

**Instytut Zootechniki Państwowy Instytut Badawczy**



**„Metabolizm lipidów i jego rola w regulacji rozwoju  
przewodu pokarmowego u prosiąt”**

**Paulina Szczurek**

**Promotorzy:**

**dr hab. Marek Pieszka, prof. nadzw.**

**dr hab. Jarosław Woliński, prof. nadzw.**

**Praca wykonana w Zakładzie Fizjologii Żywienia**

**Kraków 2019**

## **STRESZCZENIE PRACY w języku polskim**

*WSTĘP:* Tłuszcze dostarczane z pożywieniem stanowią nie tylko skoncentrowane źródło energii, ale jako ważne komponenty błon komórkowych oraz związki wysoko aktywne biologicznie mogą także regulować szereg procesów biologicznych, w tym odpowiedź immunologiczną, aktywność enzymów i receptorów błonowych, czy proliferację komórek. Dokładny mechanizm działania poszczególnych kwasów tłuszczowych pozostaje jednak wciąż nieokreślony, a ich biologiczny efekt jest silnie uzależniony od ich rodzaju, ilości, budowy fizykochemicznej, a nawet okresu podaży, co wiąże się między innymi z odmienną wydajnością układów enzymatycznych zaangażowanych w ich metabolizm, szczególnie lipazy trzustkowej. Większość tłuszczów w pożywieniu występuje w formie złożonych trójglicerydów, które muszą ulec hydrolizie zanim będą mogły zostać zaabsorbowane na powierzchni enterocytów. Tłuszcze poprzez regulację odpowiedzi hormonalnej i homeostazy energetycznej organizmu, mogą również wpływać na rozwój przewodu pokarmowego, co może mieć szczególne znaczenie w sytuacjach takich jak wcześniactwo czy okres poodrodzeniowy, kiedy to dochodzi do zaburzenia struktury i funkcji przewodu pokarmowego i w konsekwencji zahamowania wzrostu organizmu. Obserwowane wówczas zmiany w strukturze błony śluzowej przewodu pokarmowego połączone z obniżoną aktywnością sekrecyjną prowadzą do spadku pojemności absorpcyjnej jelita i istotnie upośledzają trawienie i absorpcję składników pokarmowych. Obecne zalecenia żywieniowe dotyczące tłuszczów, zarówno dla wcześniaków, jak i prosiąt odsadzonych, wydają się być nie adekwatne do ich wysokich potrzeb fizjologicznych, a w wielu wypadkach brak jest jednoznacznych wytycznych określających najoptymalniejszy poziom i rodzaj tłuszczu w diecie.

*CEL BADAŃ:* Celem doświadczenia I była ocena wpływu egzogennej hydrolizy lipazą pochodzenia mikrobiologicznego tłuszczów zawartych w mieszance mlecznej suplementowanej dodatkowo kwasami DHA i ARA na absorpcję kwasów tłuszczowych, rozwój strukturalny przewodu pokarmowego oraz parametry wzrostu nowo narodzonych prosiąt jako zwierzęcego modelu dla ludzkich wcześniaków. Z kolei celem doświadczenia II była ocena wpływu suplementacji diety odsadzonych prosiąt tłuszczami o różnym profilu kwasów tłuszczowych na parametry produkcyjne, parametry metaboliczne i hematologiczne krwi, ekspresję genów związanych z regulacją energetyczną w podwzgórzcu oraz rozwój strukturalny przewodu pokarmowego.

**MATERIAŁY I METODY:** Doświadczenie I przeprowadzono na nowonarodzonych prosiątach urodzonych 8 dni przed planowanym terminem, co koresponduje z ok. 30 tygodniem ciąży u ludzi. Wewnątrz żołądka prosiąt umieszczono specjalne sondy, a w żyłę szyjnej silikonowe katetery, aby umożliwić, odpowiednio, karmienie dojelitowe oraz bezstresowe pobieranie krwi. Po okresie adaptacyjnym prosięta podzielono na dwie grupy (n=14): grupę kontrolną karmioną niezhydrolizowaną mieszanką mleczną oraz grupę PrEFIC karmioną mieszanką mleczną po egzogennej hydrolizie lipazą. Mieszanka mleczna składała się z mleka dawczyń ze wzmacniaczem mleka oraz preparatu mlekozastępczego i była dodatkowo suplementowana olejami z DHA i ARA. Egzogeną hydrolizę prowadzono z wykorzystaniem specjalnej kolumny PrEFIC zawierającej we wnętrzu immobilizowaną lipazę pochodzenia mikrobiologicznego, która łączy się bezpośrednio z zestawem do żywienia dojelitowego. W trakcie trwania doświadczenia prowadzono pomiary masy ciała prosiąt, spożycia mieszanki mlecznej, trzykrotnie pobrano próbki krwi, a ostatniego dnia zebrano próbki kału celem analizy profilu kwasów tłuszczowych. Po 10-dniowym okresie doświadczalnym prosięta uśmiercono, a próbki tkanek mózgu i przewodu pokarmowego pobrano, odpowiednio, celem analizy profilu kwasów tłuszczowych i oceny morfometrycznej. Dodatkowo 4 prosięta wcześniaki oraz 4 noworodki niessące zostały uśmiercone zaraz po porodzie dla celów porównawczych.

Doświadczenie II wykonano na 42-dniowych knurkach linii 990, odsadzonych w 28 dniu życia. Prosięta zostały przydzielone do 3 grup (n=6): grupę kontrolną otrzymującą standardową paszę dla odsadzonych prosiąt typu starter; grupę OL otrzymującą paszę z dodatkiem 10% oleju lnianego; grupę OP+F otrzymującą paszę z dodatkiem 10% frakcjonowanego oleju palmowego w połączeniu fosfolipidami. Prosięta karmione były *ad libitum*, a badania żywieniowe prowadzono przez 21 dni. W trakcie trwania doświadczenia prowadzono pomiary masy ciała prosiąt oraz pobrania paszy, a ostatniego dnia doświadczenia przeprowadzono kolekcję próbek krwi celem analiz biochemicznych i hematologicznych, po czym prosięta uśmiercono, a podwzgórze i tkanki przewodu pokarmowego pobrano, odpowiednio, celem analizy ekspresji genów i oceny morfometrycznej.

**WYNIKI I WNIOSKI:** Prosięta urodzone przedwcześnie stanowią wiarygodny model dla ludzkich noworodków naśladując je pod względem niskiej masy urodzeniowej, objętości spożywanego pokarmu, ogólnej niedojrzałości przewodu pokarmowego oraz niskiego poziomu DHA i ARA w osoczu zaraz po urodzeniu. Zastosowanie egzogennej hydrolizy tłuszczów zawartych w mieszance mlecznej lipazą pochodzenia mikrobiologicznego prowadzi do wzrostu absorpcji kwasów tłuszczowych w osoczu, w tym krytycznych dla wzrostu i rozwoju

wcześnieaków LCPUFA, oraz do ich zmniejszonej ekskrecji w kale już po 10 dniach stosowania. Ponadto, egzogenna hydroliza tłuszczów korzystnie wpływa na morfologię jelita czczego prosiąt przedwcześnie urodzonych, pozwalając na uzyskanie charakterystyki morfologicznej odpowiadającej prosiętom urodzonym o czasie. Użycie kolumny PrEFIC prowadzi także do poprawy parametrów wzrostu prosiąt, jest bezpieczne i dobrze tolerowane, a zatem umożliwia stworzenie funkcjonalnej formuły mleka, która normalizuje poziom LCPUFA w osoczu wcześniaków w krytycznych pierwszych tygodniach po urodzeniu.

Z kolei dane uzyskane w doświadczeniu II wykazały, że suplementacja diety odsadzonych prosiąt wybranymi olejami może powodować korzystne z punktu widzenia produktywności zmiany w metabolizmie prowadzące do wzrostu masy ciała i spadku współczynnika FCR. Tłuszcze dostarczane z pożywieniem wpływają nie tylko na profil lipidowy krwi, ale także na aktywność hormonów zaangażowanych w regulację homeostazy energetycznej, w tym leptyny, greliny, insuliny czy hormonów tarczycy. Co więcej, kwasy tłuszczowe wykazują silnie troficzny efekt na błonę śluzową tkanek przewodu pokarmowego, prowadząc do korzystnych zmian w ich strukturze, wzrostu powierzchni absorpcyjnej jelita i w konsekwencji lepszego wykorzystania składników pokarmowych u prosiąt odsadzonych.

Podsumowując, otrzymane wyniki potwierdzają, że zarówno ilość, rodzaj, jak i budowa fizykochemiczna tłuszczów w diecie ma istotny i odmienny wpływ na ich absorpcję, odpowiedź metaboliczną organizmu, jak również strukturę przewodu pokarmowego oraz wzrost prosiąt. Niemniej, aby możliwe było sformułowanie jednoznacznych zaleceń żywieniowych zarówno dla ludzkich wcześniaków, jak i prosiąt odsadzonych, konieczne są dalsze i obszerniejsze badania ukierunkowane na określenie i zrozumienia dokładnych mechanizmów zaangażowanych w regulację metabolizmu lipidów i ich wpływu na rozwój przewodu pokarmowego i wzrost zwierząt.