за індексом Лі, що є відношенням кореня кубічного з маси тіла (г) до назоанальної довжини щура (см). Щурів, у яких значення індексу Лі було більшим 0,300, класифікували як тварин з ожирінням, а щурів із значенням індексу Лі, близьким або меншим 0,300, відносили до нормальних тварин [10].

Отримували сироватку крові щурів загальноприйнятним методом. Функціональний стан печінки оцінювали за визначенням у сироватці крові тварин аланінамінотрансферазної (АлАТ), аспартатамінотрансферазної (АсАТ) активності, рівня загального, непрямого та прямого білірубіну, тимолової проби. Аланін- та аспартатамінотрансферазну активність у сироватці крові визначали спектрофотометричним методом на біохімічному аналізаторі "MicroLab 300" при довжині хвилі 340 нм з використанням стандартних наборів виробництва "PLIVA-Lachema Diagnostika" (Чехія). Рівень загального і прямого білірубіну в сироватці крові визначали за методом Ендрашика [11]. Визначення тимолової проби у сироватці крові щурів базувалося на властивості патологічних β - і γ -глобулінів та ліпопротеїнів осаджуватись у сироватці крові буферним розчином з великим вмістом тимолу при рН 7,55. До дослідної проби додавали 1,2 мл тимолового реактиву, потім – 0,02 мл сироватки крові, перемішували і витримували 30 хв. Після цього ретельно струшували і відразу вимірювали оптичну густину проти тимолового реактиву. Ступінь помутніння визначали за калібрувальною кривою (SH). Концентрацію ліпопротеїнів високої щільності (ЛПВЩ), ліпопротеїнів низької щільності (ЛПНЩ) і триацилгліцеролів у сироватці крові вимірювали спектрофотометричним методом за допомогою біохімічного аналізатора

"MicroLab 300" при довжині хвилі 600 нм. У ході дослідження використовували стандартні набори для визначення вмісту ЛПВЩ виробництва "PLIVA-Lachema Diagnostika" (Чехія). Визначення концентрації загального холестеролу основане на реакції взаємодії кольорового реактиву з холестеролом за різних температурних умов. Метод включав два етапи: спочатку визначали вільний холестерол, потім – загальну кількість вільного та зв'язаного холестеролу.

Статистичну обробку результатів дослідження проводили загальноприйнятими методами варіаційної статистики. Для визначення виду розподілу даних використовували W-критерій Шапіро – Уїлка. Оскільки розподіл даних був нормальним, достовірність різниці між контрольними та дослідними вимірами оцінювали за t-критерієм Стьюдента. Достовірно вважали різницю між порівнюваними показниками при $p < 0,05$. Розрахунки і побудову графіків виконували на комп'ютері з використанням прикладних програм: OriginLab Origin 8.0 та Microsoft Excel 2007.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. У наших експериментах індекс Лі у щурів контрольної групи становив $0,29 \pm 0,02$, а у тварин після неонатального введення глутамату натрію – $0,36 \pm 0,03$ ($p < 0,001$). Отже, введення щурам глутамату натрію в неонатальний період призводило до ожиріння у віці 4 місяці за рахунок зростання маси вісцерального жиру у тварин, яка була на 107,2 % ($p < 0,001$) більшою, ніж у щурів контрольної групи. При цьому гіперфагія не розвивалась, оскільки щоденне споживання корму не змінювалось. Як видно з таблиці 2, у щурів з глутаматіндукованим ожирінням АлАТ і АсАТ активність не зазнавала статистично

достовірних змін порівняно з контролем. Також воно не впливало на параметри пігментного метаболізму у тварин, на що вказував рівень загального, непрямого і прямого білірубину в сироватці крові, який статистично достовірно не відрізнявся від контролю.

У щурів із стеатозом печінки, індукованим неонатальним введенням глютаму натрію, відмічали порушення протеїносинтезувальної функції печінки, що проявлялося зниженням концентрації загального протеїну в сироватці крові на 13,7 % ($p < 0,05$). Здатність печінки синтезувати протеїни дозволяє оцінити також тимолова проба. Як показано в наших експериментах, показник тимолової проби (одиниці помутніння S-H) зростає у тварин віком 4 місяці після неонатального введення глютаму натрію на 119,3 % ($p < 0,001$). Загальновідомо, що збільшення показника тимолової проби є ознакою підвищення у крові концентрації α -, β - і γ -глобулінів та ліпопротеїнів, що найчастіше спостерігають при захворюваннях печінки. Тому не визначали глобулінів, але концентрація ЛПНЩ і ЛПДНЩ у цих щурів значно перевищувала норму (див. табл. 2).

Проте ліпідний обмін у щурів з глютаміндукованим ожирінням суттєво відрізнявся від такого у тварин контрольної групи (див. табл. 2). Вміст загальних ліпідів та концентрація триацилгліцеролів у гомогенаті печінки зростає на 38,2 % ($p < 0,01$) і 21,5 % ($p < 0,05$), що свідчило про порушення ліпідного обміну.

Одержані результати узгоджуються з даними літератури, за якими гіпертрофія білої жирової тканини (ознака вісцерального ожиріння) викликає локальну інсулінорезистентність і збільшує

ліполітичну активність адипоцитів та зменшує локальне перетворення вільних жирних кислот, підвищуючи їх рівень у сироватці крові. Посилене поглинання гепатоцитами вільних жирних кислот призводить до ектопічної акумуляції жиру і ліпотоксичності через обмежену здатність печінки окиснювати та/або виводити надлишок вільних жирних кислот [12]. Гіперінсулінемія додатково спричиняє *de novo* ліпогенезис, що зумовлює надмірну акумуляцію жиру в печінці; це частково компенсується збільшенням секреції триацилгліцеролів та утворенням ЛПНЩ, що у кінцевому результаті викликає гіпертриацилгліцеролемію [12]. Дійсно, в наших експериментах зростали як вміст загальних ліпідів, так і концентрація триацилгліцеролів у печінці. При цьому в сироватці крові підвищувалась концентрація триацилгліцеролів на 207,0 % ($p < 0,001$), ЛПНЩ – на 83,5 % ($p < 0,001$), а ЛПДНЩ – на 209,8 % ($p < 0,001$). У цих щурів концентрація загального холестеролу зростала на 55,4 % ($p < 0,001$), а концентрація ЛПВЩ знижувалась на 33,1 % ($p < 0,01$).

Зацікавленість викликає вплив пробіотиків на ліпідний обмін, особливо на відкладення в артеріях холестеролу, що пов'язують з високим ризиком розвитку серцево-судинних захворювань [13]. У багатьох клінічних дослідженнях показано, що приймання пацієнтами з гіперхолестеролемією деяких пробіотиків, які містять лактобацили і біфідобактерії, сприяє покращенню показників ліпідного обміну [14].

Результати наших досліджень узгоджуються з вищенаведеними даними, оскільки у щурів віком 4 місяці після неонатального введення глютаму натрію на тлі періодичного введення

Таблиця 2 – Біохімічні індикатори у сироватці крові та печінці, що характеризують функції печінки, у щурів із глютаміндукованим ожирінням ($M \pm SD$, $n=15$)

Показник	Контроль (інтактні щури)	Дослід (щури з глютаміндукованим ожирінням)
Адипонектин, $\mu\text{г/мл}$	7,28 \pm 2,27	2,69 \pm 1,08***
Аланинамінотрансфераза, мккат/л	0,228 \pm 0,033	0,211 \pm 0,031
Аспаратамінотрансфераза, мккат/л	0,389 \pm 0,034	0,377 \pm 0,041
Загальний протеїн, г/л	82,48 \pm 7,10	71,18 \pm 5,60*
Загальний білірубін, $\mu\text{моль/л}$	12,40 \pm 2,09	12,70 \pm 1,53
Непрямий білірубін, $\mu\text{моль/л}$	7,90 \pm 1,70	8,10 \pm 1,06
Прямий білірубін, $\mu\text{моль/л}$	4,40 \pm 0,91	4,60 \pm 0,91
Загальні ліпіди, мг/г сирової печінки	15,20 \pm 1,65	21,01 \pm 2,81**
Триацилгліцероли, мг/г сирової печінки	7,02 \pm 0,61	8,53 \pm 0,66*
Триацилгліцероли, ммоль/л	1,15 \pm 0,27	3,53 \pm 0,57***
Загальний холестерол, ммоль/л	4,53 \pm 0,34	7,04 \pm 0,26***
Ліпопротеїни високої щільності, ммоль/л	1,63 \pm 0,14	1,09 \pm 0,19**
Ліпопротеїни низької щільності, ммоль/л	2,37 \pm 0,22	4,35 \pm 0,29***
Ліпопротеїни дуже низької щільності, ммоль/л	0,51 \pm 0,12	1,58 \pm 0,26***
Тимолова проба, одиниці помутніння S-H	1,09 \pm 0,05	2,39 \pm 0,12***

Примітка. * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$ порівняно з контролем.

мультипробіотика “Симбітер ацидофільний” концентрований показники ліпідного обміну були значно кращими, ніж у тварин з глутаматіндукованим ожирінням (табл. 3). Так, порівняно з останніми концентрація триацилгліцеролів у сироватці крові знижувалась на 56,7 % ($p < 0,001$), хоча і залишалась вищою на 33,0 % ($p < 0,05$) відносно інтактного контролю; концентрація ЛПНЩ зменшувалась на 31,2 % ($p < 0,05$), залишаючись більшою на 26,2 % ($p < 0,05$) щодо інтактного контролю; концентрація ЛПДНЩ знижувалась на 40,5 % ($p < 0,05$), але була вищою на 84,3 % ($p < 0,01$) відносно інтактного контролю; концентрація ЛПВЩ зростала на 22,0 % ($p < 0,05$), але залишалась меншою на 18,4 % ($p < 0,05$) від значення цього показника у щурів групи інтактного контролю.

Також періодичне введення мультипробіотики щурам, яким у неонатальний період вводили глутамат натрію, приводило до значно меншого накопичення вісцерального жиру при досягненні тваринами чотиримісячного віку. Його маса зменшувалась на 60,6 % ($p < 0,001$), проте рівня контролю не досягала.

На користь наших даних свідчать роботи, в яких показано, що введення експериментальним тваринам суміші пробіотичних штамів *L. casei* TMC 0409 ($2,4 \cdot 10^{11}$ КУО/см³) і *S. thermophilus* TMC 1543 (10^{10} КУО/см³) сприяло підвищенню концентрації ЛПВЩ на 28 % і зниженню концентрації триацилгліцеролів на 20,0 % [15]. Позитивний ефект відносно рівня ЛПНЩ у сироватці крові мав пробіотичний штам *Bifidobacterium longum* VL1, знижуючи їх концентрацію на 41,0 % порівняно з контролем [16]. Слід навести роботу,

в якій результати щодо впливу пробіотичних штамів на концентрацію триацилгліцеролів у сироватці крові суперечать як нашим, так і даним інших авторів. Автори показали, що пробіотичні штами *L. paracasei* NCC2461 і *L. rhamnosus* NCC4007 можуть впливати на метаболічні процеси в печінці експериментальних мишей, сприяючи зниженню концентрації у крові холестеролу і ліпопротеїнів дуже низької щільності з одночасним підвищенням концентрації триацилгліцеролів [17].

Позитивний вплив мультипробіотики на ліпідний обмін у щурів із глутаматіндукованим ожирінням проявлявся також зниженням концентрації загального холестеролу в сироватці крові тварин на 24,7 % ($p < 0,05$). Як і інші показники ліпідного обміну, концентрація холестеролу хоча і зменшувалась, але не до рівня інтактного контролю, і була більшою від останнього на 17,0 % ($p < 0,05$).

Схожий ефект щодо зниження концентрації холестеролу в сироватці крові, тільки на мишах, спостерігали дослідники після додавання штаму лактобацил *L. plantarum* MA2 в раціон харчування тварин упродовж 5 тижнів [18]. Інші лактобацили виду *Lactobacillus gasseri* також проявляли гіпохолестеролемічну дію при позитивному впливі на вміст ліпідів у сироватці крові, жовчних кислот і стероїдів у фекаліях [19]. У щурів з індукованою гіперхолестеролемією, яким вводили штам *L. acidophilus* ATCC 43121, мало місце помітне зниження концентрації холестеролу [20]. Інші автори показали, що додавання до корму мишей штаму *L. plantarum* KCTC3928 також приводило до гіпохолестеролемічного ефекту,

Таблиця 3 – Біохімічні індикатори у сироватці крові та печінці, що характеризують функції печінки, у щурів із глутаматіндукованим ожирінням і корекція мультипробіотиком ($M \pm SD$, $n=20$)

Показник	Контроль (інтактні щури)	Щури з глутаматіндукованим ожирінням	Щури з глутаматіндукованим ожирінням + мультипробіотик
Аланінамінотрансфераза, мккат/л	0,228±0,033	0,211±0,031	0,221±0,034
Аспартатамінотрансфераза, мккат/л	0,389±0,034	0,377±0,041	0,392±0,044
Загальний білірубін, μмоль/л	12,40±2,09	12,70±1,53	12,50±1,30
Непрямий білірубін, μмоль/л	7,90±1,70	8,10±1,06	7,70±1,40
Прямий білірубін, μмоль/л	4,40±0,91	4,60±0,91	4,60±0,97
Триацилгліцероли, ммоль/л	1,15±0,27	3,53±0,57***	1,53±0,16*####
Загальний холестерол, ммоль/л	4,53±0,34	7,04±0,26***	5,30±0,35*##
Ліпопротеїни високої щільності, ммоль/л	1,63±0,14	1,09±0,19***	1,33±0,11*##
Ліпопротеїни низької щільності, ммоль/л	2,37±0,22	4,35±0,29***	2,99±0,27*##
Ліпопротеїни дуже низької щільності, ммоль/л	0,51±0,12	1,58±0,26***	0,94±0,11**##

Примітки. Тут і в таблиці 4:

1. * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$ порівняно з контролем.

2. # – $p < 0,05$, ## – $p < 0,001$ порівняно з групою щурів із глутаматіндукованим ожирінням.

що дослідники пояснюють впливом на ключові гени і протеїни, які беруть участь у метаболізмі печінкового холестеролу [21]. Здатність деяких пробіотиків попереджувати гіперхолестеролемію пов'язують із пришвидшенням утилізації печінкового холестеролу за рахунок продукування гідролази солей жовчних кислот [22].

Як у щурів із глутаматіндукованим ожирінням, так і в тварин із глутаматіндукованим ожирінням на тлі періодичного введення нанокристалічного діоксиду церію АлАТ і АсАТ активність не зазнавала статистично достовірних змін порівняно з контролем (табл. 4).

Також глутаматіндуковане ожиріння не впливало на параметри пігментного метаболізму в щурів, на що вказував рівень у сироватці крові загального, непрямого і прямого білірубину, який статистично достовірно не відрізнявся від контролю.

У щурів із глутаматіндукованим ожирінням на тлі періодичного введення нанокристалічного діоксиду церію біохімічні індикатори у сироватці крові, що характеризують функції печінки, були значно кращими, ніж у тварин після неонатального введення глутамату натрію (див. табл. 4).

Відмічено покращення протеїносинтезуальної функції печінки: вміст загального протеїну в

сироватці крові збільшувався до рівня інтактного контролю.

Вміст загальних ліпідів у печінці щурів після неонатального введення глутамату натрію на тлі періодичного введення нанокристалічного діоксиду церію зменшувався на 19,0 % ($p < 0,05$) порівняно з тваринами після неонатального введення глутамату натрію (див. табл. 4). При цьому він залишався більшим від даного показника в інтактних щурів на 12,0 % ($p < 0,05$).

Концентрація триацилгліцеролів у печінці та сироватці крові щурів після неонатального введення глутамату натрію на тлі періодичного введення нанокристалічного діоксиду церію знижувалась на 7,6 % ($p < 0,05$) і 35,4 % ($p < 0,05$) відповідно порівняно з тваринами після неонатального введення глутамату натрію (див. табл. 4). Даний показник не відновлювався до рівня інтактного контролю.

Вміст загального холестеролу в сироватці крові щурів після неонатального введення глутамату натрію на тлі періодичного введення нанокристалічного діоксиду церію зменшувався на 19,7 % ($p < 0,05$) порівняно з тваринами після неонатального введення глутамату натрію (див. табл. 4). Даний показник також не відновлювався до рівня інтактного контролю.

Таблиця 4 – Біохімічні індикатори у сироватці крові та печінці, що характеризують функції печінки, у щурів із глутаматіндукованим ожирінням і корекція нанокристалічним діоксидом церію ($M \pm SD$, $n=15$)

Показник	Контроль (інтактні щури)	Щури після неонатального введення глутамату натрію	Щури після неонатального введення глутамату натрію на тлі періодичного введення нанокристалічного діоксиду церію
Аланинамінотрансфераза, мккат/л	0,197±0,011	0,231±0,011	0,222±0,012
Аспаратамінотрансфераза, мккат/л	0,386±0,007	0,413±0,014	0,375±0,014
Загальний протеїн, г/л	82,48±7,10	71,18±5,60*	79,40±6,32#
Загальний білірубін, μмоль/л	13,50±0,63	13,50±0,26	13,30±0,73
Непрямий білірубін, μмоль/л	8,50±0,52	8,70±0,21	8,30±0,53
Прямий білірубін, μмоль/л	5,00±0,29	4,80±0,24	5,00±0,29
Загальні ліпіди, мг/г сирові печінки	15,20±1,65	21,01±2,81**	17,02±1,22*##
Триацилгліцероли, мг/г сирові печінки	7,02±0,61	8,53±0,66*	7,88±0,44*##
Триацилгліцероли, ммоль/л	1,15±0,27	3,53±0,57***	2,28±0,31*##
Загальний холестерол, ммоль/л	4,53±0,34	7,04±0,26***	5,65±0,48*##
Ліпопротеїни високої щільності, ммоль/л	1,63±0,14	1,09±0,19**	1,59±0,17###
Ліпопротеїни низької щільності, ммоль/л	2,37±0,22	4,35±0,29***	2,46±0,44###
Ліпопротеїни дуже низької щільності, ммоль/л	0,51±0,12	1,58±0,26***	0,59±0,18###
Тимолова проба, одиниці помутніння S-H	1,09±0,05	2,39±0,12***	1,48±0,16*###

Що стосується вмісту ліпопротеїнів у сироватці крові щурів після неонатального введення глутамату натрію на тлі періодичного введення нанокристалічного діоксиду церію, то концентрація ЛПВЩ, ЛПНЩ і ЛПДНЩ відновлювалась до рівня інтактного контролю (див. табл. 4).

Показник тимолової проби у щурів після неонатального введення глутамату натрію на тлі періодичного введення нанокристалічного діоксиду церію знижувався на 38,1 % ($p < 0,05$) порівняно з тваринами після неонатального введення глутамату натрію (див. табл. 4).

Періодичне введення нанокристалічного діоксиду церію щурам після неонатального введення їм глутамату натрію зменшувало масу вісцерального жиру на 60,6 % ($p < 0,001$) порівняно з тваринами після неонатального введення глутамату натрію.

Таким чином, періодичне введення нанокристалічного діоксиду церію щурам після неонатального введення їм глутамату натрію суттєво покращувало біохімічні індикатори у сироватці крові та печінці, що характеризують функції печінки.

ВИСНОВКИ. 1. Дослідження підтверджують раніше опубліковані дані про те, що неонатальне підшкірне введення глутамату натрію викликає ожиріння без гіперфагії, яке діагностують за високим індексом Лі та яке характеризується малою масою тіла та назоанальною довжиною.

2. Встановлено, що неонатальне введення глутамату натрію викликає метаболічні зміни у щурів віком 16 тижнів, які проявляються диспропорціональним накопиченням жиру з розвитком вісцерального ожиріння, дисліпідемії, стеатогепатозу.

3. У щурів, яким у неонатальний період вводили глутамат натрію, періодичне застосування мультипробіотика “Симбітер ацидофільний” концентрований або нанокристалічного діоксиду церію суттєво відновлювало морфофункціональний стан печінки, зменшувало прояви оксидативного стресу та запобігало розвитку стеатогепатозу, що свідчить про антиоксидантну дію цих препаратів та можливість їх використання для профілактики стеатогепатозу.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Філіпова О. Ю. Стан перекисного окиснення ліпідів та системи антиоксидантного захисту у хворих на неалкогольний стеатоз печінки з патологією біліарного тракту / О. Ю. Філіпова // Вісн. морфології. – 2010. – **16**, № 4. – С. 831–834.
2. Schuppan D. Non-alcoholic steatohepatitis: pathogenesis and novel therapeutic approaches / D. Schuppan, J. M. Schattenberg // *J. Gastroenterol. Hepatol.* – 2013. – **28**. – No. S1. – P. 68–76.
3. Tannapfel A. Histopathological diagnosis of non-alcoholic and alcoholic fatty liver disease / A. Tannapfel, H. Denk, H. P. Dienes [et al.] // *Virchows Arch.* – 2011. – **458**, No. 5. – P. 511–523.
4. Tacer F. K., Rozman D. Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Focus on Lipoprotein and Lipid Deregulation / F. K. Tacer, D. Rozman // *Journal of Lipids.* – 2011. – **2011**. – P. 1–14.
5. Jia W. The Influence of Gut Microbial Metabolism on the Development and Progression of Non-alcoholic Fatty Liver Disease / W. Jia., C. Rajani // *Adv. Exp. Med. Biol.* – 2018. – **1061**. – P. 95–110.
6. Gerard C. Impact of Gut Microbiota on Host Glycemic Control / C. Gerard, H. Vidal // *Front. Endocrinol. (Lausanne).* – 2019. – No. 10. – P. 29. DOI. 10.3389/fendo.2019.00029.
7. Short-term periodic consumption of multiprobiotic from childhood improves insulin sensitivity, prevents development of non-alcoholic fatty liver disease and adiposity in adult rats with glutamate-induced obesity / O. Savcheniuk, N. Kobyljak, M. Kondro [et al.] // *BMC Complementary and Alternative Medicine.* – 2014. – No. 14. – P. 247
8. Monosodium glutamate (MSG): a villain and promoter of liver inflammation and dysplasia / Y. Nakanishi, K. Tsuneyama, M. Fujimoto [et al.] // *J. Autoimmunity.* – 2008. – **30**, No. 1–2. – P. 42–50.
9. Multiprobiotic therapy from childhood prevents the development of nonalcoholic fatty liver disease in adult monosodium glutamate-induced obese rats / M. Kondro, N. Kobyljak, O. Virchenko [et al.] // *Current Issues in Pharmacy and Medical Sciences.* – 2015. – **27**, No. 4. – P. 243–245.
10. Bernardis L. L. Correlation between “Li index” and carcass fat content in weanling and adult female rats with hypothalamic lesions / L. L. Bernardis, B. D. Patterson // *J. Endocrinol.* – 1968. – No. 40. – P. 527–528.
11. Fossmark R. Gastric cancer: animal studies on the risk of hypoacidity and hypergastrinemia / R. Fossmark, G. Qvigstad, H. Waldum // *World Journal of Gastroenterology.* – 2008. – **14**, No. 11. – P. 1646–1651.
12. Fabbrini E. Obesity and nonalcoholic fatty liver disease: biochemical, metabolic, and clinical implications / E. Fabbrini, S. Sullivan, S. Klein // *Hepatology.* – 2010. – **51**, No. 2. – P. 679–689. DOI: 10.1002/hep.23280.
13. Tuohya K. M. The way to a man’s heart is through his gut microbiota – dietary pro- and prebiotics for management of cardiovascular risk / K. M. Tuohya, F. Favaa, R. Viola // *Proceedings of the Nutrition Society.* – 2014. – **73**. – P. 172–185.
14. Effect of probiotic yogurt containing *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium lactis* on lipid profile in individuals with type 2 diabetes mellitus / H. S. Ejtahed, J. Mohtadi-Nia, A. Homayouni-Rad [et al.] // *J. Dairy Sci.* – 2011. – **9**, No. 7. – P. 3288–3294.

15. Effect of administration of fermented milk containing whey protein concentrate to rats and healthy men on serum lipids and blood pressure / M. Kawase, H. Hashimoto, M. Hosoda [et al.] // *J. Dairy Sci.* – 2000. – **83**, No. 2. – P. 255–263.

16. Effects of milk products fermented by *Bifidobacterium longum* on blood lipids in rats and healthy adult male volunteers / J. Z. Xiao, S. Kondo, N. Takahashi [et al.] // *J. Dairy Sci.* – 2003. – **86**, No. 7. – P. 2452–2461.

17. Probiotic modulation of symbiotic gut microbial-host metabolic interactions in a humanized microbiome mouse model / F. P. Martin, Y. Wang, N. Sprenger [et al.] // *Mol. Syst. Biol.* – 2008. – No. 4. – P. 157. DOI: 10.1038/msb4100190.

18. Effect of *Lactobacillus plantarum* MA2 isolated from Tibet kefir on lipid metabolism and intestinal microflora of rats fed on high-cholesterol diet / Y. Wang, N. Xu,

A. Xi [et al.] // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* – 2009. – **84**, No. 2. – P. 341–347.

19. Fedorak R. N. Probiotics and Prebiotics in Gastrointestinal Disorders / R. N. Fedorak, K. L. Madsen // *Curr. Opin. Gastroenterol.* – 2004. – **20**, No. 2. – P. 146–155.

20. Effect of dietary inclusion of *Lactobacillus acidophilus* ATCC 43121 on cholesterol metabolism in / Y. H. Park, J. G. Kim, Y.W. Shin [et al.] // *J. Microbiol. Biotechnol.* – 2007. – No. 17. – P. 655–662.

21. Hypocholesterolemic effects of *Lactobacillus plantarum* KCTC3928 by increased bile acid excretion in C57BL/6 mice // J. Jeun, S. Kim, S. Y. Cho [et al.] // *Nutrition.* – 2009. – **26**, No. 3. – P. 321–330.

22. Functional characteristics of *Lactobacillus* spp. From traditional Maasai fermented milk products in / J. M. Mathara, U. Schillinger, C. Guigas [et al.] // *Int. J. Food Microbiol.* – 2008. – **126**, No. 1–2. – P. 57–64.

REFERENCES

- Filipova, O.Yu. (2010). The state of lipid peroxidation and the antioxidant defense system in patients with non-alcoholic steatosis of the liver with pathology of the biliary tract. *Herald of Morphology*, 16(4), 831-834.
- Schuppan, D., Schattenberg, J.M. (2013). Non-alcoholic steatohepatitis: pathogenesis and novel therapeutic approaches. *J. Gastroenterol. Hepatol.*, 28 (Suppl. 1), 68-76.
- Tannapfel, A., Denk, H., Dienes, H.P., Langner, C., Schirmacher, P., Trauner, M. (2011). Histopathological diagnosis of non-alcoholic and alcoholic fatty liver disease. *Virchows Arch.*, 458 (5), 511-523.
- Tacer, F.K., Rozman, D. (2011). Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Focus on Lipoprotein and Lipid Deregulation. *Journal of Lipids*, 2, 1-14.
- Jia, W., Rajani, C. (2018). The Influence of Gut Microbial Metabolism on the Development and Progression of Non-alcoholic Fatty Liver Disease. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 1061, 95-110.
- Gerard, C., Vidal, H. (2019). Impact of Gut Microbiota on Host Glycemic Control. *Front. Endocrinol. (Lausanne)*, 10, 29. DOI: 10.3389/fendo.2019.00029.
- Savcheniuk, O., Kobyljak, N., Kondro, M., Virchenko, O., Falalyeyeva, T., Beregova, T. (2014). Short-term periodic consumption of multiprobiotic from childhood improves insulin sensitivity, prevents development of non-alcoholic fatty liver disease and adiposity in adult rats with glutamate-induced obesity. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 14, 247.
- Nakanishi, Y., Tsuneyama, K., Fujimoto, M., Salunga, T.L. (2008). Monosodium glutamate (MSG): a villain and promoter of liver inflammation and dysplasia. *J. Autoimmunity*, 30(1-2), 42-50.
- Kondro, M., Kobyljak, N., Virchenko, O., Falalyeyeva, T., Beregova, T., Bodnar, P. (2015). Multiprobiotic therapy from childhood prevents the development of nonalcoholic fatty liver disease in adult monosodium glutamate-induced obese rats. *Current Issues in Pharmacy and Medical Sciences*, 27 (4), 243-245.
- Bernardis, L.L., Patterson, B.D. (1968). Correlation between "Li index" and carcass fat content in weanling and adult female rats with hypothalamic lesions. *J. Endocrinol.*, 40, 527-528.
- Fossmark, R., Qvigstad, G., Waldum, H. (2008). Gastric cancer: animal studies on the risk of hypoacidity and hypergastrinemia. *World Journal of Gastroenterology*, 14(11), 1646-1651.
- Fabbrini, E., Sullivan, S., Klein, S. (2010). Obesity and nonalcoholic fatty liver disease: biochemical, metabolic, and clinical implications. *Hepatology*, 51(2), 679-689. DOI: 10.1002/hep.23280.
- Tuohya, K.M., Favava, F., Viola, R. (2014). The way to a man's heart is through his gut microbiota – dietary pro- and prebiotics for management of cardiovascular risk. *Proceedings of the Nutrition Society*, 73, 172-185.
- Ejtahed, H.S., Mohtadi-Nia, J., Homayouni-Rad, A., Niafar, M., Asghari-Jafarabadi, M., Mofid, V., Akbarian-Moghari, A. (2011). Effect of probiotic yogurt containing *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium lactis* on lipid profile in individuals with type 2 diabetes mellitus. *J. Dairy Sci.*, 94 (7), 3288-3294.
- Kawase, M., Hashimoto, H., Hosoda, M. (2000). Effect of administration of fermented milk containing whey protein concentrate to rats and healthy men on serum lipids and blood pressure. *J. Dairy Sci.*, 83(2), 255-263.
- Xiao, J.Z., Kondo, S., Takahashi, N. (2003). Effects of milk products fermented by *Bifidobacterium longum* on blood lipids in rats and healthy adult male volunteers. *Dairy Sci.*, 86 (7), 2452-2461.
- Martin, F.P., Wang, Y., Sprenger, N. (2008). Probiotic modulation of symbiotic gut microbial-host metabolic interactions in a humanized microbiome mouse model. *Mol. Syst. Biol.*, 4, 157. DOI: 10.1038/msb4100190.
- Wang, Y., Xu, N., Xi, A. (2009). Effect of *Lactobacillus plantarum* MA2 isolated from Tibet kefir on lipid metabolism and intestinal microflora of rats fed on high-cholesterol diet. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 84(2), 341-347.
- Fedorak, R.N., Madsen, K.L. (2004). Probiotics and Prebiotics in Gastrointestinal Disorders. *Curr. Opin. Gastroenterol.*, 20(2), 146-155.

20. Park, Y.H., Kim, J.G., Shin, Y.W., Kim, S.H., Whang, K.Y. (2007). Effect of dietary inclusion of *Lactobacillus acidophilus* ATCC 43121 on cholesterol metabolism in rats. *J. Microbiol. Biotechnol.*, 17, 655-662.

21. Jeun, J., Kim, S., Cho, S.Y., Jun, H.J., Park, H.J., Seo, J.G., Chung, M.J., Lee, S.J. (2009). Hypocholesterolemic effects of *Lactobacillus plantarum* KCTC3928

by increased bile acid excretion in C57BL/6 mice. *Nutrition*, 26, 321-330.

22. Mathara, J.M., Schillinger, U., Guigas, C., Franz, C., Kutima, P.M., Mbugua, S.K., Shin, H.K., Holzappel, W.H. (2008) Functional characteristics of *Lactobacillus* spp. From traditional Maasai fermented milk products in Kenya. *Int. J. Food Microbiol.*, 126, 57-64.

Отримано 16.01.2024

Адреса для листування: М. М. Кондро, Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, вул. Пекарська, 69, Львів, 79010, Україна, e-mail: marianakondro@gmail.com.

M. M. Kondro¹, B. M. Verveha¹, T. V. Beregova², M. Ya. Spivak³

¹DANYLO HALYTSKY LVIV NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY

²EDUCATIONAL AND SCIENTIFIC CENTRE "INSTITUTE OF BIOLOGY AND MEDICINE"
AT TARAS SHEVCHENKO NATIONAL UNIVERSITY OF KYIV

³INSTITUTE OF MICROBIOLOGY AND VIROLOGY NAMED AFTER D. K. ZABOLOTNY,
NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF UKRAINE, KYIV

EFFECT OF GLUTAMATE-INDUCED OBESITY ON THE METABOLIC PROFILE OF THE LIVER AND CORRECTION BY MULTIPROBIOTIC OR NANOCRYSTALLINE CERIUM DIOXIDE

Summary

Introduction. Currently, there is no unidirectional formulation regarding the mechanisms of the pathogenesis of steatohepatosis and its connection with accompanying pathologies, which generally determines the relevance of research.

The aim of the study – to characterize the corrective effect of the multiprobiotic "Symbiter acidophilic" concentrated or nanocrystalline cerium dioxide on the formation of steatohepatosis induced by neonatal sodium glutamate administration.

Research Methods. The experiments were carried out on white non-linear male rats, the direction included the study of the mechanisms of development of steatohepatosis in rats for 16 weeks, which were administered monosodium glutamate in the neonatal period and the study of the structural and functional state of the liver in rats after neonatal administration of monosodium glutamate against the background of periodic administration of a multiprobiotic or nanocrystalline cerium dioxide.

Results and Discussion. It was established that neonatal sodium glutamate administration causes metabolic changes in 16-week-old rats, which are manifested in disproportionate accumulation of fat with the development of visceral obesity, dyslipidemia, and steatohepatosis. In rats, after neonatal administration of monosodium glutamate, lipid metabolism was disturbed, which was manifested in an increase in the concentration of triglycerides, total cholesterol, low and very low density lipoproteins and a decrease in the concentration of high density lipoproteins. Periodic administration of a multiprobiotic or nanocrystalline cerium dioxide to rats after neonatal sodium glutamate administration significantly normalized lipid metabolism indicators.

Conclusions. In rats injected with monosodium glutamate in the neonatal period, periodic use of the multiprobiotic "Symbiter acidophilic" concentrated or nanocrystalline cerium dioxide significantly restored the morpho-functional state of the liver, reduced the manifestations of oxidative stress and prevented the development of steatohepatosis, which indicates the antioxidant effect of these drugs and the possibility of their use for the prevention of steatohepatosis.

KEY WORDS: sodium glutamate; obesity; hepatic steatosis; multi-probiotic; nanocrystalline cerium dioxide.