Экспериментальные исследования

The Experimental Researches

УДК 612.397.23+577.16+613.2

ВЛИЯНИЕ ПИЩЕВОГО ПРЕПАРАТА НЕЗАМЕНИМЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ НА ИХ СОДЕРЖАНИЕ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ, ПЕЧЕНИ И ВИСЦЕРАЛЬНОЙ ЖИРОВОЙ ТКАНИ КРЫС, ПОЛУЧАВШИХ БЕЗЖИРОВОЙ РАЦИОН

Левицкий А.П., Ходаков И.В.

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

У крыс, получавших безжировой рацион (БЖР), обнаружены в печени и в сыворотке крови все полиненасыщенные жирные кислоты (ПНЖК). Ввод их в БЖР в количестве 2,0 % увеличивает содержание ПНЖК в печени и в сыворотке крови в 2-10 раз. Появляются они и в висцеральном жире.

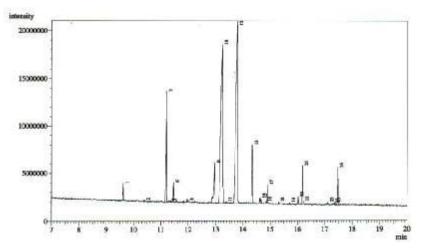
Ключевые слова: полиненасыщенные жирные кислоты, безжировой рацион, жировое питание, печень, кровь, висцеральный жир.

Введение

К незаменимым для человека жирным кислотам относят следующие: линолевую ($C_{18:2}$), линоленовую ($C_{18:3}$), арахидоновую ($C_{20.4}$), эйкозапентаеновую ($C_{20.5}$) и докозагексаеновую ($C_{22:6}$) [1]. Для крыс незаменимой считают лишь одну кислоту — линолевую [2]. Для большинства остальных животных этот вопрос остается открытым.

Таблица 1

Состав рационов для крыс (г на 1 кг)					
Компоненты	БЖР	БЖР + «Липосан»			
мал	660	640			
вый шрот	150	150			
пьбумин	50	50			
ıp	90	90			
іосан»	_	25			
еральная смесь [7]	40	40			
минная смесь [7]	10	10			



0.60

Рис. 1. Хроматограмма гексанового раствора метиловых эфиров жирных кислот препарата «Липосан»

Нами разработана рецептура пищевой добавки, содержащей все 5 незаменимых жирных кислот и названная «Липосан» (витамин F) [3].

Целью настоящего исследования стало определение содержания незаменимых жирных кислот в сыворотке крови, печени и в висцеральной жировой ткани крыс, получавших безжировой рацион (БЖР).

106

Крахмал Соевый шрот

Сахар

Овальбумин

Витаминная см

Содержание жира, %

«Липосан» Минеральная

2,57

107

Таблица 2 Жирнокислотный состав триглицеридов препарата «Липосан» (%)

Номер пика	Кислота	Содержание
1	Миристиновая	0,97
2	Пентадекановая	0,12
3	Пальмитиновая	11,32
6	Пальмитоолеиновая	1,43
9	Стеариновая	4,91
10	Олеиновая	32,51
12	Линолевая	34,12
13	Линоленовая	5,409
14	Арахиновая	0,27
15	Октадекатетраеновая	0,37
17	Гондоиновая + гадолеиновая	1,17
18	Эйкозадиеновая	0,16
19	Арахидоновая	0,06
20	Бегеновая + эйкозатетраеновая	0,47
21a	Эйкозапентаеновая	2,33
21b	Эруковая	1,13
23	Лигноцериновая	0,11
25	Докозапентаеновая	0,10
26	Докозагексаеновая	2,25

Таблица 3 Влияние препарата ПНЖК «Липосан» на содержание эссенциальных жирных кислот в липидах сыворотки крови крыс, получавших БЖР (% от суммы ЖК)

• • • • • • • • • • • • • • • • • • • •				
Жирная кислота	БЖР	БЖР+ «Липосан»		
Линолевая (С _{18:2})	11,89 ± 1,05	20,95 ± 1,64*		
Линоленовая (С _{18:3})	0.34 ± 0.05	1,40 ± 0,12*		
Арахидоновая (С _{20:4})	2,53 ± 0,21	2,59 ± 0,27		
Эйкозапентаеновая (С _{20:5})	0,14 ± 0,06	1,19 ± 0,13*		
Докозапентаеновая (С22:5)	0,16 ± 0,05	1,56 ± 0,10*		
Докозагексаеновая (С22:6)	0,30 ± 0,07	3,06 ± 0,28*		

Примечание: *- р < 0,05

Материалы и методы исследования

В работе была использована диетическая добавка «Липосан» (витамин F), полученная согласно ТУ У 10.8-37420386-002: 2015 в ООО «Биохимтех» (Украина) [3].

Опыты были проведены на 10 белых крысах линии Вистар (самцы, 4 мес., 165-190 г), распределенных в 2 равные группы: 1-ая получала безжировой рацион (БЖР), а 2-ая — БЖР, в котором 2,0 % крахмала были заменены на 2,0 % добавки «Липосан» (табл. 1). Все крысы ежедневно получали по 30 г корма на одну голову в течение 31 дня. Эвтаназию животных осуществляли под тиопенталовым наркозом (20 мг/кг) путем тотального кровопускания из сердца.

В сыворотке крови, в печени и в висцеральной жировой ткани проводили экстракцию липидов смесью гексана и изопропанола (3: 2). Соотношение объекта экстракции и экстрагента было 1:20. После экстракции к смеси прибавляли изопропанол и воду до конечного соотношения гексан:изопропанол:вода 1:1:0,75. Гексановую фракцию промывали 2 раза S объема 5 %-ного раствора NaCl для удаления остатков изопропанола и нелипидных веществ. Как показали наши исследования, гексановой фрак-ЦИИ содержатся триглицериды эфиры холестерина. Фосфолипиды, свободные жирные кислоты (СЖК) и гликолипиды уходят

в водно-спиртовую фракцию.

Гексановую фракцию используют для определения жирнокислотного состава [4]. Для этого жирные кислоты переводят в метиловые эфиры с помощью реакции метанолиза. Разделение метиловых эфиров осуществляют на газовом хроматографе ОС-17А в масс-спектрофотометре ОСМS-СІР5050A (Shimadzu, Япония).

Содержание СЖК определяли разработанным нами методом [4].

Результаты и их обсуждение

Состав рационов для крыс представлен в таблице 1. Хроматограмма метиловых эфиров жирных кислот «Липосана» представлена на рис. 1. Содержание жирных кислот показано в табл. 2.

На рис. 2 показано содержание об-

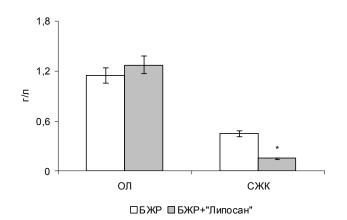


Рис. 2. Влияние препарата ПНЖК «Липосан» на уровень общих липидов и СЖК в сыворотке крови крыс, получавших БЖР (* –р < 0,05)

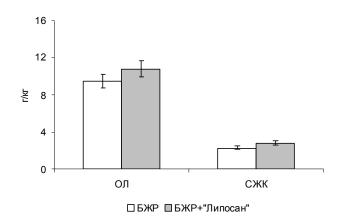


Рис. 3. Влияние препарата ПНЖК «Липосан» на уровень общих липидов и СЖК в печени крыс, получавших БЖР (*-р < 0,05)

щих липидов (триглицериды + эфиры холестерина) и СЖК в сыворотке крови крыс, получавших БЖР или БЖР + «Липосан». Видно, что содержание общих липидов существенно не изменяется после приёма добавки «Липосан», тогда как содержание СЖК в сыворотке крови крыс, получавших «Липосан», снижается в 3 раза.

На рис. З показано содержание общих липидов и СЖК в печени крыс. Видно, что добавка «Липосана» не повлияла существенно на оба показателя.

В табл. З представлены результаты определения содержания незаменимых жирных кислот в общих липидах сыворотки крови. Из этих данных видно, что у крыс, находящихся на БЖР, в сыворотке крови содержатся все незаменимые жирные кислоты. Это обстоятельство может указывать на то, что крысы способны синтезировать все незаменимые жир-

Таблица 4 ные кислоты.

Влияние препарата ПНЖК «Липосан» на содержание эссенциальных жирных кислот в липидах печени крыс, получавших БЖР (%)

Жирная кислота	БЖР	БЖР+ «Липосан»
Линолевая (C _{18:2})	12,08 ± 1,44	17,94 ± 1,31*
Линоленовая (С _{18:3})	0.29 ± 0.03	1,38 ± 0,15*
Арахидоновая (С _{20:4})	2,10 ± 0,15	2,31 ± 0,26
Эйкозапентаеновая (С20:5)	0,11 ± 0,02	0,89 ± 0,02*
Докозапентаеновая (С22:5)	0,10 ± 0,02	1,58 ± 0,25*
Докозагексаеновая (С22:6)	0.34 ± 0.21	2,83 ± 0,31*

Примечание: *- p < 0,05

Таблица 5
Влияние препарата ПНЖК «Липосан» на содержание эссенциальных жирных кислот в висцеральном жире крыс, получавших БЖР (%)

Жирная кислота	БЖР	БЖР+ «Липосан»		
Линолевая (C _{18:2})	9,39 ± 1,01	16,13 ± 1,37*		
Линоленовая (С _{18:3})	$0,42 \pm 0,03$	1,41 ± 0,21*		
Арахидоновая (С _{20:4})	0,15 ± 0,02	0,25 ± 0,03*		
Эйкозапентаеновая (С20:5)	0	$0,12 \pm 0,02$		
Докозапентаеновая (С22:5)	0	0,20 ± 0,03		
Докозагексаеновая (С22:6)	0,04 ± 0,01	0,32 ± 0,03*		

Примечание: *- p < 0,05

Добавка корм «Липосана» увеличивает содержание всех незаменимых жирных кислот: линолевой в 2 раза, линоленовой в 4 раза, эйкозапентаеновой в 8 раз, докозапентаеновой и докозагексаеновой в 10 раз. Неизменным лишь остается содержание арахидоновой кислоты (возможно, изза ее невысокого содержания в «ЛиВ таблице 4 представлены результаты определения содержания незаменимых жирных кислот в липидах печени. Из этих данных видно, что у крыс, получавших БЖР, присутствуют все незаменимые жирные кислоты, причем в наибольшем количестве линолевая и арахидоновая. Добавка «Липосана» увеличивает содержание линолевой кислоты в 1,5 раза, линоленовой в 5 раз, эйкозапентаеновой в 8 раз, докозапентаеновой в 15 раз и докозагексаеновой в 8,5 раза. И опять уровень арахидоновой кислоты почти не изменяется.

В таблице 5 представлены результаты определения незаменимых жирных кислот в общих липидах висцеральной жировой ткани. Как видно, у крыс, получавших БЖР, содержание этих кислот в висцеральном жире очень низкое (за исключением линолевой кислоты), а эйкозапентаеновая и докозапентаеновая кислоты вообще отсутствуют. Добавка «Липосана» увеличивает содержание линолевой кислоты в 1,7 раза, линоленовой в 3,3 раза, арахидоновой в 1,5 раза, докозагексаеновой в 8 раз. После ввода «Липосана» в составе висцерального жира появляются эйкозапентаеновая и докозапентаеновая кислоты.

Выводы

Таким образом, на основании проведенных исследований можно утверждать, что крысы способны синтезировать все жирные кислоты, по-видимому, из углеводов и аминокислот, причем в наибольшей степени линолевую и арахидоновую. Добавка «Липосана» увеличивает содержание всех незаменимых жирных кислот в липидах сыворотки крови, печени и в висцеральном жире. Эти данные могут быть основанием для рекомендаций по лечебному применению «Липосана», поскольку он не только увеличивает содержание незаменимых жирных кислот, но и снижает содержание СЖК, вызывающих инсулинорезистентность [5]. Ранее нами было показано и его антидисбиотическое действие [6].

Литература

- 1. Левицкий А.П. Оливка: уникальное подсолнечное масло, аналог оливкового / А.П. Левицкий. Одесса: КП ОГТ, 2013. 28 с.
- 2. Титов В.Н. Жирные кислоты. Физическая химия, биология и медицина / В.Н. Титов, Д.М. Лисицын. Тверь: Триада, 2006. 672 с.
- 3. Добавка дієтична «Ліпосан» (вітамін F). ТУ У 10.8-37420386-002: 2015. Висновок МОЗУ № 05.03.02-06/22333 від 27.05.2015.
- 4. Левицкий А.П. Методы исследования жиров и масел: методические рекомендации / А.П. Левицкий, О.А. Макаренко, И.В. Ходаков. Одесса: КР ОГТ, 2015. 32 с.
- Титов В.Н. Неэтерифицированные и свободные жирные кислоты плазмы крови. Патогенез артериальной гипертонии и симптомы синдрома переедания — метаболического синдрома (лекция) / В. Н. Титов // Клиническая лабораторная диагностика. — 2013. — № 12. — С. 27-38.
- Левченко Е.М. Влияние незаменимых жирных кислот на жировой обмен и микробиоценоз у животных на безжировом рационе / Е.М. Левченко // Journal of Education, Health and Sport. –2015. — т. 5, № 12. –C.73-83.
- 7. Эггум Б. Методы оценки использования белка животными / Б. Эггум. М.: Колос, 1977. 189 с.

References

- Levitsky A.P. Olivka: unikalnoye podsolnechnoye maslo, analog olivkovogo [Olivka: the unique sunflower oil, the analogue to olive oil]. Odessa, KP OGT, 2013: 28.
- 2. Titov V.N., Lisitsyn D.M. Zhyrnye kisloty. Fizicheskaya khimiya, biologiya i meditsyna [Fat acids. Physical chemistry, biology and medicine]. Tver, Triada, 2006: 672.
- 3. The diet supplementary «Liposan» (vitamin F).TU U 10.8-37420386-002: 2015. Conclusion of the Ministry of Healthcare of the Ukraine from 05/27/2015.
- Levitsky A.P., Makarenko O.A., Khodakov I.V. Metody issledovaniya zhirov i masel: metodicheskie rekomendatsii [Methods to investigate fats and oils]. — Odessa: KP

109

OGT, 2015. — 32 p.

- Titov V.N. Non-etherified and free fatty acids of blood plasma. Pathogenesis of arterial hypertension and the symptoms of the overeating syndrome — metabolic syndrome (lecture). Klinicheskaya laboratornaya diagnostika. 2013; 12: 27-38.
- Levchenko E.M. Influence of essential fatty acids on fat metabolism and microbiocenosis in animals fed with lean diet. Journal of Education, Health and Sport. 2015; 5 (12): 73-83.
- 7. Eggum B. Metody otsenki ispol'zovaniya belka zhivotnymi [Methods to evaluate utilization of proteins by animal]. Moskva: Kolos, 1977: 189.

Резюме

ВПЛИВ ХАРЧОВОГО ПРЕПАРАТА НЕЗАМІННИХ ЖИРНИХ КИСЛОТ НА ЇХ ВМІСТ В СИРОВАТЦІ КРОВІ, ПЕЧІНЦІ І У ВІСЦЕРАЛЬНІЙ ЖИРОВІЙ ТКАНИНІ ЩУРІВ, ЯКІ ОТРИМУВАЛИ БЕЗЖИРОВИЙ РАЦІОН

Левицький А.П., Ходаков І.В.

У щурів, які отримували безжировий раціон (БЖР) виявлено в печінці та в сироватці крові усі поліненасичені жирні кислоти (ПНЖК). Введення їх в БЖР в кількості 2,0 %збільшує вміст ПНЖК в печінці і в сироватці крові в 2-10 разів. З'являються вони і в вісцеральному жирі.

Ключові слова: поліненасичені жирні кислоти, безжировий раціон, жирове харчування, печінка, кров, вісцеральний жир.

Summary

EFFECTS OF THE FOOD PREPARATION
ESSENTIAL FATTY ACIDS ON THEIR
CONTENT IN THE SERUM, LIVER AND
VISCERAL ADIPOSE TISSUE OF RATS
TREATED WITH LEAN DIET

Levitsky A.P., Khodakov I.V.

Aim: To determine the effect of the preparation of essential fatty acids on their

content in serum, liver and visceral adipose tissue of rats receiving a fat-free diet (FFD).

<u>Materials and Methods</u>: As a preparation of essential fatty acids there was used the dietary supplement "Liposan (vitamin F) " containing linoleic, linolenic, arachidonic, eicosapentaenoic docosahexaenoic acids in triglycerides (made by "Biochimtech "Itd, Ukraine). The content of polyunsaturated fatty acids (PUFAs) was determined by gas chromatography. Experiments were conducted on 10 white rats that received the normal FFD (1st group) and the FFD in which 2 % of starch were replaced by 2 % of the preparation with PUFA (2d group). Rats received 30 g of food daily for 31 days. The PUFA and TL (total lipids) contents were determined in serum, liver and visceral

Results: PUFA were found in liver and blood serum of the FFD treated rats. "Liposan" increased the content of all PUFA by 2-10 times in liver and blood serum with the exception for arachidonic acid. A small amount of PUFA appeared also in visceral adipose tissue. The preparation "Liposan" reduced the content of free fatty acids by 3 times.

<u>Conclusions</u>: The dietary supplement «Liposan» (vitamin F) significantly increased the content of polyunsaturated fatty acids in rats received FFD.

Keywords: polyunsaturated fatty acids, fat-free diet, fatty food, liver, blood, visceral fat.

Впервые поступила в редакцию 04.02.2016 г. Рекомендована к печати на заседании редакционной коллегии после рецензирования

110