

Laktofermentowane wysłodki buraczane jako czynnik uwrażliwiający na insulinę konie z syndromem metabolicznym EMS

Streszczenie

Zespół metaboliczny u koni (EMS z ang. Equine Metabolic Syndrome) jest chorobą endokrynologiczną, której patogeneza związana jest z opornością na insulinę (IR), otyłością, nieprawidłowym odkładaniem tkanki tłuszczowej w specyficznych miejscach, przewlekłym lub przebyłym ochwatem oraz miejscowym i/ lub ogólnoustrojowym stanem zapalnym. Obecnie, coraz większe zainteresowanie znajduje żywność laktofermentowana, która zawiera dobroczynne bakterie, określane, jako naturalne probiotyki. Wykazano, że niektóre szczepy z rodzaju *Lactobacillus spp.* promują szereg działań prozdrowotnych, w tym wykazują właściwości przeciwcukrzycowe poprzez zwiększenie wrażliwości tkanek na insulinę.

Celem przeprowadzonych badań było w pierwszym etapie określenie wpływu fermentacji wysłodków buraczanych bez dodatku mikroorganizmów probiotycznych oraz z udziałem heterogenicznych szczepów bakterii probiotycznych *Lactobacillus rhamnosus* lub *Pediococcus acidilactici* na skład chemiczny, wartość pH, a także całkowitą zawartość polifenoli wraz z określeniem aktywności antyoksydacyjnej metodą DPPH, FRAP i ABTS. Ponadto w materiałach fermentacyjnych określono zawartość krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych (KKT) oraz węglowodanów prostych z wyodrębnieniem sacharozy. Suche melasowane wysłodki buraczane w formie pelletu, poddano fermentacji według schematu: fermentowane wysłodki buraczane bez dodatku mikroorganizmów probiotycznych (CTRL - kontrola), laktofermentowane wysłodki buraczane z dodatkiem szczepu *Lactobacillus rhamnosus* (LR) i laktofermentowane wysłodki buraczane z dodatkiem szczepu *Pediococcus acidilactici* (PA). Proces fermentacji obejmował okres sześciu dni - w każdym dniu pobrana została próba fermentowanego materiału do dalszych analiz.

Analiza składu chemicznego oraz KKT została przeprowadzona w materiale świeżym oraz podsuszonym. Całkowitą zawartość polifenoli, aktywność przeciwutleniającą oraz zawartość cukrów prostych analizowano w materiale podsuszonym.

W przeprowadzonym badaniu wykazano pozytywny wpływ zastosowania szczepów bakterii probiotycznych na właściwości fizyko-chemiczne biomasy z wysłodków buraczanych w porównaniu do wysłodków buraczanych fermentowanych w sposób spontaniczny. Na szczególną uwagę zasługuje szczep *Lactobacillus rhamnosus*. Fermentacja prowadzona z jego udziałem charakteryzowała się najkorzystniejszym profilem, zarówno pod kątem składników

odżywczych, krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych, całkowitą zawartością polifenoli, właściwościami przeciwutleniającymi oraz redukcją cukrów prostych.

W związku z otrzymanymi wynikami, do dalszych badań molekularnych i cytobiologicznych wybrano szczep probiotyczny *Lactobacillus rhamnosus*.

Dodatkowo celem pracy była ocena wpływu fermentowanych ekstraktów z wysłodków buraczanych bez udziału szczepu bakterii probiotycznych (CTRL) i laktofermentowanych ekstraktów z wysłodków buraczanych z dodatkiem szczepu probiotycznego *Lactobacillus rhamnosus* w badaniach *in vitro* na komórkach progenitorowych (ASC) tkanki tłuszczowej pobranej od koni. Badania molekularne i cytobiologiczne obejmowały określenie aktywności migracyjnej, żywotności i tempa proliferacji, apoptozy, markera starzenia się komórek, stresu oksydacyjnego i dynamiki mitochondriów komórek ASC. Ponadto określono ekspresję genów pro- i przeciwzapalnych, genów związanych z insulinoopornością, a także ekspresję miRNA. Przeprowadzono także barwienie immunofluorescencyjne dla markera Ki-67, cytokiny prozapalnej IL1 β oraz kaspazy 3. Morfologię komórek ASC wizualizowano za pomocą barwienia fluorescencyjnego.

W toku przeprowadzonych badań *in vitro* wykazano, że ekstrakty pobrane z laktofermentacji wysłodków buraczanych z dodatkiem *Lactobacillus rhamnosus* wpływają na zwiększone tempo migracji, proliferacji, wykazują wyższy potencjał klonogeny i krótszy czas podwojenia populacji w porównaniu do fermentacji wysłodków buraczanych bez udziału szczepu probiotycznego. Hodowanie komórek ASC w obecności ekstraktów z *Lactobacillus rhamnosus* wpłynęło na obniżenie stanu zapalnego oraz ekspresję genów związanych z apoptozą. Dodatkowo związki te wykazały pozytywny wpływ na dynamikę mitochondriów. Zastosowanie ekstraktów z dodatkiem *Lactobacillus rhamnosus* spowodowało zmniejszenie poziomu reaktywnych form tlenu (ROS) oraz poprawę ekspresji SOD2, który odpowiedzialny jest za ochronę komórek przed apoptozą mitochondrialną.

Podsumowując, ekstrakty z laktofermentowanych wysłodków buraczanych z dodatkiem szczepu probiotycznego *Lactobacillus rhamnosus* wpłynęły na poprawę walorów odżywczych fermentowanej biomasy. Ponadto badania na komórkach ASC potwierdziły, że laktofermentowane wysłodki buraczane mogą stanowić narzędzie terapeutyczne w przeciwdziałaniu wystąpienia syndromu metabolicznego u koni.

P. Wójcik