

Deklaracja.  
Specyfika i zawartość merytoryczna czasopisma nie ulega zmianie.  
Zgodnie z informacją MNiSW z dnia 2 czerwca 2014 r., że w roku 2014 nie będzie przeprowadzana ocena czasopism naukowych; czasopismo o zmienionym tytule otrzymuje tyle samo punktów co na wykazie czasopism naukowych z dnia 31 grudnia 2014 r.  
The journal has had 5 points in Ministry of Science and Higher Education of Poland parametric evaluation. Part B item 1089. (31.12.2014).  
© The Author (s) 2015;  
This article is published with open access at Licensee Open Journal Systems of Kazimierz Wielki University in Bydgoszcz, Poland and Radom University in Radom, Poland  
Open Access. This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Noncommercial License which permits any noncommercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author(s) and source are credited. This is an open access article licensed under the terms of the Creative Commons Attribution Non Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted, non commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly cited.  
This is an open access article licensed under the terms of the Creative Commons Attribution Non Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted, non commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly cited.  
The authors declare that there is no conflict of interests regarding the publication of this paper.  
Received: 25.09.2015. Revised 25.10.2015. Accepted: 30.11.2015.

УДК 612.397.23+577.16+613.2

## ВЛИЯНИЕ НЕЗАМЕНИМЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ НА ЖИРОВОЙ ОБМЕН И МИКРОБИОЦЕНОЗ У ЖИВОТНЫХ НА БЕЗЖИРОВОМ РАЦИОНЕ

## INFLUENCE OF ESSENTIAL FATTY ACIDS ON FAT METABOLISM AND MICROBIOCENOSIS IN ANIMALS FED WITH LEAN DIET

Е. М. Левченко

Ye. M. Levchenko

ГУ «Институт стоматологии НАМН Украины» (г. Одесса, Украина)

The Institute of Stomatology of the National academie of medical science of Ukraine (Odessa,  
Ukraine)

### Abstract

Aim: To determine the state of lipid metabolism and microbiocenosis in rats receiving the drug containing essential fatty acids.

Methods: We used the drug "Liposan" (vitamin F) containing 5 essential fatty acids: linoleic, linolenic, arachidonic, eicosapentaenoic, docosahexaenoic. The drug was administered to rats in the lean diet (B. Eggum, 1977) in the amount of 2.5% instead of the same amount of starch. Rats (male, 4 months old) received 30 g of the diet daily. The duration of the experiment was 31 days. Triglycerides and total cholesterol were determined in the liver and the serum by enzymatic methods. Microbial contamination was judged by the urease activity, the state of nonspecific immunity (the lysozyme activity), the presence of inflammation (the elastase activity). The degree of dysbiosis by Levitsky was calculated as the ratio of the relative activities of urease and lysozyme.

Results: In rats that received the fat-free diet (FFD) the triglyceride content and the degree of dysbiosis were increased in the liver and cholesterol was decreased in the serum. The addition of the drug "Liposan" reduced the degree of dysbiosis in the liver but did not alter lipid metabolism.

Conclusion: "Liposan" can be used as an anti-dysbiotic drug, especially for people who are prone to obesity.

**Keywords: fat-free diet, essential fatty acids, liver, serum, triglycerides, cholesterol, dysbiosis.**

### **Резюме**

Препарат незаменимых жирных кислот «Липосан», содержащий линолевую, линоленовую, арахидоновую, эйкозапентаеновую и докозагексаеновую кислоты, при вводе в состав безжирового рациона в количестве 2,5 % снижает степень дисбиоза в печени до нормы и не увеличивает прирост живой массы и содержание липидов в печени и сыворотке крови.

**Ключевые слова: безжировой рацион, незаменимые жирные кислоты, печень, сыворотка крови, триглицериды, холестерин, дисбиоз.**

### **Введение**

Все животные способны синтезировать жиры (триглицериды) из углеводов и белков [1, 2]. Однако, практически все они не способны синтезировать ряд полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК), которые необходимы для образования мембранных фосфолипидов и гормоноподобных веществ эйкозаноидов (простагландинов, лейкотриенов и др.) [3]. К таким ПНЖК, называемым незаменимыми или эссенциальными, относятся линолевая, линоленовая, арахидоновая, эйкозапентаеновая и докозагексаеновая (табл. 1).

## Незаменимые жирные кислоты (ПНЖК)

№№ пп	ПНЖК	Формула	Краткая формула	Число двойных связей
1	Линолевая	$C_{17}H_{31}COOH$	$C_{18:2}$	2, ω-6
2	Линоленовая	$C_{17}H_{29}COOH$	$C_{18:3}$	3, ω-3
3	Арахидоновая	$C_{19}H_{31}COOH$	$C_{20:4}$	4, ω-6
4	Эйкозапентаеновая	$C_{19}H_{29}COOH$	$C_{20:5}$	5, ω-3
5	Докозагексаеновая	$C_{21}H_{31}COOH$	$C_{22:6}$	6, ω-3

Для ряда животных незаменимой является лишь одна или две ПНЖК, чаще всего линолевая и линоленовая, тогда как для человека все 5 ПНЖК считаются эссенциальными, так как их биосинтез в организме из линолевой или линоленовой кислот весьма ограничен [4].

Целью настоящего исследования стало определение состояния жирового обмена и микробиоценоза в организме крыс, получавших препарат ПНЖК на фоне безжирового рациона.

**Материалы и методы исследования**

В опыте было использовано 10 крыс линии Вистар (самцы, 4 мес., 165-190 г), распределенных в 2 равные группы: 1-ая получала безжировый рацион (БЖР) (табл. 2), 2-ая – БЖР, в котором 2,5 % крахмала заменены на 2,5 % препарата ПНЖК (диетическая добавка «Липосан (витамин F)» [6]). Жирнокислотный состав «Липосана» представлен в таблице 3.

Таблица 2

## Состав рационов для крыс (г на 1 кг) [5]

Компоненты	БЖР	БЖР + «Липосан»
Крахмал	660	640
Соевый шрот*	150	150
Овальбумин	50	50
Сахар	90	90
«Липосан»	–	25
Минеральная смесь	40	40
Витаминная смесь	10	10
Содержание жира, %	0,06	2,57

\* Содержание жира 0,60 %

## Жирнокислотный состав препарата «Липосан (витамин F)»

Наименование жирной кислоты	Содержание, %
Миристиновая (C <sub>14:0</sub> )	0,96
Пальмитиновая (C <sub>16:0</sub> )	11,24
Пальмитоолеиновая (C <sub>16:1</sub> )	1,40
Стеариновая (C <sub>18:0</sub> )	4,88
Олеиновая (C <sub>18:1</sub> )	32,29
Линолевая (C <sub>18:2</sub> )	34,60
Линоленовая (C <sub>18:3</sub> )	5,19
Арахидоновая + Октадекатетраеновая (C <sub>20:4</sub> +C <sub>18:4</sub> )	0,99
Эйкозапентаеновая + Докозапентаеновая (C <sub>20:5</sub> + C <sub>22:5</sub> )	3,05
Докозагексаеновая (C <sub>22:6</sub> )	2,24

Все крысы получали по 30 г корма на одну голову в течение 31 дня. Каждые 3 дня крыс взвешивали. Умерщвление животных осуществляли под тиопенталовым наркозом (20 мг/кг) путем тотального кровопускания из сердца. В сыворотке крови и в гомогенате печени определяли ферментативными методами содержание триглицеридов [7], холестерина [8], активность уреазы [9], лизоцима [10] и эластазы [11]. По соотношению относительных активностей уреазы и лизоцима рассчитывали степень дисбиоза по Левицкому [12]. Для этого дополнительно у 6 интактных крыс линии Вистар (самцы, 4 мес.) определяли в печени и в сыворотке крови активность уреазы и лизоцима.

#### Результаты и их обсуждение

Динамика массы тела крыс, получавших БЖР или БЖР с добавкой «Липосана» представлена на рис. 1, из которого видно, что крысы, получавшие БЖР, хорошо растут, не уступая по абсолютному приросту крысам, получавшим дополнительно «Липосан» (табл. 4).

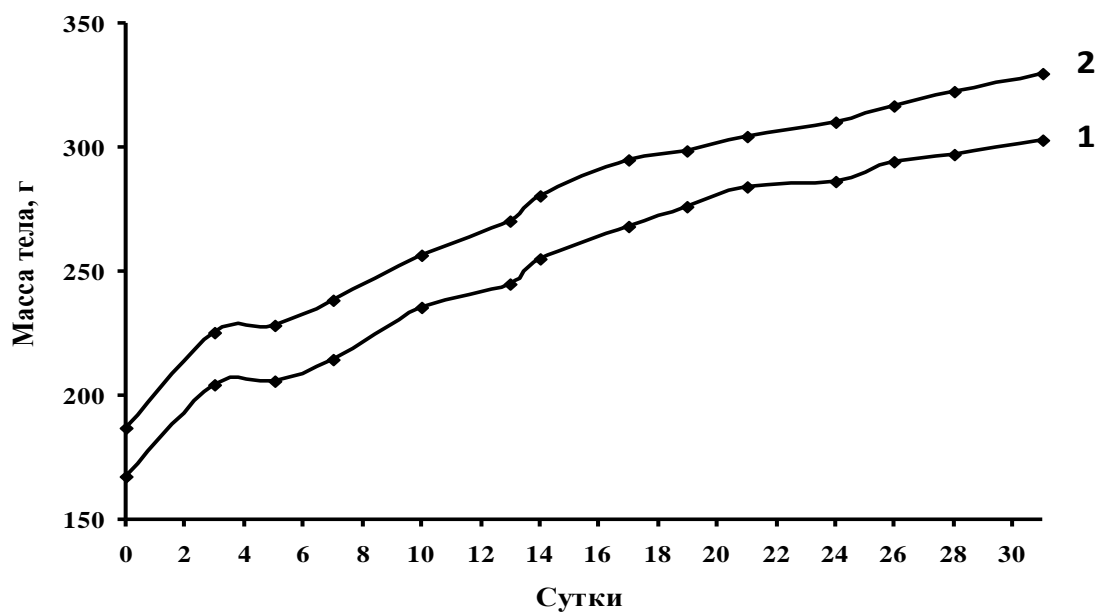


Рис. 1. Динамика роста средней массы крыс в ходе эксперимента  
(1 – БЖР, 2 – БЖР + «Липосан»)

Таблица 4

Влияние препарата «Липосан» на прирост живой массы крыс,  
получавших БЖР в течение 31 дня

Показатели	БЖР	БЖР + «Липосан»
1. Абсолютный прирост, г/сутки	135,6±5,2	143,2±8,0 p>0,3
2. Относительный прирост, %	80,9±1,4	76,6±3,0 p>0,2
3. Среднесуточный прирост, г/сутки	4,40±0,17	4,60±0,26 p>0,3
4. Относительный среднесуточный прирост, %	2,60±0,04	2,50±0,10 p>0,2

Это свидетельствует о том, что крысы в отсутствие пищевого жира легко синтезируют его из углеводов и белков. В пользу этого свидетельствуют данные о содержании триглицеридов (ТГ), общего холестерина (ОХ) в печени и в сыворотке крови (табл. 5). Из этих данных видно, что в сыворотке крови содержание ТГ существенно не изменяется, хотя в печени крыс на БЖР достоверно возрастает и остается таким же у крыс, получавших дополнительно «Липосан». В то же время БЖР снижает в сыворотке крови уровень ОХ. Таким же сниженным он остается и после добавки «Липосана».

Влияние препарата «Липосан» на содержание липидов в печени  
и в сыворотке крови крыс, получавших БЖР в течение 31 дня

Группы	Триглицериды, ммоль/кг(л)	Холестерин ммоль/кг(л)
Печень		
1. Норма (n=6)	8,5±0,3	5,11±0,25
2. БЖР (n=5)	11,4±0,6 p<0,05	5,47±0,48 p>0,3
3. БЖР + Липосан (n=5)	11,5±0,6 p<0,05 p <sub>1</sub> >0,7	6,41±0,45 p<0,05 p <sub>1</sub> >0,05
Сыворотка крови		
1. Норма (n=6)	1,16±0,11	1,31±0,05
2. БЖР (n=5)	1,03±0,17 p>0,5	1,08±0,03 p<0,05
3. БЖР + Липосан (n=5)	1,06±0,12 p>0,5 p <sub>1</sub> >0,6	1,10±0,05 p<0,05 p <sub>1</sub> >0,3

В печени крыс, получавших БЖР или БЖР с «Липосаном», уровень ТГ достоверно повышен на 34-35 %. Возможно, это связано с тем, что превращение углеводов в жиры приводит к образованию, главным образом, пальмитиновой кислоты [13], глицериды которой медленнее расщепляются липазой и труднее покидают печень в составе ЛПОНП (липопротеидов очень низкой плотности) [14]. Подтверждением этому является снижение уровня ТГ и, особенно, ОХ в сыворотке крови. Непонятным остается достоверное повышение уровня ОХ в печени крыс, получавших БЖР с препаратом «Липосан» (возможно, это связано с задержкой ЛПОНП в паренхиме печени).

В таблице 6 представлены результаты определения в печени и в сыворотке крови активности уреазы (маркер микробного обсеменения), лизоцима (показатель уровня неспецифического иммунитета) и эластазы (маркер воспаления). Как видно из этих данных, БЖР несколько увеличивает активность уреазы в печени и достоверно снижает ее в сыворотке крови. Добавка к БЖР «Липосана» достоверно снижает в печени активность уреазы, что свидетельствует об уменьшении микробной обсемененности. БЖР и БЖР +

«Липосан» достоверно снижают активность лизоцима в печени и, в меньшей степени, в сыворотке крови, свидетельствуя о снижении уровня неспецифического иммунитета.

Таблица 6

Влияние препарата «Липосан» на активность уреазы, лизоцима и эластазы в печени и в сыворотке крови крыс, получавших БЖР

№№ пп	Группы	Уреаза, нкат/кг(л)	Лизоцим, ед/кг(л)	Эластаза, нкат/кг(л)
Печень				
1	Норма (n=6)	288±95	32±4	306±26
2	БЖР (n=5)	404±127 p>0,05	12±2 p<0,01	308±17 p>0,8
3	БЖР + Липосан (n=5)	79±10 p<0,01 p <sub>1</sub> <0,01	10±2 p<0,01 p <sub>1</sub> >0,3	362±21 p>0,05 p <sub>1</sub> >0,05
Сыворотка крови				
1	Норма (n=6)	1,40±0,25	107±9	134±7
2	БЖР (n=5)	0,66±0,19 p<0,05	88±4 p<0,05	122±5 p>0,05
3	БЖР + Липосан (n=5)	0,69±0,17 p<0,05 p <sub>1</sub> >0,7	80±4 p<0,05 p <sub>1</sub> >0,05	141±9 p>0,3 p <sub>1</sub> >0,05

Рассчитанная по этим показателям степень дисбиоза представлена на рис. 2, из которого видно, что в печени крыс с БЖР в 3,8 раза увеличивается степень дисбиоза, которая нормализуется после введения «Липосана».

Как видно из таблицы 6, БЖР и препарат «Липосан» не оказывают существенного влияния на активность эластазы в печени и в сыворотке крови, тем самым свидетельствуя об отсутствии воспаления у подопытных животных.

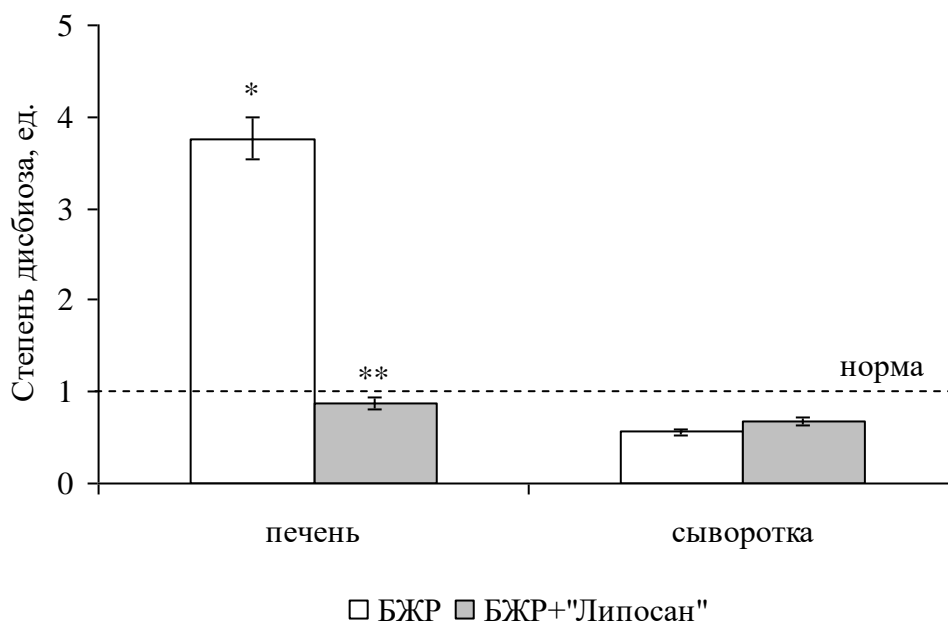


Рис. 2. Влияние препарата «Липосан» на степень дисбиоза в печени и в сыворотке крови крыс (\*– в сравнении с нормой; \*\*– в сравнении с БЖР)

Таким образом, проведенные исследования показали, что добавки препарата ПНЖК «Липосан» к БЖР не изменяют показатели прироста живой массы, однако снижают уровень маркера микробного обсеменения уреазы и нормализуют степень дисбиоза в печени. БЖР повышает содержание в печени ТГ, вызывает развитие дисбиоза в этом органе за счет резкого снижения активности лизоцима. Положительное действие БЖР состоит в достоверном снижении уровня ОХ в сыворотке крови.

Учитывая, что в составе «Липосана» низкое содержание жирных кислот, которые депонируются в жировой ткани (олеиновая, стеариновая, пальмитиновая), можно полагать, что прирост живой массы у крыс, получавших «Липосан», происходит не за счет ожирения. Это дает основание рекомендовать его применения для профилактики ожирения и атеросклероза.

### Выводы

1. Препарат ПНЖК «Липосан» снижает степень дисбиоза в печени, не влияет на уровень триглицеридов и холестерина в сыворотке крови и не увеличивает прирост живой массы.
2. По-видимому, препарат «Липосан» можно рекомендовать для профилактики ожирения и атеросклероза.



## Литература

1. Гинсбург М. М. Ожирение. Дисбаланс энергии или дисбаланс нутриентов? // М. М. Гинсбург, Г. С. Козулица // Проблемы эндокринологии. – 1997. – № 5. – С. 47-50.
2. Spiegelman B. M. Obesity and the regulation of energy balance / B. M. Spiegelman, J. S. Flier // Cell. – 2001. – 104, № 4. – P. 531-543.
3. Dietary lipids, modulation of immune functions, and susceptibility to infection / M. A. Puertollano, E. Puertollano, G. Álvarez de Cienfuegos [et al.] // Nutritional Therapy and Metabolism. – 2008. – v. 26, № 3. – P. 97-108.
4. Титов В. Н. Жирные кислоты. Физическая химия, биология и медицина / В. Н. Титов, Д. М. Лисицын. – Тверь: Триада, 2006. – 672 с.
5. Эггум Б. Методы оценки использования белка животными / Б. Эггум. – М.: Колос, 1977. – 189 с.
6. Технічні умови «Добавка дієтична «Ліпосан» (вітамін F)» ТУ У 10.8-37420386-002:2015.
7. Інструкція до набору реактивів для визначення тригліцеридів у сироватці і плазмі крові ензиматичним колориметричним методом / ТУ У 24.4-24607793-020-2003.
8. Холестерин. Ферментативно-фотометрический метод с холестерин-оксидазой (пероксидазой) / РТ МД11-15796482-001:2003.
9. Гаврикова Л. М. Уреазная активность ротовой жидкости у больных с острой одонтогенной инфекцией челюстно-лицевой области / Л. М. Гаврикова, И. Т. Сегень // Стоматология. – 1996. – Спец. выпуск. – С. 49-50.
10. Левицкий А. П. Лизоцим вместо антибиотиков / А. П. Левицкий. – Одесса: КП ОГТ, 2005. – 74 с.
11. Левицкий А. П. Методы определения активности эластазы и ее ингибиторов: методические рекомендации / А. П. Левицкий, А. В. Стефанов. – К.: ГФЦ, 2002. – 15 с.
12. Пат. на корисну модель 43140 Україна, МПК (2009) G 01 N 33/48. Спосіб оцінки ступеня дисбіозу (дисбактеріозу) органів і тканин / Левицький А.П., Деньга О.В., Селіванська І.О [та ін.]. – № u 2008 15092; заявл. 26.12.2008; опубл. 10.08.2009, Бюл. № 15.
13. Роль пальмитиновой жирной кислоты в инициации гипертриглицеридемии, гиперхолестеринемии, атеросклероза и атероматоза / В. Н. Титов, Т. А. Рожкова, В. А. Амелюшкина [и др.] // Международный медицинский журнал. – 2015. – т. 21, № 2(82). – С. 5-14.

14. Титов В. Н. Конформация апоВ-100 в филогенетически и функционально разных липопротеинах низкой и очень низкой плотности. Алгоритм формирования фенотипов гиперлипопротеинемии / В. Н. Титов, В. А. Амелюшкина, Т. А. Рожкова // Клиническая лабораторная диагностика. – 2014. – № 1. – С. 27-38.

## References

1. Ginsburg M. M., Kozupitsa G. S. Obesity. Energy disbalance or nutrients disbalance? *Problemy endokrinologii*. 1997; 5: 47-50.
2. Spiegelman B. M., Flier J. S. Obesity and the regulation of energy balance. *Cell*. 2001; 104(4): 531-543.
3. Puertollano M. A., Puertollano E., Álvarez de Cienfuegos G. [et al.]. Dietary lipids, modulation of immune functions, and susceptibility to infection. *Nutritional Therapy and Metabolism*. 2008; 26(3): 97-108.
4. Titov V. N., Lisitsyn D. M. Zhyrnye kisloty. Fizicheskaya khimiya, biologiya i meditsyna [Fat acids. Physical chemistry, biology and medicine]. Tver, Triada, 2006: 672.
5. Eggum B. Metody otsenki ispol'zovaniya belka zhivotnymi [Methods to evaluate utilization of proteins by animal]. Moskva: Kolos, 1977: 189.
6. TU U 10.8-37420386-002:2015 «The diet supplementary «Liposan» (vitamin F)».
7. The instruction to the set of reagents for the determination of triglycerides in blood serum and plasma with enzymatic colorimetric method / TU U 24.4-24607793-020-2003.
8. Cholesterol. Enzymatic-photometric method with cholesterol-oxidase (peroxidase) / RT MD11-15796482-001:2003.
9. Gavrikova L. M., Segen I. T. Urease activity of oral liquid in patients with acute odontogenic infection of maxillo-facial part. *Stomatologiya*. 1996; The extra issue: 49-50.
10. Levitsky A. P. Lizotsym vmesto antibiotikov [Lysozyme instead of antibiotics]. Odessa, KP OGT, 2005:74.
11. Levitsky A. P., Stefanov A. V. Metody opredeleniya aktivnosti elastazy i eye ingibitorov: metodicheskie rekomendatsii [The methods of the determination of the activity of elastase and its inhibitors: method guidelines]. Kiev, GFK, 2002:15.
12. Levitsky A. P., Denga O. V., Selivanskaya I. A. [et al.]. The method of estimation of the degree of dysbiosis (dysbacteriosis) of organs and tissues. Patent of Ukraine 43140. IPC (2009) G01N 33/48. Application number u 200815092. Date of filling: 26.12.2008. Publ.: 10.08.2009. Bul. № 15.

13. Titov V. N., Rozhkova T. A., Amelyushkina V. A. [et al.]. Role of palmitic fatty acid in initiation of hypertriglyceridemia, hypercholesterolemia, atherosclerosis and atheromatosis. *Mezhdunarodnyy meditsinskiy zhurnal*. 2015; 21(2(82)): 5-14.

14. Titov V. N., Amelyushkina V. A., Rozhkova T. A. The conformation of apoB-100 in phylogenetically and functionally different lipoproteins of low and very low density. The algorithm for generating phenotypes of hyperlipoproteinemia. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2014; 1: 27-38.