



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA**

(11) **97628**

(13) **U**

(51) МПК

G09B 23/28 (2006.01)

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: **u 2014 10878**

(22) Дата подання заявки: **06.10.2014**

(24) Дата, з якої є чинними
права на корисну
модель: **25.03.2015**

(46) Публікація відомостей
про видачу патенту: **25.03.2015, Бюл.№ 6**

(72) Винахідник(и):

**Сергієнко Лоріана Юріївна (UA),
Селюкова Наталія Юріївна (UA),
Бондаренко Тетяна Вікторівна (UA),
Черевко Ганна Миколаївна (UA),
Перець Олена Вікторівна (UA),
Толмачова Любов Миколаївна (UA)**

(73) Власник(и):

**ДЕРЖАВНА УСТАНОВА "ІНСТИТУТ
ПРОБЛЕМ ЕНДОКРИННОЇ ПАТОЛОГІЇ ІМ.
В.Я. ДАНИЛЕВСЬКОГО НАЦІОНАЛЬНОЇ
АКАДЕМІЇ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ",
вул. Артема, 10, м. Харків, 61002 (UA)**

(54) СПОСІБ МОДЕЛЮВАННЯ ГІПЕРТРОФІЧНОГО ОЖИРІННЯ ГІПОТАЛАМІЧНОГО ГЕНЕЗУ З ОЗНАКАМИ ЛЕПТИНОРЕЗИСТЕНТНОСТІ

(57) Реферат:

Спосіб моделювання гіпертрофічного ожиріння гіпоталамічного генезу з ознаками лептинорезистентності у нащадків гестаційно стресованих самиць полягає у тому, що отриманих нащадків у віці двох місяців піддають навантаженню фруктозою через вживання 10 % розчину в режимі ad libitum протягом 14 діб.

U
UA 97628

Корисна модель належить до експериментальної медицини, експериментальної біології та фармакології, і може бути використана при дослідженні причин та механізмів формування ожиріння в молодому віці, його патогенетичного зв'язку з широким колом патологій людини, оцінці біологічних ефектів нових лікарських засобів та розробці підходів до профілактики ожиріння та пов'язаних з ним ускладнень.

Всесвітня організація охорони здоров'я визначає ожиріння - як рецидивуючий хронічний стан зайвого накопичення жирової тканини внаслідок дисбалансу між надходженням та витратою енергії, що може бути обумовлено як генетичною схильністю, так і гормональними порушеннями, згубними звичками, впливом негативних чинників навколишнього середовища, в тому числі і безконтрольного вживання деяких харчових продуктів та лікарських засобів.

Ожиріння, як первинне, так і вторинне, призводячи до глибоких метаболічно-гормональних порушень, створює патогенетичну основу розвитку артеріальної гіпертензії, ішемічної хвороби серця, церебральних та нервових розладів, найбільш тяжких ендокринних захворювань, розладів репродуктивної функції, деструктивних змін опорно-рухового апарату та ін. Тим самим ожиріння справляє надзвичайно суттєвий негативний вплив як на якість та тривалість життя людей, так і на відновлення людської популяції. При цьому поширеність цієї патології постійно та стрімко зростає [1, 2].

Особливе занепокоєння медичної спільноти викликає стрімке та неухильне зростання ожиріння серед дітей та підлітків. Вже на сьогодні в розвинених країнах світу до 25 % підлітків мають надмірну вагу, а у 15 % ожиріння визначене як клінічний діагноз [3]. На жаль, для України це питання вельми актуальне, оскільки в терміні часу 2008-2011 рр. кількість пацієнтів з діагнозом ожиріння в віці 6-15 років за даними досліджень у деяких регіонах зросла майже на 30 % [4].

Сказане обумовлює необхідність постійного розширення обсягу досліджень, присвячених визначенню причин та встановленню механізмів розвитку ожиріння в молодому віці.

Зокрема, потребує широкого дослідження проблема утворення та функціонування жирової тканини як ендокринного органа, численні біологічно активні деривати якої задіяні в регуляції гіпоталамо-гіпофізарно-надниркової, гіпоталамо-гіпофізарно-репродуктивної, гіпоталамо-гіпофізарно-тироїдної систем, мають безпосередній вплив на серцево-судинну систему, підтримку глюкозного гомеостазу, перебіг енергетичних процесів, стан імунної системи, кістковий метаболізм, стан нейропсихічної сфери, починаючи з дитинства та до літнього віку [5, 6].

На сьогодні серед "гормонів жирового походження" або "адипокінів" велику увагу дослідників привертає лептин - речовина білкової природи, що синтезується в основному в жировій тканині та в невеликій кількості в м'язах та плаценті [7]. Лептин трансгіпоталамічним шляхом бере участь в регуляції енергетичного гомеостазу, впливаючи на масу жирової тканини та тіла в цілому, його концентрація в плазмі крові прямо пропорційно залежить від маси жирової тканини і підвищується при надходженні їжі в організмі. При цьому в нормі посилюється проходження лептину через гематоенцефалічний бар'єр в структури гіпоталамусу, де відбувається лептиніндуковане зниження синтезу та секреції нейропептиду У, який відповідає за відчуття голоду, а значить при падінні концентрації якого виникає, навпаки, відчуття насичення, що призводить до зменшення об'єму або повного гальмування продовження споживання їжі. Такий механізм впливу лептину на харчову поведінку дозволяє розглядати його як "гормон насиченості" [8, 9].

Разом з тим існують як фізіологічні стани (наприклад, вагітність) [10], так і захворювання (наприклад, цукровий діабет 2-го типу та метаболічний синдром) [7], при яких, не зважаючи на постійно підвищений рівень лептину в плазмі крові, його надходження в гіпоталамічні структури та зв'язування зі специфічними рецепторами утруднюється. Наслідком цього є порушення регуляції в системі анорексогенних нейронів, відсутність відчуття насиченості, незважаючи на підвищення концентрації лептину в плазмі крові, та розвиток ожиріння [11]. При такому стані, котрий отримав назву "лептинорезистентності", процес споживання їжі стає мало контрольованим і мало зменшує апетит, сприяє постійному надходженню великого об'єму висококалорійної їжі, тобто гіперфагії, та наступному розвитку ожиріння і його ускладнень.

Саме лептинорезистентність розглядається як провідний патогенетичний механізм розвитку гіпоталамічного ожиріння, при цьому етіопатогенез лептинорезистентності потребує подальшого всебічного поглибленого дослідження не тільки для успішного просування по шляху пізнання фундаментальних питань регуляції енергозабезпеченості організму, а й має, безумовно, велике практичне значення як передумова для розробки деяких методів профілактики та усунення патогенетичного підґрунтя розвитку ожиріння [12, 13].

Обсяг теперішніх знань вказує на те, що розвиток лептинорезистентності може бути пов'язаним як з генетично детермінованими абераціями лептинового процесингу, так і з модулюючим впливом на окремі ланки цього процесингу чинників зовнішньо-внутрішнього середовища на різних етапах онтогенезу [13].

Експериментально доведено, що низький рівень лептину в ранньому постнатальному періоді корелює з розвитком "економного типу" енергообміну та розвитком ожиріння в наступному житті навіть за умов зниження загальної калорійності їжі [14]. Зокрема, показано, що гестаційний стрес матерів призводить до падіння рівня лептину у новонароджених та корелює з наступним розвитком гіпертрофічного типу ожиріння у дорослих нащадків, що переходить у гіпертрофічно-гіперпластичний тип з ознаками запалення внаслідок дії хронічного стресу [15].

Увагу сучасних дослідників привертає також пов'язаність ожиріння в розвинутих та напіврозвинутих країнах на тлі повсюдної урбанізації зі зміною режиму харчування та складу харчових продуктів. Зокрема, відмічається, що в усіх країнах світу різко збільшується вживання солодощів у вигляді всіляких кондитерських виробів, тонізуючих та охолоджуючих напоїв, додавання підсолоджувачів у найрізноманітніші страви для покращення смаку. За останні два десятиліття особливо різко зросло вживання фруктози, що входить до складу охолоджуючих напоїв [16, 17].

Разом з тим доведено, що вживання фруктози в великій кількості знижує вихід інсуліну та лептину з жирової тканини [18]. Як результат, рівень лептину, глюкози та інсуліну в плазмі крові стає нижчим протягом наступних 24 годин після споживання фруктози або фруктозопідсолоджених напоїв [19, 20]. В дослідях на щурах показано, що хронічне споживання фруктози навіть на тлі зниження калоражу всієї їжі, котра потрапляє в організм за добу, призводить до ожиріння, цукрового діабету 2 типу, ниркової патології та високого кров'яного тиску [21, 22]. Хронічне споживання фруктози - причина дисліпідемії та зниження чутливості гепатоцитів до інсуліну, активізації печінкового ліпонеогнезу, ліпотоксичності, розвитку оксидативного стресу, гіперуремії [23].

При цьому печінкові ефекти фруктози можна отримати у гризунів, застосовуючи 10 % водний розчин фруктози [24], при цьому об'єм їжі, спожитої тваринами, та динаміка зростання їх маси тіла не змінюється, хоча при одночасному застосуванні фруктози та високожирової дієти нарощування маси тіла прискорюється. Висловлена думка, що за цих умов у піддослідних тварин розвивається інсуліно- та лептинорезистентність [25, 26].

Створення адекватних репрезентативних моделей лептинорезистентності у особин з нормальним генотипом необхідно для визначення термінів та внутрішньо/зовнішніх причин розвитку зниження чутливості до лептину з боку утворень центральної нервової системи, відповідальних за енергетичний обмін, для вивчення молекулярно-клітинних механізмів формування при цьому т.з. "економного типу енерговитрат" та утворення надлишку жирової тканини, тобто ожиріння.

На сьогоднішній день перелік моделей ожиріння достатньо великий [27]. Для їх створення використовують два підходи - шляхом цілеспрямованих змін геному (лінійні, трансгенні або нокаутні за конкретними генами тварини) або шляхом зміни фенотипу індукуючими чинниками довкілля (зміни якісного та кількісного складу харчового раціону, хімічні речовини, антибіотики, гормональні препарати). Цікавим виявився досвід моделювання гіпертрофічно-гіперпластичного типу ожиріння з усіма ознаками метаболічного синдрому в нащадків гестаційно стресованих матерів шляхом їх хронічного стресування в статевозрілому віці [15].

Разом з тим, жодна із вказаних моделей не була цілеспрямована на створення такого типу ожиріння, що тісно асоційовано з експериментально підтвердженою лептинорезистентністю.

Задача даної корисної моделі полягає в створенні наближеної до реальних життєвих обставин моделі розвитку гіпертрофічного ожиріння в молодому віці, патогенетичну основу якого складає лептинорезистентність, що формується внаслідок змін умов внутрішньоутробного розвитку плодів та порушення якісного складу їх харчування у пубертатному періоді.

Поставлена задача вирішується тим, що вагітну самицю піддають дії соціально-емоційного стресу з 2 по 8, а потім з 15 по 21 добу вагітності. Отримані природним шляхом нащадки самиці у віці 2-х місяців отримують надлишок фруктози шляхом вільного доступу до поїлок з 10 % розчином цієї речовини.

Технічний результат - розширення арсеналу експериментальних моделей ожиріння в молодому віці шляхом відтворення гіпертрофічного типу ожиріння, асоційованого із зниженням чутливості до лептину гіпоталамічних центрів регуляції та падінням енергетичного обміну.

Спосіб апробовано на 48 самицях щурів популяції Вістар пубертатного віку - нащадках інтактних та гестаційно стресованих матерів.

Методика гестаційного стресу самиць та отримання нащадків описана раніше [15].

По досягненні тваринами 2-місячного віку їх розсаджували в індивідуальні клітки. Поспіл 7 діб визначали об'єм їжі, спожитої кожною твариною за добу. За своїм складом їжа відповідала тій, що рекомендована даному виду тварин. Питний режим на цьому етапі експерименту передбачав вживання води ad libitum.

Через 7 діб щурів зважували. Інтактних (n=24) та стресованих (n=24) нащадків рандомним способом розподілили на групи: нащадки інтактних (n=12) та нащадки стресованих матерів (n=12), котрі в подальшому продовжували утримуватися на звичайному режимі, нащадки інтактних самиць (n=12) і нащадки стресованих матерів (n=12), які в подальшому 14 діб поспіль замість води отримували 10 % розчин фруктози. На 15 добу всіх тварин зважували, після чого всім щурам, які отримували розчин фруктози, вводили лептин (Rat Leptin Recombinant) у дозі 2,5 мг/г маси тіла підшкірно. Уведення проводили 14 діб. Протягом останніх 3-х діб визначали масу тіла тварин та масу спожитої їжі. Тварин піддали евтаназії через 2 години після останньої ін'єкції лептину з дотриманням усіх передбачених правил біоетики [28].

Були зібрані зразки крові для визначення рівня лептину, відсепарована вісцеральна жирова тканина та встановлені її вагові показники. Отримані дані проаналізовані статистично з використанням пакета прикладних програм StatGraphics Plus for Windows v3. Дані представлені як середнє арифметичне (\bar{x}) та його похибка ($S_{\bar{x}}$). Перевірку нульової гіпотези проведено на рівні значущості $P < 0,05$.

Отримані дані наведені в таблиці.

Таблиця

Маса тіла, спожитої їжі, вісцеральної жирової тканини, рівень лептину у нащадків інтактних та гестаційно стресованих самиць щурів, ($\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$), n=48

Група тварин	Показники		
	До введення фруктози	Після введення фруктози	Після введення лептину
Маса тіла, г			
I. Нащадки інтактних матерів	103,5±3,7	115,4±1,6	90,6±2,4 $P_{1-3} < 0,05$ $P_{2-3} < 0,05$
II. Нащадки гестаційно стресованих матерів	114,2±2,7	126,4±3,5 $P_{1-2} < 0,05$	132,2±4,3 $P_{1-3} < 0,05$
Маса спожитої їжі за добу, г			
I. Нащадки інтактних матерів	60,6±2,3	-	43,4±0,7 $P_{1-3} < 0,05$
II. Нащадки гестаційно стресованих матерів	49,9±1,8 $P_{I-II} < 0,05$	-	58,8±2,7 $P_{1-3} < 0,05$
Маса вісцеральної жирової тканини, г			
I. Нащадки інтактних матерів	-	-	6,7±1,4
II. Нащадки гестаційно стресованих матерів	-	-	18,8±2,1 $P_{I-II} < 0,02$
Рівень лептину в плазмі крові, пмоль/л			
I. Нащадки інтактних матерів	-	-	19,08±3,46
II. Нащадки гестаційно стресованих матерів	-	-	31,4±3,25 $P_{I-II} < 0,02$

Примітка. P - рівень значущості відмінностей між вказаними групами

Дані, представлені в таблиці, свідчать про те, що вже в пубертатному віці показники маси тіла самиць-нащадків гестаційно стресованих матерів дещо перевищують відповідні показники у інтактних нащадків, незважаючи на те, що об'єм споживаної цими тваринами їжі статистично значуще менший. Останнє вказує на наявність більш економного типу енерговитрат у гестаційно стресованих тварин.

Навантаження фруктозою спричиняє статистично значуще зростання маси тіла тільки у гестаційно стресованих нащадків.

Уведення екзогенного лептину в режимі та дозах, що формує виразно високий рівень даного гормону, достатній для зменшення об'єму спожитої їжі у тварин із збереженою чутливістю

гіпоталамічних центрів до цього гормону [29], призвело до аналогічного ефекту у нащадків інтактних самиць (див. табл.) В той же час в наших дослідженнях введення лептину не вплинуло на об'єм їжі, спожитої нащадками гестаційно стресованих матерів за добу, і не сприяло зниженню маси тіла у цих тварин, збільшеної після уведення фруктози.

Сталі високі показники маси тіла та маси вісцеральної жирової тканини у нащадків гестаційно стресованих матерів у порівнянні з інтактними нащадками після уведення екзогенного лептину свідчать про наявність у перших гіпертрофічного ожиріння, а відсутність реакції на високу концентрацію лептину в плазмі крові нащадків матерів, що пережили стрес під час вагітності, з боку маси тіла, маси вісцеральної жирової тканини та харчової поведінки, вказує на наявність у цих тварин лептинорезистентності центрального генезу, механізми розвитку якої можуть бути розшифровані шляхом подальших досліджень.

Наведені дані є доказом того, що розроблена експериментальна модель ожиріння в молодому віці, яке асоційовано з лептинорезистентністю та економним типом енерговитрат. Оскільки лептинорезистентність, пов'язана із зниженням чутливості до лептину, розглядається як ведуча патогенетична ланка гіпоталамічного ожиріння, застосування запропонованої моделі може знайти широке використання в експериментальній ендокринології.

Спосіб достатньо простий, може бути відтворений у будь-якій науково-дослідній установі, де проводиться вивчення патофізіологічних механізмів розвитку ожиріння та його пов'язаності із всілякими патологіями організму людини.

Джерела інформації:

1. Ожиріння в практиці кардіолога та ендокринолога [Текст] / О.М. Біловол, О.М. Ковальова, С.С. Попова, О.Б. Тверетінов. - Тернопіль: ГДМУ, Укрмедкнига, 2009. - 618 с.

2. WHO obesity: preventing and managing the global epidemic. WHO Technical report Series number 894. - Geneva: WHO. - 2000.

3. Hedley A. A. Overweight and obesity among us children, adolescents and adults. 2001-2002 [Text] / A.A. Hedley, C.L. Ogden, C.L. Jonson // JAMA. - 2002. - Vol. 291. - P. 2847-2850.

4. Леженко Г. А. Нарушение баланса адипокинов как фактор возникновения артериальной гипертензии у детей, больных ожирением [Текст] / Г.А. Леженко // Українська школа ендокринології: матеріали 58-ї наук.-практ. конф. з міжнар. участю, Харків, 5-6 черв. 2014 р. - С. 79-86.

5. Adipose tissue as an endocrine organ: from theory to practice [Text] / M.H. Fonseca-Alaniz, J. Takada, M.I. Alonso-Vale, F.B. Lima // J. Pediatr. - 2007. - Vol. 83, № 5, Supp. 1. - P. S192-S203.

6. Ahima R.S. Adipose tissue as an endocrine organ [Text] / R. S. Ahima, J. S. Flier // Trends Endocrinol. Metabol. - 2000. - Vol. 11, № 8. - P. 327-332.

7. Mantzoros C.S. The role of leptin in human obesity and disease: a review of current evidence [Text] / C.S. Mantzoros // Ann. Intern. Med. - 1999. - Vol. 130, № 8. - P. 671-680.

8. Bjørbaek C. Leptin signaling in the central nervous system and the periphery [Text] / C. Bjørbaek, B. B. Kahn // Recent Prog Horm Res. - 2004. - Vol. 59. - P. 305-331.

9. Leptin: structure, function and biology [Text] / F. Zhang, Y. Chen, M. Heiman, R. Dimarchi // Vitam. Horm. - 2005. - Vol. 71. - P. 345-372.

10. Kratzsch J. Leptin and pregnancy outcome [Text] / J. Kratzsch, M. Höckel, W. Kiess // Curr. Opin. Obstet. Gynecol. - 2000. - Vol. 12, № 6. - P. 501-505.

11. Obesity is associated with a decreased leptin transport across the blood-brain barrier in rats [Text] / B. Burguera, M.E. Couce, G.L. Curran [et al.] // Diabetes. - 2000. - Vol. 49, № 7. - P. 1219-1223.

12. Myers M. G. Mechanisms of leptin action and leptin resistance [Text] / M.G. Myers, M.A. Cowley, H. Münzberg // Annu. Rev. Physiol. - 2008. - Vol. 70. - P. 537-556.

13. Kalra S.P. Central leptin insufficiency syndrome: an interactive etiology for obesity, metabolic and neural diseases and for designing new therapeutic interventions [Text] / S. P. Kalra // Peptides. - 2008. - Vol. 29, № 1. - P. 127-138.

14. Neonatal cord blood leptin: its relationship to birth weight, body mass index, maternal diabetes, and steroids [Text] / P.S. Shekhawat, J.S. Garland, C. Shivpuri [et al.] // Pediatr. Res. - 1998. - Vol. 43, № 3. - P. 338-343.

15. Пат. 53260 UA, МПК G09B 23/28. Спосіб моделювання гіпертрофічно-гіперпластичного типу ожиріння з ознаками запалення [Текст] / Л.Ю Сергієнко, О.В. Перець, О.В. Картавцева [та ін.] (UA); заявник і патентовласник ДУ "Інститут проблем ендокринної патології ім. В.Я. Данилевського НАМН України" (UA). - № u201005303; заявл. 30.04.10; опубл. 27.09.10, бюл. № 18. - 7 с.

16. Hanover L.M. Manufacturing, composition, and applications of fructose [Text] / L.M. Hanover, J.S. White // Am. J. Clin. Nutr. - 1993. - Vol. 58, № 5. - P. 724S-732S.

17. Parker K. High fructose corn syrup: Production, uses and public health concerns [Text] / K. Parker, M. Salas, V.C. Nwosu // *Biotechnol. Mol. Biol. Reviews.* - 2010. - Vol. 5, № 5. - P. 71-78.
18. Hallfrisch J. Metabolic effects of dietary fructose [Text] / J. Hallfrisch // *FASEB J.* - 1990. - Vol. 9. - P. 2652-2660.
- 5 19. Dietary fructose reduces circulating insulin and leptin, attenuates postprandial suppression of ghrelin, and increases triglycerides in women [Text] / K.L. Teff, S.S. Elliott, M. Tschöp [et al.] // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* - 2004. - Vol. 89, № 6. - P. 2963-2967.
20. Stanhope K. L. Endocrine and metabolic effects of consuming beverages sweetened with fructose, glucose, sucrose, or high-fructose corn syrup [Text] / K.L. Stanhope, P.J. Havel // *Am J Clin Nutr.* - 2008. - Vol. 88, № 6. - P. 1733S-1717S.
- 10 21. Basciano H. Fructose, insulin resistance, and metabolic dyslipidemia [Text] / H. Basciano, L. Federico, K. Adeli // *Nutr Metab (Lond).* - 2005. - Vol. 2, № 1. - P. 5.
22. Taurine prevents hypertension and increases exercise capacity in rats with fructose-induced hypertension [Text] / M.M. Rahman, H.M. Park, S.J. Kim [et al.] // *Am. J. Hypertens.* - 2011. - Vol. 24, № 5. - P. 574-581.
- 15 23. Excessive fructose intake induces the features of metabolic syndrome in healthy adult men: role of uric acid in the hypertensive response [Text] / S. E. Perez-Pozo, J. Schold, T. Nakagawa [et al.] // *Int. J. Obes. (Lond).* - 2010. - Vol. 34, № 3. - P. 454-461.
24. Fructose consumption during pregnancy and lactation induces fatty liver and glucose intolerance in rats [Text] / M. Zou, E. J. Arentson, D. Teegarden [et al.] // *Nutr. Res.* - 2012. - Vol. 32, № 8. - P. 588-598.
- 20 25. The effect of high-fat-high-fructose diet on skeletal muscle mitochondrial energetics in adult rats [Text] / R. Crescenzo, F. Bianco, P. Coppola [et al.] // *Eur. J. Nutr.* - 2014. - Vol. 18. - P. 117-121.
26. Fructose-induced leptin resistance exacerbates weight gain in response to subsequent high-fat feeding [Text] / A. Shapiro, W. Mu, C. Roncal [et al.] // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* - 2008. - Vol. 295, № 5. - P. 1370-1375.
- 25 27. Bertram C.E. Animal models and programming of the metabolic syndrome [Text] / C.E. Bertram, M.A. Hanson // *Br. Med. Bull.* - 2001. - Vol. 60, № 1. - P. 103-121.
28. Загальні етичні принципи експериментів на тваринах [Текст] / за ред. О.Г. Резнікова // *Ендокринологія.* - 2003. - Т. 8, № 1. - С. 142-145.
- 30 29. Prenatal influences on leptin sensitivity and susceptibility to diet-induced obesity [Text] / S.O. Krechowec, M. Vickers, A. Gertler, B.H. Breier // *J. Endocrinol.* - 2006. - Vol. 189, № 1. - P. 355-363.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб моделювання гіпертрофічного ожиріння гіпоталамічного генезу з ознаками лептинорезистентності у нащадків гестаційно стресованих самиць, який **відрізняється** тим, що отриманих нащадків у віці двох місяців піддають навантаженню фруктозою через вживання 10 % розчину в режимі ad libitum протягом 14 діб.