

Министерство здравоохранения Российской Федерации
Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
«Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи»

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

ВОПРОСЫ ПИТАНИЯ

VOPROSY PITANIYA
(PROBLEMS OF NUTRITION)

Основан в 1932 г.

ТОМ 88

№ 1, 2019

Журнал входит в Перечень российских рецензируемых научных журналов, которые рекомендованы Высшей аттестационной комиссией Министерства образования и науки Российской Федерации (ВАК) для публикации результатов диссертаций на соискание ученой степени кандидата и доктора наук

Журнал представлен в следующих информационно-справочных изданиях и библиографических базах данных: Реферативный журнал ВИНТИ, Biological, MedART, eLibrary.ru, The National Agricultural Library (NAL), Nutrition and Food Database, FSTA, EBSCOhost, Health Index, Scopus, Web of Knowledge, Social Sciences Citation Index, Russian Periodical Catalog



ИЗДАТЕЛЬСКАЯ ГРУППА
«ГЭОТАР-Медиа»

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Тутельян Виктор Александрович (Москва, Россия)

главный редактор, академик РАН, доктор медицинских наук, профессор, заведующий лабораторией энзимологии питания, научный руководитель ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии»

Никитюк Дмитрий Борисович (Москва, Россия)

заместитель главного редактора, член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук, профессор, заведующий лабораторией спортивной антропологии и нутрициологии, директор ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии»

Вржесинская Оксана Александровна (Москва, Россия)

ответственный секретарь редакции, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории витаминов и минеральных веществ ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии»

Пузырева Галина Анатольевна (Москва, Россия)

ответственный секретарь редакции, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории спортивной антропологии и нутрициологии ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии»

Арчаков Александр Иванович (Москва, Россия)

академик РАН, доктор медицинских наук, профессор, научный руководитель ФГБНУ «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича»

Багиров Вугар Алиевич (Москва, Россия)

член-корреспондент РАН, доктор биологических наук, профессор, директор Департамента координации деятельности организаций в сфере сельскохозяйственных наук Минобрнауки России

Батурич Александр Константинович (Москва, Россия)

доктор медицинских наук, профессор, руководитель направления «Оптимальное питание» ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии»

Бойцов Сергей Анатольевич (Москва, Россия)

член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук, профессор, генеральный директор ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии» Минздрава России

Бреда Жоао (Копенгаген, Дания)

доктор медицинских наук, руководитель Европейского офиса по профилактике неинфекционных заболеваний и борьбе с ними и Программы по вопросам питания, физической активности и ожирения Европейского регионального бюро ВОЗ в отделе неинфекционных заболеваний и укрепления здоровья на всех этапах жизни

Валента Рудольф (Вена, Австрия)

профессор, руководитель Департамента иммунопатологии, кафедры патофизиологии и аллергии Медицинского университета г. Вены

Голухова Елена Зеликовна (Москва, Россия)

академик РАН, доктор медицинских наук, профессор, заведующая отделением неинвазивной аритмологии и хирургического лечения комбинированной патологии Института кардиохирургии им. В.И. Бураковского ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр сердечно-сосудистой хирургии им. А.Н. Бакулева» Минздрава России

Григорьев Анатолий Иванович (Москва, Россия)

академик РАН, доктор медицинских наук, профессор, советник РАН

Зайцева Нина Владимировна (Пермь, Россия)

академик РАН, доктор медицинских наук, профессор, научный руководитель ФБНУ «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения» Роспотребнадзора

Исаков Василий Андреевич (Москва, Россия)

доктор медицинских наук, профессор, заведующий отделением гастроэнтерологии и гепатологии ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии»

Кочеткова Алла Алексеевна (Москва, Россия)

доктор технических наук, профессор, заведующая лабораторией пищевых биотехнологий и специализированных продуктов ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии»

Медведева Ирина Васильевна (Тюмень, Россия)

академик РАН, доктор медицинских наук, профессор, ректор ФГБОУ ВО «Тюменский государственный медицинский университет» Минздрава России

Нареш Маган (Лондон, Великобритания)

профессор факультета изучения окружающей среды и технологии Кренфильдского университета

Онищенко Геннадий Григорьевич (Москва, Россия)

академик РАН, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой экологии человека и гигиены окружающей среды медико-профилактического факультета ФГАУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский университет), первый заместитель председателя комитета Государственной Думы по образованию и науке

Попова Анна Юрьевна (Москва, Россия)

доктор медицинских наук, профессор, руководитель Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

Стародубова Антонина Владимировна (Москва, Россия)

доктор медицинских наук, заведующая отделением персонализированной терапии и диетологии, заместитель директора по научной и лечебной работе ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии», профессор кафедры факультетской терапии лечебного факультета ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России

Суханов Борис Петрович (Москва, Россия)

доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры гигиены питания и токсикологии ФГАУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский университет)

Тсатсакис Аристидис Михаил (Крит, Греция)

академик РАН, профессор, руководитель Департамента токсикологии и судебной медицины при Университете Крита, председатель отдела морфологии Медицинской школы Университета Крита

Хотимченко Сергей Анатольевич (Москва, Россия)

доктор медицинских наук, профессор, заведующий лабораторией пищевой токсикологии и оценки безопасности нанотехнологий, первый заместитель директора ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии»

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

Акимов М.Ю. (Мичуринск, Тамбовская обл., Россия)

Бакиров А.Б. (Уфа, Россия)

Бессонов В.В. (Москва, Россия)

Боровик Т.Э. (Москва, Россия)

Камбаров А.О. (Москва, Россия)

Коденцова В.М. (Москва, Россия)

Конь И.Я. (Москва, Россия)

Кузьмин С.В. (Москва, Россия)

Мазо В.К. (Москва, Россия)

Погожева А.В. (Москва, Россия)

Попова Т.С. (Москва, Россия)

Сазонова О.В. (Самара, Россия)

Симошенко С.В. (Москва, Россия)

Скрябин Г.К. (Москва, Россия)

Сычик С.И. (Минск, Республика Беларусь)

Турчанинов Д.В. (Омск, Россия)

Хенсел А. (Германия)

Шабров А.В. (Санкт-Петербург, Россия)

Шарафетдинов Х.Х. (Москва, Россия)

Шарманов Т.Ш. (Казахстан)

Шевелева С.А. (Москва, Россия)

Шевырева М.П. (Москва, Россия)

Научно-практический журнал «Вопросы питания» № 1, 2019

Выходит 6 раз в год.

Основан в 1932 г.

Свидетельство о регистрации средства массовой информации ПИ № 77-14119 от 11.12.2002.

Все права защищены.

Никакая часть издания не может быть воспроизведена без согласия редакции.

При перепечатке публикаций с согласия редакции ссылка на журнал «Вопросы питания» обязательна.

Ответственность за содержание рекламных материалов несут рекламодатели.

Адрес редакции

109240, г. Москва,
Устьинский проезд, д. 2/14,
ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии»,
редакция журнала «Вопросы питания»
Телефон: (495) 698-53-60, 698-53-46
Факс: (495) 698-53-79

Научный редактор

Вржесинская Оксана Александровна:
(495) 698-53-30, red@ion.ru

Подписные индексы

каталог агентства «Роспечать»: **71422**
каталог «Пресса России»: **88007**

Сайт журнала: <http://vp.geotar.ru>

Издатель

ООО Издательская группа
«ГЭОТАР-Медиа»
115035, г. Москва,
ул. Садовническая, д. 11, стр. 12
Телефон: (495) 921-39-07
www.geotar.ru

Выпускающий редактор:

Красникова Ольга, krasnikova@geotar.ru

Корректор: Макеева Елена

Верстка: Килимник Арина

Тираж 3000 экземпляров.
Формат 60x90 1/8.
Печать офсетная. Печ. л. 12.

Отпечатано в ООО «Центр полиграфических услуг «Радуга»:
117105, г. Москва, Варшавское ш., д. 28 А
Заказ № 193.

© ООО Издательская группа
«ГЭОТАР-Медиа», 2019

**Scientific and practical journal
«Problems of Nutrition» N 1, 2019**

6 times a year.
Founded in 1932.

The mass media registration
certificate PI N 77–14119
from 11.12.2002.

All rights reserved.

No part of the publication
can be reproduced without
the written consent of editorial office.

Any reprint of publications with consent
of editorial office should obligatory contain
the reference to the “Problems of Nutrition”
provided the work is properly cited.

The content
of the advertisements is the
advertiser's responsibility.

Address of the editorial office
109240, Moscow, Ust'inskiy driveway, 2/14,
Federal Research Centre of Nutrition,
Biotechnology and Food Safety,
editorial office of the “Problems of Nutrition”
Phone: (495) 698-53-60, 698-53-46
Fax: (495) 698-53-79

Science editor
Vrzheshinskaya O.A.:
(495) 698-53-30, red@ion.ru

Subscription index
in catalogue of “Rospechat”: **71422**
in catalogue of “The Press of Russia”: **88007**

The journal's website: <http://vp.geotar.ru>

Publisher
GEOTAR-Media Publishing Group
Sadovnicheskaya st.,
11/12, Moscow
115035, Russia
Phone: (495) 921-39-07
www.geotar.ru

Desk editor:
Krasnikova Olga, krasnikova@geotar.ru

Proofreader: Makeeva E.I.

Layout: Kilimnik A.I.

Circulation of 3000 copies.
Format 60x90 1/8.
Offset printing. 12

Printed by LLC Center
of Printing Services “Rainbow”:
117105, Moscow, Varshavskoye
highway, 28 A.
Order N 193.

© GEOTAR-Media Publishing Group,
2019

Viktor A. Tutelyan (Moscow, Russia)
Editor-in-Chief, Full Member of Russian Academy of Sciences, Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Laboratory of Nutrition Enzymology, Scientific supervisor of the Federal Research Centre of Nutrition, Biotechnology and Food Safety

Dmitriy B. Nikityuk (Moscow, Russia)
Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Laboratory of Sport Anthropology and Nutrition, Director of the Federal Research Centre of Nutrition, Biotechnology and Food Safety

Oksana A. Vrzheshinskaya (Moscow, Russia)
Executive Secretary of the Editorial Office, PhD, Candidate of Biological Sciences, Leading Researcher of the Laboratory of Vitamins and Minerals of the Federal Research Centre of Nutrition, Biotechnology and Food Safety

Galina A. Puzyreva (Moscow, Russia)
Executive Secretary of the Editorial Office, PhD, Candidate of Biological Sciences, Researcher of the Laboratory of Sport Anthropology and Nutrition of the Federal Research Centre of Nutrition, Biotechnology and Food Safety

Aleksander I. Archakov (Moscow, Russia)
Full Member of Russian Academy of Sciences, Doctor of Medical Sciences, Professor, Scientific director of Institute of Biomedical Chemistry named after V.N. Orekhovich

Vugar A. Bagirov (Moscow, Russia)
Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Doctor of Biological Sciences, Professor, Director of the Department for Coordination and Support of Organizations in the Field of Agricultural Sciences the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation

Aleksander K. Baturin (Moscow, Russia)
Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department “Optimal Nutrition” of the Federal Research Centre of Nutrition, Biotechnology and Food Safety

Sergey A. Boytsov (Moscow, Russia)
Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Doctor of Medical Sciences, Professor, General director of National Medical Research Center of Cardiology

Joao Breda (Copenhagen, Denmark)
PhD MPH MBA, Head of WHO European Office for Prevention and Control of Noncommunicable Diseases & a.i. Programme Manager Nutrition, Physical Activity and Obesity of the Division of Noncommunicable Diseases and Promoting Health through the Life-course

Rudolf Valenta (Vienna, Austria)
Professor, Head of the Laboratory for Allergy Research of Division of Immunopathology at the Department of Pathophysiology and Allergy Research at the Center for Pathophysiology, Infectology and Immunology of Medical University of Vienna

Elena Z. Golukhova (Moscow, Russia)
Full Member of Russian Academy of Sciences, Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Non-Invasive Arrhythmology and Surgical Treatment of Combined Pathology at the V.I. Bourakovskiy Institute for Cardiac Surgery of A.N. Bakulev National Medical Research Center for Cardiovascular Surgery

Anatoliy I. Grigoriev (Moscow, Russia)
Full Member of Russian Academy of Sciences, Doctor of Medical Sciences, Professor, Advisor of the Russian Academy of Sciences

Nina V. Zaytseva (Perm', Russia)
Full Member of Russian Academy of Sciences, Doctor of Medical Sciences, Professor, Scientific supervisor of the Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies

Vasily A. Isakov (Moscow, Russia)
Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Gastroenterology and Hepatology of the Federal Research Centre of Nutrition, Biotechnology and Food Safety

Alla A. Kochetkova (Moscow, Russia)
Doctor of Technical Sciences, Professor, Head of the Laboratory of Food Biotechnology and Specialized Preventive Products of the Federal Research Centre of Nutrition, Biotechnology and Food Safety

Irina V. Medvedeva (Tyumen, Russia)
Full Member of Russian Academy of Sciences, Doctor of Medical Sciences, Professor, Rector of Tyumen State Medical University

Magan Naresh (London, United Kingdom)
Professor of Applied Mycology of Cranfield Soil and Agrifood Institute of Cranfield University

Gennady G. Onishchenko (Moscow, Russia)
Full Member of Russian Academy of Sciences, Doctor of Medical Sciences, Professor, head of the Department of Human Ecology and Environmental Hygiene of I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, First Deputy Chairman of the State Duma Committee on Education and Science

Anna Yu. Popova (Moscow, Russia)
Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing

Antonina V. Starodubova (Moscow, Russia)
Doctor of Medical Sciences, Head of the Department of Personalized Therapy and Dietetics, Deputy Director for Scientific and Medical Work of the Federal Research Centre of Nutrition, Biotechnology and Food Safety, Professor of the Department of Faculty Therapy of Pirogov Russian National Research Medical University

Boris P. Sukhanov (Moscow, Russia)
Doctor of Medical Sciences, Professor, Professor of the Department of Food Hygiene and Toxicology at the I.M. Sechenov First Moscow State Medical University

Aristides M. Tsatsakis (Crete, Greece)
Full Member of the Russian Academy of Sciences, Professor, the Director of the Department of Toxicology and Forensic Sciences of the Medical School at the University of Crete and the University Hospital of Heraklion, the Chairman of the Division of Morphology of the Medical School of the University of Crete in Greece

Sergey A. Khotimchenko (Moscow, Russia)
Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Laboratory of Food Toxicology and Safety Assessments of Nanotechnology, First Deputy Director of the Federal Research Centre of Nutrition, Biotechnology and Food Safety

EDITORIAL COUNCIL

Akimov M.Yu. (Michurinsk, Tambov Region, Russia)
Bakirov A.B. (Ufa, Russia)
Bessonov V.V. (Moscow, Russia)
Borovik T.E. (Moscow, Russia)
Kambarov A.O. (Moscow, Russia)
Kodentsova V.M. (Moscow, Russia)
Kon I.Ya. (Moscow, Russia)
Kuzmin S.V. (Moscow, Russia)
Mazo V.K. (Moscow, Russia)
Pogozheva A.V. (Moscow, Russia)
Popova T.S. (Moscow, Russia)

Sazonova Olga V. (Samara, Russia)
Simonenko S.V. (Moscow, Russia)
Scryabin K.G. (Moscow, Russia)
Sychik S.I. (Minsk, Belarus)
Turchaninov Denis V. (Omsk, Russia)
Hensel A. (Germany)
Shabrov A.V. (St. Petersburg, Russia)
Sharafetdinov Kh.Kh. (Moscow, Russia)
Sharmanov T.S. (Alma-Ata, Kazakhstan)
Sheveleva S.A. (Moscow, Russia)
Shevyreva M.P. (Moscow, Russia)

ОБЗОРЫ

Козлов А.И.

Связанные с потреблением углеводных продуктов нутрициологические и генетические риски развития ожирения у коренных северян

Сокуренок М.С., Соловьева Н.Л., Бессонов В.В., Мазо В.К.

Полифенольные соединения класса стилибеноидов: классификация, представители, содержание в растительном сырье, особенности структуры, использование в пищевой промышленности и фармации

ФИЗИОЛОГИЯ И БИОХИМИЯ ПИТАНИЯ

Атякшин Д.А., Алексеева Н.Т., Клочкова С.В., Никитюк Д.Б.

Состояние коллагеновых волокнистых структур экстрацеллюлярного матрикса соединительной ткани желудка и кишечника мышей после 30-суточного орбитального полета

Ильичева Е.Ю., Канаш Л.А., Тимирова З.Р., Цымбаленко Н.В., Орлов Ю.А., Ключева Н.Н., Скоморохова Е.А., Денисенко А.Д., Пучкова Л.В.

Особенности метаболизма меди у крыс, содержащихся на низко- или высококалорийном рационе

Сидорова Ю.С., Петров Н.А., Зорин С.Н., Саркисян В.А., Мазо В.К., Кочеткова А.А.

Новый функциональный пищевой ингредиент – липидный модуль, источник астаксантина и плазмалогенов

ГИГИЕНА ПИТАНИЯ

Тышко Н.В., Садыкова Э.О., Груздев Д.С., Сухачева М.В.

Мультиплексная полимеразная цепная реакция для количественного определения генно-инженерно-модифицированного картофеля линии EH92-527-1 в пищевой продукции

Штина И.Е., Валина С.Л., Ямбулатов А.М., Устинова О.Ю.

Особенности основных видов обмена у учащихся средних общеобразовательных учреждений в зависимости от организации учебного процесса и общественного питания

Куликова А.С., Титова И.М.

Анализ пищевой и энергетической ценности меню некоторых муниципальных дошкольных образовательных учреждений Калининградского региона

ЛЕЧЕБНОЕ ПИТАНИЕ

Гуревич К.Г., Никонов Е.Л., Заборова В.А., Шелехова Т.Ю., Зольникова О.Ю.

Применение пробиотиков в составе комплексной терапии дисбиотических нарушений при некоторых заболеваниях кишечника

МИКРОНУТРИЕНТЫ В ПИТАНИИ

Зорин С.Н., Сидорова Ю.С., Лобанова Ю.Н., Мазо В.К.

Органический источник ванадия. Получение и физико-химическая характеристика

Титов Е.И., Тихомирова Н.А., Ионова И.И.

Выделение и изучение железосвязывающей способности лактоферрина коровьего молока

REVIEW

5 Kozlov A.I.

Carbohydrate-related nutritional and genetic risks of obesity for indigenous northerners

17 Sokurenko M.S., Solovieva N.L., Bessonov V.V., Mazo V.K.

Polyphenolic compounds of the stilbenoid class: classification, representatives, content in plant raw materials, structural features, use in the food industry and pharmacy

PHYSIOLOGY AND BIOCHEMISTRY OF NUTRITION

26 Atiakshin D.A., Alexeeva N.T., Klochkova S.V., Nikityuk D.B.

Extracellular matrix collagen fiber structures of the gastrointestinal connective tissues in mice after a 30 day orbital flight

41 Ilyechova E.Yu., Kanash L.A., Timirova Z.R., Tsybalenko N.V., Orlov Yu.A., Klyuyeva N.N., Skomorokhova E.A., Denisenko A.D., Puchkova L.V.

The changes of copper metabolism in rats fed with low- or high-calorie ration

49 Sidorova Yu.S., Petrov N.A., Zorin S.N., Sarkisyan V.A., Mazo V.K., Kochetkova A.A.

New functional food ingredient – lipid module, source of astaxantine and plasmalogenes

HYGIENE OF NUTRITION

57 Tyshko N.V., Sadykova E.O., Grouzdev D.S., Sukhacheva M.V.

Multiplex PCR for detection and quantification of GM potato event EH92-527-1 in food

62 Shtina I.E., Valina S.L., Yambulatoev A.M., Ustinova O.Yu.

Peculiarities the main types of metabolism of students of middle educational institutions depending on the organization of the educational process and public catering

71 Kulikova A.S., Titova I.M.

Analysis of food and energy value of the menu of some municipal pre-school educational institutions of the Kaliningrad Region

DIET TREATMENT

77 Gurevich K.G., Nikonov E.L., Zaborova V.A., Shelekhova T.Yu., Zolnikova O.Yu.

Probiotic using as a part of complex therapy of disbiotic violations at some intestinal diseases

MICRONUTRIENTS IN NUTRITION

85 Zorin S.N., Sidorova Yu.S., Lobanova Yu.N., Mazo V.K.

Organic source of vanadium. preparation and physical-chemical characteristic

91 Titov E.I., Tikhomirova N.A., Ionova I.I.

Investigation of the iron-binding capacity of the bovine lactoferrin

Для корреспонденции

Козлов Андрей Игоревич – доктор биологических наук, старший научный сотрудник Научно-исследовательского института и музея антропологии им. Д.Н. Анучина ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова»
 Адрес: 125009, Россия, г. Москва, ул. Моховая, д. 11, стр. 1
 Телефон: (495) 629-44-49
 E-mail: dr.kozlov@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-6710-4862>

Козлов А.И.

Связанные с потреблением углеводных продуктов нутрициологические и генетические риски развития ожирения у коренных северян

Carbohydrate-related nutritional and genetic risks of obesity for indigenous northerners

Kozlov A.I.

Научно-исследовательский институт и музей антропологии им. Д.Н. Анучина ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова», Москва, Россия
 D. Anuchin Research Institute and Museum of Anthropology, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

К концу 2010-х гг. частота ожирения у коренных северян приблизилась к общероссийской, а темпы распространения других метаболических расстройств превысили средний уровень.

Цель обзора – анализ данных о возможном влиянии на эти процессы роста потребления углеводсодержащих продуктов и разнообразия пищевых диет и полисахаридов в сочетании с генетической спецификой регуляции активности ферментов-сахаридаз.

Результаты. Показано, что традиционный белково-липидный тип питания северян вытеснен диетой с высоким содержанием углеводсодержащих продуктов. Потребление углеводов сравнялось со средним по Российской Федерации (40 кг в год на человека), превышающим средние для Европы 36,2 кг на человека в год. Резко возросло разнообразие в пище дисахаридов. Потребление сахарозы – единственного дисахарида в доступных северянам покупных продуктах в начале XX в., с 1930-х по 1990-е гг. возросло с 30 до 63–65 г/сут. При этом доля сахарозы относительно других дисахаридов снизилась до 60–70%, а вклад лактозы и трегалозы достиг 30–40%. Потребление крахмала также возросло и приблизилось к среднему по Российской Федерации (228,5 г/сут у мужчин, 157,5 г/сут у женщин). Такое питание само по себе повышает риск развития метаболических нарушений и ожирения. Негативным кофактором становится высокая доля среди северян носителей генотипов, детерминирующих сниженный уровень или отсутствие продукции сахаразы-изомальтазы, лактазы, трегалазы, панкреатических и слюварной амилаз. Эволюционно обусловленная и закрепленная в генотипе аборигенов Арктики непереносимость сложных углеводов вступает в конфликт с ростом потребления дисахаридов и крахмалсодержащих продуктов в современных условиях. Северяне характеризуются высоким (3,5–14,3

Для цитирования: Козлов А.И. Связанные с потреблением углеводных продуктов нутрициологические и генетические риски развития ожирения у коренных северян // *Вопросы питания*. 2019. Т. 88, № 1. С. 5–16. doi: 10.24411/0042-8833-2019-10001.

Статья поступила в редакцию 10.08.2018. **Принята в печать** 13.11.2018.

For citation: Kozlov A.I. Carbohydrate-related nutritional and genetic risks of obesity for indigenous northerners. *Voprosy pitaniia* [Problems of Nutrition]. 2019; 88 (1): 5–16. doi: 10.24411/0042-8833-2019-10001. (in Russian)

Received 10.08.2018. **Accepted for publication** 13.11.2018.

против 0,05–0,2% у европейцев) носительством делеции AG гена SI, детерминирующей мальабсорбцию сахарозы. Генотип CC/LCT (носительство 96,6% у северян при 36–49% у русских) детерминирует непереносимость лактозы, что ассоциировано с риском развития ожирения в детском возрасте. Носительство аллеля A в локусе rs2276064 гена TREN (непереносимость трегалозы; 31,3–58,9% у северян, 1,9% у европейцев) повышает вероятность возникновения сахарного диабета 2 типа. По предварительным оценкам, у 28–52% северян полностью утрачен ген AMY, что исключает или резко снижает усвоение крахмала. Снижение числа копий гена AMY (среднее число копий AMY2A – 4, у северян – 1,0–1,4) ассоциировано с нарастанием избыточной массы тела и ожирения.

Заключение. Результаты анализа свидетельствуют, что у современных коренных северян нутрициологические и генетические риски метаболических нарушений суммируются.

Ключевые слова: питание, метаболические нарушения, сахараза, лактаза, трегалаза, амилаза, крахмал

By the end of the 2010-s the prevalence of obesity among the indigenous people of the North approached to the all-Russia one and the speed of the spread of other metabolic disorders exceeded the average all-country levels.

Aim of this review is to analyze data on the increase in consumption and variety of sugars coupled with a genetic specificity of regulation of saccharidase activity and their possible impact on the matters.

Results. *It have been shown that the traditional protein-lipid-based northern type diet has substantially changed and now contains a high proportion of carbohydrates. The carbohydrate per capita consumption among the indigenous people of the North has reached the all-Russia average level (40 kg per year) which exceeds the European average of 36.2 kg per year. The variety of food disaccharides has also considerably increased. The daily consumption of sucrose, at the beginning of the 20th century it was the only sugar contained in the store-bought foods, increased from 30 g in the 1930s to 63–65 g in the 1990s. In addition, the proportion of sucrose dropped to 60–70 per cent, while the contribution of other disaccharides (lactose, trehalose) reached 30–40 per cent. Daily starch consumption has also increased and got close to the national average (males 228.5 g, females 157.5 g per day). Such a diet in itself increases the risk of metabolic disorders and obesity. The high prevalence of the genotypes that determine reduced levels or inability to produce sucrose-isomaltase, lactase, trehalase, salivary and pancreatic amylases among northerners becomes a negative cofactor. The evolutionary driven and embodied in genotype reduced ability of the indigenous Arctic people to digest complex carbohydrates is in a conflict with the growing consumption of sugars and starchy foods in modern conditions. The northern people have a high proportion of carriers of the AG deletion in SI gene (3.5–14.3% against 0.05–0.2% among Europeans) which determines malabsorption of sucrose. The CC/LCT genotype (96.6% in northerners, 36–49% in Russians) presumes lactose intolerance and is associated with the risk of childhood obesity. The occurrence of A allele in the rs2276064 locus of TREN gene (trehalose intolerance; 31.3–58.9% in northerners, 1.9% in Europeans) increases the probability of the onset of type 2 diabetes mellitus. According to preliminary estimates, 28–52% of the northerners completely lost AMY gene that precludes or drastically reduces the ability to digest starch. A reduction in the number of copies of AMY gene (the average number of copies AMY2A – 4, in, in northerners it is 1.0–1.4) is associated with overweight and obesity.*

Conclusion. *The analysis shows that, in the case of the modern indigenous northerners, nutritional and genetic risks of metabolic disorders accumulate.*

Keywords: *nutrition, metabolic disorders, sucrose, lactose, trehalose, amilase, starch*

В силу исторических, экологических и экономических причин основную долю вещества и энергии в современном вестернизированном мире человек получает за счет продуктов растительного происхождения. Углеводы как класс органических соединений, включающих моно- и дисахариды (сахара), а также полисахариды, важнейшим из которых является крахмал, обеспечивают 55–70% общей калорийности суточного рациона. Единственный продукт животного происхождения, представляющий дисахарид, – содержащее лактозу молоко; остальные источники углеводов растительного происхождения [1].

Характерный для современных обществ тип питания формировался на протяжении 8–10 тысячелетий, охватывая все большую часть населения планеты. Однако некоторые популяции до недавнего времени сохраняли основанный на охоте, собирательстве и выпасе полудомашнего скота (например, оленей) традиционный «дотехнологический» тип ведения хозяйства, обеспечивавший общину продуктами преимущественно животного происхождения. В нашей стране такие группы представлены народами приарктических и арктических регионов.

В 1920–1930-х гг. арктические народы России стали подвергаться все более интенсивному давлению внешних

факторов, включавших, помимо прочего, существенные изменения питания. На протяжении жизни 3–4 поколений (чрезвычайно короткий в эволюционном плане период) коренные северяне оказались перед необходимостью адаптироваться к составу продуктов, отличающихся от традиционных. Одно из основных изменений диеты связано с резким увеличением доли углеводов.

Необходимо подчеркнуть: распространенное представление о том, что продукты растительного происхождения не играют существенной роли в традиционном питании коренных северян, ошибочно. Тундровые растения и различные виды водорослей – важный элемент диеты коренных жителей высоких широт. Инуиты (эскимосы) Канады используют в пищу различные виды местных растений так же часто, как и птицу, в среднем больше 100 раз в год. В летнее время ежедневное потребление ягод ненцами-оленоводами составляет около 250 г на человека. В традиционный рацион чукчей и сибирских эскимосов входит около 30 видов наземных и водных растений. Но при арктическом типе питания растительная пища, выполняющая важнейшую роль обеспечения организма клетчаткой и биологически активными веществами, не является существенным поставщиком углеводов, как в диетах народов умеренной и тропической зон [2].

«Модернизационные» изменения питания северян характеризуются резким увеличением потребления именно углеводсодержащих продуктов – сахаров и крахмала [3–5]. Эти изменения требуют особого внимания диетологов, физиологов и генетиков.

Пищевым углеводам уделяется все больше внимания как фактору риска развития ожирения и метаболического синдрома. Повышенное потребление углеводов, включая наиболее распространенный сахар – сахарозу, ассоциировано с нарастанием массы тела [6, 7], а употребление сахаров в составе подслащенных напитков напрямую ведет к ожирению [8]. Результаты метаанализов позволяют заключить, что влияние на массу тела человека высоко- и низкоуглеводных диет сопоставимо с эффектом, который оказывает потребление пищи с высоким или низким содержанием жиров [9]. Большая часть наблюдений относится к группам европеоидного населения, но ряд данных свидетельствует, что потребление рафинированных углеводов повышает риск развития метаболического синдрома и у монголоидов [10], к которым относятся и коренные северяне. Показано, что у эскимосов (инуитов) Канады потребление добавленных сахаров в виде сладких напитков ведет к нарастанию индекса массы тела (ИМТ) [11].

Метаболические расстройства, проявляющиеся в нарастании массо-ростовых соотношений, быстро распространяются среди коренного населения высокоширотных регионов России. При обследованиях конца 1980-х гг. среди живущих в поселках практически здоровых северных манси 18–59 лет избыток массы тела был обнаружен у 8% мужчин и 20% женщин, в выборках коми-ижемцев Западной Сибири – у 7% мужчин и 10% женщин [4]. В 1990-х гг. избыточная масса

тела и ожирение встречались среди взрослых северян уже чаще, причем интенсивное нарастание массы тела у жителей поселков отмечалось уже в 25–30 лет. У нганасанок Таймыра 20–29 лет даже средние значения ИМТ составляли 26,3 кг/м², превышая нижнюю границу избыточной массы тела (25 кг/м²), а в возрастной когорте 40–49 лет составляли 29,8 кг/м², вплотную приблизившись к диагностическим показателям ожирения. Среди взрослых чукчей и сибирских эскимосов младше 35 лет избыточная масса тела и ожирение зафиксированы у 16% мужчин и 19% женщин, а в возрастной когорте 35–49 лет – соответственно у 35 и 52% [12]. В начале 2000-х гг. массо-ростовые нормативы были превышены у 7,3% обследованных мужчин-ненцев, причем в старшей возрастной группе показатель достиг 18,2% [13]. Среди коренного населения Эвенкии избыточная масса тела обнаружена у 29,3% женщин и 21,3% мужчин, ожирение – соответственно у 13,8 и 3,6% [14]. Ожирение зафиксировано у 23% женщин ханты и ненок Ямало-Ненецкого автономного округа (ЯНАО) [15], у 42% ненок Ненецкого автономного округа (НАО) [16]. Эти показатели сближаются с общероссийскими: в 2008 г. 56,2% мужчин и 62,8% женщин РФ в возрасте 20 лет и старше имели избыточную массу; ожирение диагностировалось соответственно у 18,6 и 32,9% [17].

Быстро нарастают негативные проявления и у детей коренных северян. Доля сельских школьников Мурманской области с превышением рекомендованных значений ИМТ возросла с 9,96% (в том числе ожирение – 1,42%) в 1995–1997 гг. до 34,84% (ожирение – 7,66%) в 2018 г. В конце второго десятилетия XXI в. избыточное питание у детей коренного населения Кольского Заполярья (саамы, коми-ижемцы) встречается так же часто, как и у сельского русского населения Мурманской области и у их сверстников из Архангельской области [18].

Вслед за нарушениями жирового обмена у северян быстро распространяются интолерантность к глюкозе, сахарный диабет, другие составляющие метаболического синдрома [12, 19–22]. О распространении болезней эндокринной системы, расстройств питания и нарушений обмена веществ у российских северян свидетельствует динамика первичной заболеваемости: к концу 2010-х гг. заболеваемость коренных северян болезнями эндокринной системы, расстройствами питания и нарушениями обмена веществ (МКБ-10: класс IV) превысила общероссийский уровень (см. рисунок).

Вероятность того, что описанные негативные изменения связаны с ростом потребления углеводсодержащих продуктов и увеличением разнообразия потребляемых сахаров тем более высока, что популяции коренного населения Арктики характеризуются генетически детерминированным снижением продукции ферментов, участвующих в метаболизме углеводов. При освоении высокоширотных биотопов с их специфической пищевой базой в аборигенных группах сложился тип питания, при котором для получения энергии использовались не пищевые углеводы, а производные обмена животных



Первичная заболеваемость (на 1000 человек населения) болезнями эндокринной системы, расстройствами питания и нарушениями обмена веществ (класс IV по МКБ-10) у населения территорий преимущественного проживания коренных народов Севера и в России в целом [23, 24]

белков и липидов. При протеиново-липидном варианте питания снижается потребность в получаемых извне углеводах – организм получает их за счет глюконеогенеза [25]. В экологических условиях Арктики такой вариант метаболизма оказался достаточно эффективным. Об этом свидетельствует тот факт, что в разных по происхождению группах, заселявших Крайний Север, независимо формировались близкие с точки зрения нутрициологии варианты «арктической кухни» [4]. Но в ситуации, при которой глюконеогенез превратился в основной источник необходимых организму моносахаридов, физиологически избыточной стала высокая продукция ферментов, способствующих усвоению экзогенных углеводов. Учитывая это, мы высказали гипотезу о том, что потеря способности к энергетически затратной продукции фермента в экологической среде Арктики имела лишь незначительный негативный эффект, а это привело к ослаблению отбора на поддержание активности олигосахаридаз [5].

В рамках этой концепции, опираясь на накопленные за прошедшие 10 лет данные, мы рассмотрим связанные с потреблением углеводных продуктов генетические и нутрициологические риски развития метаболических расстройств у коренных северян.

Цель предлагаемого обзора – систематизация данных о генетической специфике регуляции активности ферментов-сахаридаз и динамике потребления углеводсодержащих продуктов у коренных северян.

Клинико-лабораторные и генетические подходы к исследованию эпидемиологии активности сахарадаз

Усвоение и дисахаридов, и сложных полисахаридов (включая крахмал) требует функционирования целого

ряда ферментов: расщепление каждого из ди- и олигосахаридов возможно только при достаточной продукции и активности соответствующего энзима.

В общетерапевтической практике судить о ферментативной активности ферментов-сахаридаз сложно, поскольку клиническая симптоматика их дефицита мало специфична и близка к проявлениям других расстройств деятельности желудочно-кишечного тракта. К тому же проведение дифференциальной диагностики осложняется влиянием кишечной микрофлоры [26]. Наиболее точным методом клинико-лабораторного исследования активности и уровня продукции соответствующих ферментов остается анализ биоптатов кишечника [27, 28]. Но поскольку этот метод требует проведения инвазивных процедур, он не может быть использован в исследованиях эпидемиологической направленности.

Эти обстоятельства стали причиной того, что до недавнего времени крайне скудной оставалась информация о распространении врожденного дефицита ди- и олигосахаридаз в популяциях, различающихся по медико-антропологическим, географическим, экологическим характеристикам.

Исключением стала лишь мальабсорбция лактозы, которая привлекла внимание клиницистов в силу широкой распространенности среди различных групп населения Европы, США и, как вскоре выяснилось, других регионов планеты. Запросы практической медицины привели к тому, что уже в начале 1970-х гг. были разработаны методы неинвазивной диагностики недостаточности лактазы. Установление генетической природы первичной гиполактазии и междисциплинарные исследования на стыке физиологии, энзимологии и молекулярной генетики позволили заключить, что генетический контроль является основным фактором, регулирующим участие дисахаридаз в процессах пищеварения [29].

Это наблюдение стало важным этапом в изучении эпидемиологии недостаточности ди- и олигосахаридаз. С одной стороны, оно позволило выдвинуть предположения о генетико-эволюционных причинах возникновения межпопуляционных различий в способности к усвоению сложных сахаров [5]. С другой – стимулировало поиск все более широкого спектра генетических детерминант метаболизма сложных углеводов, а также мутаций, ведущих к нарушению продукции или активности соответствующих ферментов.

В настоящем обзоре мы сосредоточимся на популяционных особенностях генетической регуляции активности следующих сахарадаз: сахаразы-изомальтазы, лактазы, трегалазы, панкреатических и слюварной амилаз.

Сахароза и сахараза

Важным этапом усвоения наиболее распространенного пищевого сахара – сахарозы – является ее расщепление на составляющие моносахариды: α-глюкозу

и β-фруктозу. Эту функцию выполняет сахараза-изомальтаза. Более 50 лет назад было показано, что уровень продукции этого фермента генетически детерминирован [30, 31]. Последующие исследования выявили 25 мутаций гена сахаразы-изомальтазы (*SI*), проявления которых можно свести к 7 фенотипическим вариантам [32]. Наиболее распространенной мутацией является делеция (выпадение) динуклеотида AG: у носителей этого генотипа синтеза фермента не происходит [33].

Согласно данным клиничко-лабораторных наблюдений, в популяциях умеренного климата мальабсорбция сахарозы встречается редко. При анализе биоптатов тонкой кишки 30 334 пациентов-детей с энзимопатиями (Техас, США) изолированная недостаточность сахаразы была определена только в 11 (0,04%) случаях [34], в выборках населения Северной Европы (датчане, финны) сниженная активность фермента диагностирована у 0,3% обследованных [35]. Межэтнических различий в европеоидных популяциях не выявлено [36]. Единичные случаи первичной (врожденной) мальабсорбции сахарозы описаны у пациентов из Китая [37] и Турции [38].

В 1980-х гг. было отмечено, что в арктических популяциях дефицит сахаразы-изомальтазы распространен значительно шире. Клиничко-лабораторными методами он был обнаружен у 5% эскимосов в Гренландии [39] и 6,9% индейцев северной Манитобы [40]. Недавние молекулярно-генетические исследования подтвердили очень высокое по сравнению с населением умеренной и субтропической зон носительство делеции AG в локусе rs781470490 у коренных жителей российского и зарубежного Севера (табл. 1).

Таблица 1. Носительство делеции AG гена сахаразы-изомальтазы *SI*, детерминирующей мальабсорбцию сахарозы

Популяция	Частота делеций AG, %	Источник
Эскимосы (Гренландия)	39	[22]
Эскимосы (Канада)	17	[41]
Чукчи	14,3	[42]
Коряки	7,3	[42]
Эвены	3,5	[42]
Европеоиды (Европа, Америка)	0,2	[27]
	0,05	[33]

Данные табл. 1 свидетельствуют, что частота генетически детерминированной недостаточности сахаразы у северян может встречаться на 2–3 порядка (!) чаще, чем у жителей умеренной климатической зоны. Это не значит, что у носителей делеции AG гена сахаразы-изомальтазы непременно должны проявляться диспептические симптомы после употребления в пищу столового сахара: значительная часть поступившего дисахарида может расщепляться микрофлорой кишечника. Однако несомненно, что у аборигенов высоких широт физиологические процессы усвоения наиболее распространенного пищевого сахара отличаются от представителей европейских популяций.

Лактоза и лактаза

Эволюционно древний генотип *Homo sapiens* характеризуется носительством аллеля *C** гена лактазы *LCT*, детерминирующего снижение продукции лактазы по мере взросления. Это состояние, характерное для подавляющего большинства видов млекопитающих, обозначается как первичная, или генетически детерминированная, гиполактазия. При недостатке фермента дисахарид лактоза не может всасываться в кишке, поскольку не происходит его расщепления на моносахариды глюкозу и галактозу. Из-за развивающейся диспепсии подростки отказываются от молока, что повышает шансы матери на выкармливание следующего ребенка и, следовательно, на оставление ею более многочисленного потомства. Вектор отбора сменился около 8 тыс. лет назад, после одомашнивания молочного скота. Селективное преимущество получили носители мутантного аллеля *T* гена *LCT* (rs4988235). При наличии аллеля *T***LCT* продукция лактазы с возрастом не снижается; в фенотипе персистенция лактазы проявляется как сохранение «детской» способности расщеплять молочный сахар. Носители генотипов *TT* и *TC***LCT* не просто могли расширить пищевую базу, но и получили доступ к молоку и молочным продуктам как к дополнительным источникам кальция. Это стало важным фактором, способствовавшим представителям культур с производящим типом хозяйства заселить внутриматериковую Евразию – территорию с низким уровнем ультрафиолетового облучения и тем бедную природными продуктами, поставляющими витамин D [43, 44].

Поскольку для современных европейцев стабильная активность лактазы – превалирующий вариант нормы [45], мальабсорбция лактозы привлекла внимание клиницистов и нутрициологов раньше, чем нарушения усвоения других олигосахаридов. Первоначальные представления о патологическом характере возрастного снижения усвоения молочного сахара стимулировали накопление данных о распространенности и межпопуляционных различиях частот первичной гиполактазии. В результате тот факт, что у коренного населения Севера персистенция лактазы встречается значительно реже, чем в популяциях внеарктической зоны, стал известен уже в 1970-х гг. Также в последней трети XX в. была установлена генетическая природа первичной гиполактазии, а исследования начала 2000-х гг. подтвердили близость результатов клинической и молекулярно-генетической диагностики данного состояния [46, 47].

В табл. 2 приведены данные о носительстве ассоциированного со снижением по мере взросления продукции лактазы генотипа *CC***LCT* в различных группах коренного населения Севера РФ и у русского населения (включая северные регионы – Архангельскую область и Чукотский АО). Популяции кольских саамов и арктических оленеводов коми-ижемцев по доле монозигот *CC* не отличаются от этнических русских, но представители остальных обследованных групп коренных се-

верян европейской Арктики, севера Западной Сибири и Чукотки достоверно превосходят русские выборки по частотам рассматриваемого генотипа (статистическая значимость межпопуляционных различий приведена в указанных источниках).

Таблица 2. Популяционные частоты генотипа *CC* (ген лактазы *LCT*), детерминирующего первичную гиполактазию

Группа	Частота генотипа <i>CC*<i>LCT</i></i> , %	Источник
Коми-ижемцы	48,3	[48]
Саамы кольские	48,4	[48]
Чукчи и эскимосы	96,6	[46]
Ненцы (НАО)	90	[49]
Ненцы (ЯНАО)	88	[45]
Ханты	94	[50]
Манси	95	[50]
Русские		
Различные регионы (суммарно)	49	[47]
Архангельск	36	[51]
Чукотский АО	46,2	[47]

Подчеркнем, что аллель *T*LCT* является доминантным; продукция лактазы у его носителей как в монозиготном, так и в гетерозиготном вариантах с возрастом не снижается. В результате межэтнических браков в популяциях коренных северян носительство этого аллеля нарастает и, соответственно, снижается доля монозигот *C/C*, фенотип которых характеризуется ограниченной активностью лактазы. Так, по нашим данным, генотип *C/C*LCT* обнаружен у 97% потомков от чукотско-чукотских браков при 46% у родившихся и выросших на Чукотке русских. У идентифицирующих себя как чукчи выходцев из смешанных чукотско-русских семей частота генотипа *C/C* составляет 57% [19]. Можно заключить, что в современных условиях в популяциях коренных северян доля индивидов с первичной, генетически детерминированной гиполактазией постепенно снижается.

Трегалоза (микоза) и трегалаза

Трегалоза (микоза) содержится в лишайниках, водорослях, дрожжах и высших грибах; соответственно, среди потребляемых человеком природных продуктов источниками этого дисахарида являются грибы и пищевые дрожжи. Расщепление трегалозы на моносахариды обуславливает фермент трегалаза [52].

Согласно данным клинико-лабораторных анализов, распространенность дефицита трегалазы в различных группах населения Европы колеблется от 0,3 до 2% [53, 54]. Исследования в популяциях Арктической зоны показали, что у эскимосов (инуитов) Гренландии частота этой патологии существенно выше – 10,5% [55].

Генетическая детерминированность активности трегалазы установлена позже, чем у других рассматриваемых нами ферментов. Только в 2013 г. было показано, что снижение активности фермента обусловлено заме-

ной *G→A* в локусе *rs2276064* гена *TREH*: у гомозигот *AA* активность энзима составила 10,8 ед. против 29,3 ед. у гомозигот *GG* (гетерозиготы *AG* характеризуются промежуточной активностью фермента – 20,5 ед.) [56].

Как и в случае с другими сахарадазами, молекулярно-генетические исследования показали, что первичная трегалазная недостаточность распространена значительно шире, чем это можно было предположить на основании клинических наблюдений. Б.А. Малярчук и М.В. Деренко [57], обобщив результаты собственных исследований и данные полноэкзомных анализов представителей различных популяций мира [58, 59], установили, что аллель *rs2276064-A* гена *TREH* встречается в африканских популяциях с частотой 0,6%, в европейских группах – 1,9%, в Южной Азии – 4,4%. При этом у коренного населения Севера носительство этого аллеля по сравнению с популяциями Дальнего Востока выше в 7–13, а по отношению к европейским группам – в 15–30 раз (табл. 3).

Таблица 3. Носительство аллеля *A* гена *TREH*, детерминирующего снижение активности трегалазы

Группа народов	Замена <i>G→A</i> , %
Эскимосы, чукчи, коряки	58,9
Ханты, манси, селькупы	40,0
Тувинцы, шорцы, буряты	32,4
Эвены, эвенки, якуты	31,3
Китайцы, японцы	4,4
Европейцы	1,9

Источник: [57], с изменениями.

Результаты популяционно-генетических исследований подтверждают уже давно высказанное нами на основе этнографических материалов и данных клинических наблюдений предположение о том, что отсутствие блюд из грибов в традиционных кухнях арктических народов обусловлено высокой частотой трегалазной недостаточности в популяциях коренных северян [5].

Крахмал и амилазы

Расщепление такого сложного олигосахарида, как крахмал, обеспечивает амилаза – фермент, продуцируемый поджелудочной и слюнными железами. При нарушенном синтезе амилазы снижается или утрачивается способность организма к усвоению крахмалсодержащих продуктов, в том числе типичных для вестернизированной кухни хлеба и изделий из теста, риса, макаронных изделий, картофеля. Продукция и активность амилазы в слюне зависят как от внешних факторов (уровня гидратации организма, влияния стрессоров, изменений питания), так и от генотипа: генетический вклад в активность фермента оценивается как минимум в 25% [60].

Расположенный в хромосоме 1 локус гена амилазы человека *AMY* включает 2 гена панкреатической (*AMY2B*, *AMY2A*) и один ген слюварной (слюнной) амилазы *AMY1* [61, 62]. Из-за последовательного копирования в преде-

лах локуса число этих генов подвержено индивидуальной изменчивости; чем больше число копий в генотипе, тем выше продукция фермента у данного индивида. Число копий-повторов *AMY1* варьирует от 2 до 18 (в среднем у индивида 6 повторов), а *AMY2* – от 2 до 12 со средним числом копий, равным 4 [60].

Межпопуляционные различия в среднем числе повторов гена амилазы были отмечены около 10 лет назад [63]. В ходе дальнейших исследований [64] было установлено, что число повторов генов *AMY1* и *AMY2A* значимо коррелирует с географической широтой локализации популяций (для *AMY2B* достоверной связи не выявлено). Ранговая корреляция Спирмена с географической широтой составляет для *AMY1* $r=-0,19$ ($p=2 \times 10^{-5}$) и для *AMY2A* $r=-0,33$ ($p < 10^{-6}$). Таким образом, чем севернее расположен ареал группы, тем в среднем меньше копий гена амилазы в генофонде популяции. Еще одно важное наблюдение касается межгрупповых особенностей частот делеции гена *AMY2A*, проявляющейся в фенотипе в виде недостаточности синтеза панкреатической амилазы. В европейских популяциях делеция *AMY2A* встречается в 10–11%, тогда как у хантов, манси и селькупов севера Западной Сибири ее частота достигает 28%, а у коренного населения Чукотки – 52% (табл. 4). Высокая частота делеций гена *AMY2A* у народов Волго-Уральского региона (18%) хорошо сочетается с гипотезой об их древнем антропологическом родстве с западносибирскими популяциями [65].

Подчеркнем, что работа [64] – лишь одна из первых попыток систематизации данных о связи гена *AMY* с факторами среды обитания. Реализованный исследователями широчайший охват популяций позволил оценить распределение вариантов *AMY* на карте мира, но вместе с тем показал необходимость дальнейшего накопления информации о популяционных частотах генов слюварной и панкреатических амилаз. Тем не менее уже сегодня ясно, что в нутрициологии следует учитывать факт наследственной детерминации активности этих ферментов.

Динамика потребления углеводных продуктов на Севере

В предыдущих разделах мы привели данные о распределении аллелей, детерминирующих специфику усвоения наиболее широко распространенных пищевых углеводов. Перейдем к оценке динамики потребления этих олигосахаридов северянами.

Проще всего провести такую оценку для сахарозы, поскольку белый сахар, согласно требованиям пищевой промышленности, представляет собой вещество практически химической чистоты (согласно требованиям ГОСТ 21-94, массовая доля сахарозы в сахаре-песке должна была составлять 99,75%). Соответственно, основываясь на статистике подушевого потребления сахара, можно с достаточной точностью судить об уровне потребления сахарозы.

Согласно данным первой трети XX в., в 1920 г. занятые морским зверобойным промыслом чукчи и сибирские эскимосы-юпик сахара практически не употребляли; в 1937 г. потребление ими сахарозы оставалось небольшим: в среднем 30 г/сут на человека. Но к 1989 г. среднесуточное потребление сахарозы коренными жителями Чукотки достигло 58 г, что уже мало отличалось от среднероссийского показателя – 65 г/сут на человека [5]. Практически вдвое (с 33 до 62,5 г/сут на человека) с 1930-х по конец 1990-х гг. возросло потребление сахара (сахарозы) саамами [66].

Оценить динамику потребления трегалозы можно только по косвенным данным: свидетельствам о включении в пищу северянами грибов как основного источника этого дисахарида.

Согласно этнографическим данным, в традиционном питании арктических народов блюда из грибов отсутствовали [5, 19, 67]. Так, еще в первой трети XX в. врачи подчеркивали, что кольские саамы употребляют грибы крайне редко и неохотно. Затем грибы стали заготавливать на продажу, а в ходе исследований питания коренного населения Кольского Заполярья в 2005 г.

Таблица 4. Средняя частота диплоидных копий и частота делеций гена панкреатической амилазы *AMY2A* у населения различных регионов Евразии ([65], с изменениями)

Группа популяций (по географической локализации)	Характеристики гена <i>AMY2A</i>	
	среднее количество копий	частота делеций, %
Северо-Восточная Сибирь (чукчи, эскимосы, коряки)	1,0	52
Западная Сибирь (ханты, манси, селькупы)	1,4	28
Центральная Сибирь (якуты, эвены, эвенки, нганасаны)	2,1	6
Южная Сибирь (алтайцы, буряты, монголы, шорцы, тувинцы)	1,9	9
Волго-Уральский регион (башкиры, чувашы, коми, удмурты, татары)	1,7	18
Северо-Восточная Европа (финны, саамы, эстонцы, белорусы, латыши, литовцы, поляки, украинцы, карелы, мордва, русские)	1,8	10
Юго-Западная Европа (немцы, итальянцы, хорваты, венгры, молдаване)	1,8	11
Ближний Восток, Кавказ (аварцы, балкарцы, кабардинцы, абхазы, армяне, друзы, иорданцы, иранцы, арабы)	2,2	4
Центральная Азия (казахи, киргизы, узбеки, таджики, туркмены)	2,2	8
Южная Азия (дака, пенджабцы, бенгальцы, гуджараты, балийцы, малайцы)	2,2	2
Восточная Азия (китайцы, японцы, бирманцы, вьетнамцы)	2,0	2

большинство саамских женщин сообщило, что блюда из грибов в рационах их семей обычны [66]. Такая же ситуация сложилась на Чукотке. В 1960-х гг. чукчи и эскимосы, традиционно считавшие грибы ядовитыми «чертовыми палочками», стали собирать их для продажи (преимущественно в воинские части), а в 1970–1980-х гг. начали и сами употреблять их в пищу [68]. Таким образом, основываясь на данных этнографических наблюдений, можно предположить, что трегалоза начала входить в состав пищи северян только в последней трети XX в.

Однако реальная ситуация сложнее. Важно обратить внимание на характерное для современной кухни скрытое поступление и увеличение разнообразия сахаров в диете, которое неизбежно охватывает и северные группы. В частности, трегалоза все шире используется в пищевом производстве в качестве заменителя сахарозы. Поскольку в состав трегалозы входят две молекулы α -глюкозы, гликемический и инсулинемический ответы на ее поступление выражены слабее по сравнению с сахарозой (более бурный физиологический ответ на поступление последней обусловлен входящей в ее состав фруктозой) [69]. Эта замена оправдана в пищевой промышленности, ориентированной на усредненного европейского потребителя. Но, как свидетельствуют данные генетических исследований (см. табл. 3), содержащие трегалозу продукты и блюда могут провоцировать диспептические нарушения у значительного процента представителей арктических популяций.

Аналогична ситуация с поступлением лактозы. В наши дни лактоза широко применяется при производстве кондитерских изделий, конфет, шоколада, сгущенного молока, а также мясных продуктов (колбас, сосисок). В картофельном пюре быстрого приготовления содержание лактозы не ниже, чем в цельном молоке, а в современных кашах-полуфабрикатах ее больше от 1,5 до 4 раз [70]. Таким образом, включение в диету, казалось бы, неуглеводных продуктов может существенно изменять поступление в организм моно- и дисахаридов.

Это подтверждено для таких групп, как саамы и ненцы. Если в 1920-х гг. подавляющая доля дисахаридов в рационе саамов приходилась на сахарозу, то к концу века вклад столового сахара в энергетическую ценность рациона практически сравнялся с долей других сладостей – шоколада, сладких газированных напитков, десертов и т.п. [66]. У подростков и юношей ненцев на сладости (50 г/сут на человека) приходится примерно треть из общего количества потребляемых моно- и дисахаридов (170 г/сут на человека) [71]. С позиций нутрициологии это означает: если при близком к традиционному питанию северян для усвоения добавленных сахаров достаточно было практически только сахаразы (и в детстве – лактазы), то сегодня от трети до половины потребляемых сладостей требуют участия в их метаболизме целого комплекса ферментов.

Существенно меняется ситуация и с потреблением амилозосодержащих продуктов.

Мука уже несколько столетий назад стала существенной составляющей «северных диет». Но в XX в. традици-

онные мучные лепёшки (часто выпекавшиеся с добавлением икры или оленьей крови) в рационе северян стали быстро вытесняться хлебом, лапшой, макаронами. Сегодня потребление крахмала сельскими жителями северных регионов России близко к средним по стране: 228,5 г/сут у мужчин и 157,5 г/сут у женщин [72].

В условиях современного питания генотипы с малым числом повторов гена *AMY2* и значительным носительством его делеций (см. табл. 4) становятся дезадаптивными. Особую опасность представляет выделение в качестве гуманитарной помощи северянам сахара и муки для компенсации недостаточного доступа к традиционным продуктам оленеводства и зверобойного промысла, что практиковалось, в частности, на Чукотке в конце 1990-х гг. [73].

Можно резюмировать, что эволюционно обусловленная и закреплённая в генотипе пониженная способность аборигенов Арктики к усвоению сложных углеводов вступает в конфликт с ростом потребления столового сахара, сладостей и крахмалсодержащих продуктов в современных условиях.

Заключение

Представленные материалы свидетельствуют, что коренное население высоких широт находится в ситуации особого риска. Распространяющийся на современном Севере тип питания с преобладанием покупных продуктов и рафинированных углеводов, даже при сравнительно невысоком (по европейским меркам) вкладе моно-, ди- и полисахаридов, на фоне традиционной «арктической кухни» должен расцениваться как сдвиг к высокоуглеводной диете. Но, судя по имеющимся данным, доля простых углеводов (моно- и дисахаридов) в питании современных ненцев, саамов, эскимосов и чукчей уже не отличается от общероссийских показателей (40 кг/год на человека в 2011 г.), которые и сами превышают средний для стран Европы показатель 36,2 кг на человека в год [74]. Следовательно, высокоуглеводным тип питания современных северян является не только по относительным, но и по абсолютным меркам. Такие диеты сами по себе являются фактором риска развития избыточной массы тела и метаболических нарушений [9–11].

Дополнительный риск распространения метаболических расстройств в популяциях арктических народов обусловлен спецификой их генофондов. Метаанализы подтверждают, что отсутствие в рационе или малое потребление молочных продуктов (в том числе обусловленное характерной для северян генетически детерминированной гиполактазией, см. табл. 2) повышает риск развития ожирения в детском возрасте [75]. Рядом исследований показано, что снижение числа копий гена *AMY* ассоциировано с нарастанием избыточной массы тела и ожирением [76, 77], а носительство аллеля А в локусе rs2276064 гена *TREH* повышает вероятность возникновения сахарного диабета 2 типа [56]. Именно эти генетические варианты особенно часто встречаются у аборигенов Арктики (см. табл. 3, 4).

Можно заключить, что нутрициологические и генетические риски метаболических нарушений у современных коренных северян суммируются. Этот факт требует особого внимания врачей, нутрициологов, возрастных физиологов и организаторов здравоохранения в северных регионах России.

Финансирование. Исследование выполнено при частичном финансировании РФФИ (грант № 18-09-00487).

Конфликт интересов. Автор декларирует отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Литература

1. Мартинчик А.Н., Маев И.В., Петухов А.Б. Питание человека (основы нутрициологии). М.: ГОУ ВУНМЦ МЗ РФ, 2002. 576 с.
2. Тропою Богораза. Научные и литературные материалы. М.: Институт наследия – ГЕОС, 2008. 352 с.
3. Панин Л.Е., Киселева С.И. Ретроспективный анализ структуры питания аборигенов Азиатского Севера // Экология человека. 1996. № 1. С. 5–7.
4. Козлов А.И., Вершубская Г.Г. Медицинская антропология коренного населения Севера России. М.: Изд-во МНЭПУ, 1999. 288 с.
5. Kozlov A., Vershubsky G., Borinskaya S. et al. Activity of disaccharidases in Arctic populations: evolutionary aspects // J. Physiol. Anthropol. 2005. Vol. 24. P. 473–476.
6. Ma Y., Olendzki B., Chiriboga D. et al. Association between dietary carbohydrates and body weight // Am. J. Epidemiol. 2005. Vol. 161. P. 359–367.
7. Sorensen L.B., Vasilaras T.H., Astrup A., Raben A. Sucrose compared with artificial sweeteners: a clinical intervention study of effects on energy intake, appetite, and energy expenditure after 10 wk of supplementation in overweight subjects // Am. J. Clin. Nutr. 2014. Vol. 100, N 1. P. 36–45.
8. Malik V.S., Schulze M.B., Hu F.B. Intake of sugar-sweetened beverages and weight gain: a systematic review // Am. J. Clin. Nutr. 2006. Vol. 84. P. 274–288.
9. Sartorius B., Sartorius K., Aldous C. et al. Carbohydrate intake, obesity, metabolic syndrome and cancer risk? A two-part systematic review and metaanalysis protocol to estimate attributability // BMJ Open. 2016. Vol. 6, N 1. Article ID e009301. doi: 10.1136/bmjopen-2015-009301.
10. Kwon Y.J., Lee H.S., Lee J.W. Association of carbohydrate and fat intake with metabolic syndrome // Clin. Nutr. 2018. Vol. 37, N 2. P. 746–751.
11. Zienczuk N., Young T.K., Cao Z.R., Egeland G.M. Dietary correlates of an at-risk BMI among Inuit adults in the Canadian high arctic: cross-sectional international polar year Inuit health survey, 2007–2008 // Nutr. J. 2012. Vol. 11, N 73. URL: <https://doi.org/10.1186/1475-2891-11-73>.
12. Kozlov A., Vershubsky G., Kozlova M. Indigenous peoples of Northern Russia: anthropology and health // Circumpolar Health Suppl. 2007. Vol. 1. P. 1–184.
13. Завьялова О.В., Буганов А.А. Сахарный диабет 2 типа и факторы риска его развития у коренных жителей на Крайнем Севере // Тезисы 3-й Республиканской научно-практической конференции «Вопросы профилактической медицины в регионах Крайнего Севера». Омск, 2004. С. 77–78.
14. Dogadin S.A., Nozdrachev K.G. Obesity and diabetes mellitus among males and females in indigenous population of Evenkia // The 13th International Congress of Circumpolar Health. Novosibirsk, 2006. P. 69–70.
15. Еганиян Р.А., Карамнова Н.С., Гамбарян М.Г. Особенности питания жителей Крайнего Севера России // Профилактика забол. и укрепление здоровья. 2005. № 5. С. 34–41.
16. Petrenya N., Brustad M., Dobrodeeva L. et al. Obesity and obesity-associated cardiometabolic risk factors in indigenous Nenets women from the rural Nenets Autonomous Area and Russian women from Arkhangelsk city // Int. J. Circumpolar Health. 2014. Vol. 73. Article ID 23859. URL: <http://dx.doi.org/10.3402/ijch.v73.23859>.
17. WHO Global Health Observatory Data Repository [online database]. Geneva: World Health Organization, 2013. URL: <http://apps.who.int/gho/data/view.main>. (date of access May 21, 2013)
18. Козлов А.И., Вершубская Г.Г., Пермякова Е.Ю. Статус питания сельских школьников Кольского Заполярья в 1995–2018 годах // Новые исследования. 2018. № 2. С. 30–39.
19. Козлов А.И., Козлова М.А., Вершубская Г.Г., Шилов А.Б. Здоровье коренного населения Севера РФ: на грани веков и культур. Пермь: РИО ПГГПУ, 2012. 159 с.
20. Riediger N.D., Lukianchuk V., Bruce S.G. Incident diabetes, hypertension and dyslipidemia in a Manitoba First Nation // Int. J. Circumpolar Health. 2015. Vol. 74. Article ID 27712. URL: <http://dx.doi.org/10.3402/ijch.v74.27712>.
21. Hackett F.J.P., Abonyi S., Dyck R.F. Anthropometric indices of First Nations children and youth on first entry to Manitoba/Saskatchewan residential schools – 1919 to 1953 // Int. J. Circumpolar Health. 2016. Vol. 75. Article ID 30734. URL: <http://dx.doi.org/10.3402/ijch.v75.30734>.
22. Pedersen C.T., Lohmueller K.E., Grarup N. et al. The effect of an extreme and prolonged population bottleneck on patterns of deleterious variation: Insights from the Greenlandic Inuit // Genetics. 2017. Vol. 205, N 2. P. 787–801.
23. Экономические и социальные показатели районов проживания коренных малочисленных народов Севера: статистический сборник. М.: Росстат, 2005–2010.
24. Здравоохранение в России: статистический сборник. М.: ФСГС, 2001–2011.
25. Панин Л.Е. Энергетические аспекты адаптации. Л.: Медицина, 1978. 189 с.
26. Кайбышева В.О., Баранская Е.К. Непереносимость углеводов // Рос. журн. гастроэнтерол. гепатол. колопроктол. 2017. Т. 27, № 5. С. 94–104.
27. Treem W.R. Clinical aspects and treatment of congenital sucrase-isomaltase deficiency // J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr. 2012. Vol. 55, suppl. 2. P. S7–S13.
28. Hammer H.F., Hammer J. Diarrhea caused by carbohydrate malabsorption // Gastroenterol. Clin. North Am. 2012. Vol. 41, N 3. P. 611–627.
29. Semenza G., Auricchio S., Mantei N. Small-intestinal disaccharidases // The Metabolic and Molecular Basis of Inherited Disease / eds C.R. Scriver, A.L. Beaudet, W.S. Shy, D. Valle. New York: McGraw-Hill, 2000. Vol. 1. P. 1623–1650.
30. Weijers H.A., de Kamer J.H. V., Mossel D.A., Dicke W.K. Diarrhoea caused by deficiency of sugar-splitting enzymes // Lancet. 1960. Vol. 2, N 7145. P. 296–297.
31. Naim H.Y., Roth J., Sterchi E.E. et al. Sucrase-isomaltase deficiency in humans. Different mutations disrupt intracellular transport, processing, and function of an intestinal brush border enzyme // J. Clin. Invest. 1988. Vol. 82. P. 667–679.
32. Cohen S.A. The clinical consequences of sucrase-isomaltase deficiency // Mol. Cell. Pediatr. 2016. Vol. 3, N 5. doi: 10.1186/s40348-015-0028-0.
33. Nichols B.L., Avery S.E., Karnsakul W. et al. Congenital maltase-glucoamylase deficiency associated with lactase and sucrase deficiencies // J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr. 2002. Vol. 35, N 4. P. 573–579.
34. Nichols B.L. Jr, Adams B., Roach C.M. et al. Frequency of sucrase deficiency in mucosal biopsies // J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr. 2012. Vol. 55, suppl. 2. P. S28–S30.

35. Kolho K.L., Savilahti E. Ethnic differences in intestinal disaccharidase values in children in Finland // *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 2000. Vol. 30, N 3. P. 283–287.
36. Blomme B., Gerlo E., Hauser B., Vandenplas Y. Disaccharidase activities in Belgian children: reference intervals and comparison with non-Belgian Caucasian children // *Acta Paediatr.* 2003. Vol. 92, N 7. P. 806–810.
37. Geng L., Li D.-Y., Ou W. et al. Congenital sucrase-isomaltase deficiency: an under-diagnosed disease in Chinese children // *BMC Pediatr.* 2014. Vol. 14, N 11. doi: 10.1186/1471-2431-14-11.
38. Karakoyun M., Kilicoglu E., Sahar Y.O. et al. Our cases with sucrase isomaltase deficiency // *J. Gastrointest. Dig. Syst.* 2015. Vol. 5. P. 354.
39. Gudmand-Hoyer E., Fenger H.J., Kern-Hansen P., Madsen P.R. Sucrase deficiency in Greenland. Incidence and genetic aspects // *Scand. J. Gastroenterol.* 1987. Vol. 22, N 1. P. 24–28.
40. Ellestad-Sayed J.J., Haworth J.C. Disaccharide consumption and malabsorption in Canadian Indians // *Am. J. Clin. Nutr.* 1977. Vol. 30, N 5. P. 698–703.
41. Marcadier J.L., Boland M., Scott C.R. et al. Congenital sucrase-isomaltase deficiency: identification of a common Inuit founder mutation // *Can. Med. Assoc. J.* 2015. Vol. 187. P. 102–107.
42. Малярчук Б.А., Деренко М.В., Денисова Г.А. Частота неактивного варианта сахаразы-изомальтазы у коренного населения Северо-Восточной Азии // *Генетика.* 2017. № 53. С. 1109–1111.
43. Kozlov A., Lisitsyn D. History of dairy cattle-breeding and distribution of LAC*R and LAC*P alleles among European populations // *Archaeogenetics: DNA and the Population Prehistory of Europe* / eds C. Renfrew, K. Boyle. Cambridge : McDonald Institute for Archaeological Research, 2000. P. 309–313.
44. Козлов А.И., Вершубская Г.Г. D-витаминный статус и персистенция лактазы в европейских популяциях // *Вестн. Моск. ун-та. Сер. XXIII. Антропология.* 2017. № 3. С. 68–75.
45. Козлов А.И., Балановская Е.В., Нурбаев С.Д., Балановский О.П. Геногеография первичной гиполактазии в популяциях Старого Света // *Генетика.* 1998. Т. 34, № 4. С. 551–561.
46. Боринская С.А., Ребриков Д.В., Нефёдова В.В. и др. Молекулярная диагностика и распространенность первичной гиполактазии в популяциях России и сопредельных стран // *Молекул. биол.* 2006. Т. 40, № 6. С. 1031–1036.
47. Соколова М.В., Васильев Е.В., Козлов А.И. и др. Полиморфизм С/Т-13910 регуляторного участка гена лактазы LCT и распространенность гиполактазии в популяциях Евразии // *Экол. генетика.* 2007. Т. 5, № 3. С. 26–35.
48. Kozlov A.I. Primary hypolactasia in the indigenous populations of Northern Russia // *Int. J. Circumpolar Health.* 1998. Vol. 57. P. 2–5.
49. Khabarova Y., Grigoryeva V., Tuomisto S. et al. High prevalence of lactase non-persistence among indigenous nomadic Nenets, north-west Russia // *Int. J. Circumpolar Health.* 2012. Vol. 71. P. 1–6.
50. Enattah N.S., Trudeau A., Pimenoff V. Evidence of still-ongoing convergence evolution of the lactase persistence T-13910 alleles in humans // *Am. J. Hum. Genet.* 2007. Vol. 81, N 3. P. 615–625.
51. Khabarova Y., Torniaainen S., Nurmi H. et al. Prevalence of lactase persistent/non-persistent genotypes and milk consumption in a young population in north-west Russia // *World J. Gastroenterol.* 2009. Vol. 15, N 15. P. 1849–1853.
52. Richards A.B., Krakowka S., Dexter L.B. et al. Trehalose: a review of properties, history of use and human tolerance, and results of multiple safety studies // *Food Chem. Toxicol.* 2002. Vol. 40, N 7. P. 871–898.
53. Murray I.A., Coupland K., Smith J.A. et al. Intestinal trehalase activity in a UK population: establishing a normal range and the effect of disease // *Br. J. Nutr.* 2000. Vol. 83. P. 241–245.
54. Montalto M., Gallo A., Ojetti V., Gasbarrini A. Fructose, trehalose and sorbitol malabsorption // *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* 2013. Vol. 17, suppl. 2. P. 26–29.
55. Gudmand-Hoyer E., Fenger H.J., Skovbjerg H. et al. Trehalase deficiency in Greenland // *Scand. J. Gastroenterol.* 1988. Vol. 23. P. 775–778.
56. Muller Y.L., Hanson R.L., Knowler W.C. et al. Identification of genetic variation that determines human trehalase activity and its association with type 2 diabetes // *Hum. Genet.* 2013. Vol. 132. P. 697–707.
57. Малярчук Б.А., Деренко М.В. Полиморфизм гена трегалазы (TREN) у коренного населения Сибири // *Вавилонский журн. генетики и селекции.* 2017. Т. 21, № 8. С. 964–968.
58. Clemente F.J., Cardona A., Inchley C.E. et al. A selective sweep on a deleterious mutation in the CPT1A gene in Arctic populations // *Am. J. Hum. Genet.* 2014. Vol. 95. P. 584–589.
59. Pagani L., Lawson D.J., Jagoda E. et al. Genomic analyses inform on migration events during the peopling of Eurasia // *Nature.* 2016. Vol. 538. P. 238–242.
60. Carpenter D., Mitchell L., Armour J.A.L., John A.L. Copy number variation of human AMY1 is a minor contributor to variation in salivary amylase expression and activity // *Hum. Genomics.* 2017. Vol. 11, N 2. URL: <https://doi.org/10.1186/s40246-017-0097-3>.
61. Mandel A.L., Peyrot des Gachons C., Plank K.L. et al. Individual differences in AMY1 gene copy number, salivary α -amylase levels, and the perception of oral starch // *PLoS One.* 2010. Vol. 5. Article ID e13352. doi: 10.1371/journal.pone.0013352.
62. Santos J.L., Saus E., Smalley S.V. et al. Copy number polymorphism of the salivary amylase gene: Implications in human nutrition research // *J. Nutrigenet. Nutrigenomics.* 2012. Vol. 5. P. 117–131.
63. Perry G.H., Dominy N.J., Claw K.G. et al. Diet and the evolution of human amylase gene copy number variation // *Nat. Genet.* 2007. Vol. 39. P. 1256–1260.
64. Inchley C.E., Larbey C.D.A., Shwan N.A.A. et al. Selective sweep on human amylase genes postdates the split with Neanderthals // *Sci. Rep.* 2016. Vol. 6. Article ID 37198. doi: 10.1038/srep37198.
65. Козлов А.И., Вершубская Г.Г., Лисицын Д.В. и др. Пермские и волжские финны: медицинская антропология в экологической перспективе. Пермь : ПГПУ, 2009. 160 с.
66. Козлов А.И., Лисицын Д.В., Козлова М.А. и др. Кольские саамы в меняющемся мире. М.: Институт наследия, 2008. 96 с.
67. Боринская С.А., Козлов А.И., Янковский Н.К. Гены, народы и традиции питания // *Этнограф. обзор.* 2009. № 3. С. 117–137.
68. Yamin-Pasternak S. An ethnomycological approach to land use values in Chukotka // *Inuit Studies.* 2007. Vol. 31, N 1–2. P. 121–142.
69. van Can J.G., Ijzerman T.H., van Loon L.J. et al. Reduced glycaemic and insulinaemic responses following trehalose ingestion: implications for postprandial substrate use // *Br. J. Nutr.* 2009. Vol. 102, N 10. P. 1395–1399.
70. Шлейп Т. Осторожно: лактоза! СПб.: Весь, 2004. 96 с.
71. Воробьев И.А. Иммунофизиологические особенности потребления пищевых веществ и энергии тундровыми ненцами подросткового возраста: автореф. дис. ... канд. мед. наук. Тюмень, 2005. 21 с.
72. Рацион питания населения. 2013: статистический сборник / Росстат. М.: Статистика России, 2016. 220 с.
73. Агранат Г. Чукотка в сумерках // *География.* 2003. № 17. URL: <http://geo.iseptember.ru/articles/2003/17/02>.
74. Россия и страны мира-2016: статистический сборник / Росстат. 2016. URL: http://www.gks.ru/wps/wcm/connect/rosstat_main/rosstat/ru/materials/news/f97c690046c07e7aa66f8e87789c42f5. (дата обращения: 06.05.2018)
75. Lu L., Xun P., Wan Y. et al. Long-term association between dairy consumption and risk of childhood obesity: a systematic review and meta-analysis of prospective cohort studies // *Eur. J. Clin. Nutr.* 2016. Vol. 70. P. 414–423.
76. Falchi M., Moustafa J.S.E.-S., Takousis P. et al. Low copy number of the salivary amylase gene predisposes to obesity // *Nat. Genet.* 2014. Vol. 46. P. 492–497.
77. Carpenter D., Dhar S., Mitchell L.M. et al. Obesity, starch digestion and amylase: association between copy number variants at human salivary (AMY1) and pancreatic (AMY2) amylase genes // *Hum. Mol. Genet.* 2015. Vol. 24. P. 3472–3480.

References

- Martinchik A.N., Maev I.V., Petukhov A.B. Human nutrition (the basics of nutritiology). Moscow: GOU VUNMTs MZ RF, 2002: 576 p. (in Russian)
- The Path of Bogoraz. Research and literary materials. Moscow: Institut naslediya – GEOS, 2008: 352 p. (in Russian)
- Panin L.E., Kiseleva S.I. Retrospective analysis of nutritional structure of the Asian North aborigines. *Ekologiya cheloveka [Human Ecology]*. 1996; (1): 5–7. (in Russian)
- Kozlov A.I., Vershubsky G.G. Medical anthropology of the native peoples of the North of Russia. Moscow: Izdatel'stvo MNEPU, 1999: 288 p. (in Russian)
- Kozlov A., Vershubsky G., Borinskaya S., et al. Activity of disaccharidases in Arctic populations: evolutionary aspects. *J Physiol Anthropol*. 2005; (24): 473–6.
- Ma Y., Olendzki B., Chiriboga D., et al. Association between dietary carbohydrates and body weight. *Am J Epidemiol*. 2005; 161: 359–67.
- Sorensen L.B., Vasilaras T.H., Astrup A., Raben A. Sucrose compared with artificial sweeteners: a clinical intervention study of effects on energy intake, appetite, and energy expenditure after 10 wk of supplementation in overweight subjects. *Am J Clin Nutr*. 2014; 100 (1): 36–45.
- Malik V.S., Schulze M.B., Hu F.B. Intake of sugar-sweetened beverages and weight gain: a systematic review. *Am J Clin Nutr*. 2006; 84: 274–88.
- Sartorius B., Sartorius K., Aldous C., et al. Carbohydrate intake, obesity, metabolic syndrome and cancer risk? A two-part systematic review and metaanalysis protocol to estimate attributability. *BMJ Open*. 2016; 6 (1): e009301. doi: 10.1136/bmjopen-2015-009301.
- Kwon Y.J., Lee H.S., Lee J.W. Association of carbohydrate and fat intake with metabolic syndrome. *Clin Nutr*. 2018; 37 (2): 746–51.
- Zienczuk N., Young T.K., Cao Z.R., Egeland G.M. Dietary correlates of an at-risk BMI among Inuit adults in the Canadian high arctic: cross-sectional international polar year Inuit health survey, 2007–2008. *Nutr J*. 2012; 11 (73). URL: <https://doi.org/10.1186/1475-2891-11-73>.
- Kozlov A., Vershubsky G., Kozlova M. Indigenous peoples of Northern Russia: anthropology and health. *Circumpolar Health Supplements*. 2007; 1: 1–184.
- Zav'yalova O.V., Buganov A.A. The risk of type 2 diabetes developing in indigenous people of the Far North. In: Tezisy 3 Respublikanskoj nauchno-prakticheskoy konferentsii «Voprosy profilakticheskoy meditsiny v regionakh Kraynego Severa» [Proceedings of the Republican Scientific-Practical Conference «Problems of Preventive Health Care in the Regions of Far North»]. Omsk, 2004: 77–8. (in Russian)
- Dogadin S.A., Nozdrachev K.G. Obesity and diabetes mellitus among males and females in indigenous population of Evenkia. In: The 13th International Congress of Circumpolar Health. Novosibirsk, 2006: 69–70.
- Eganyan R.A., Karamnova N.S., Gambaryan M.G. Nutritional contents of the inhabitants of Russian Far North. *Profilaktika zabolevaniy i ukreplenie zdorov'ya [Preventing Diseases and Promoting Health]*. 2005; (5): 34–41. (in Russian)
- Petrenya N., Brustad M., Dobrodeeva L., et al. Obesity and obesity-associated cardiometabolic risk factors in indigenous Nenets women from the rural Nenets Autonomous Area and Russian women from Arkhangelsk city. *Int J Circumpolar Health*. 2014; 73: 23859. URL: <http://dx.doi.org/10.3402/ijch.v73.23859>.
- WHO Global Health Observatory Data Repository [online database]. Geneva: World Health Organization, 2013. URL: <http://apps.who.int/gho/data/view.main>. (date of access May 21, 2013)
- Kozlov A.I., Vershubskaya G.G., Permyakova E.Yu. Nutritional status of rural schoolchildren of the Kola North in 1995–2018. *Novye issledovaniya [New Researches]*. 2018; (2): 30–9. (in Russian)
- Kozlov A.I., Kozlova M.A., Vershubskaya G.G., Shilov A.B. Health of the indigenous population of the North of Russia: on the verge of centuries and cultures. *Per'm: RIO PGGPU*: 159 p. (in Russian)
- Riediger N.D., Lukanichuk V., Bruce S.G. Incident diabetes, hypertension and dyslipidemia in a Manitoba First Nation. *Int J Circumpolar Health*. 2015; 74: ID 27712. URL: <http://dx.doi.org/10.3402/ijch.v74.27712>.
- Hackett F.J.P., Abonyi S., Dyck R.F. Anthropometric indices of First Nations children and youth on first entry to Manitoba/Saskatchewan residential schools – 1919 to 1953. *Int J Circumpolar Health*. 2016; 75: 30734. URL: <http://dx.doi.org/10.3402/ijch.v75.30734>.
- Pedersen C.T., Lohmueller K.E., Grarup N., et al. The effect of an extreme and prolonged population bottleneck on patterns of deleterious variation: Insights from the Greenlandic Inuit. *Genetics*. 2017; 205 (2): 787–801.
- Economic and social indicators of the districts of numerically small people of the North residence. *Statistical bulletin*. Moscow: Rosstat, 2005–2010. (in Russian)
- Health care in Russia. *Statistical bulletin*. Moscow: Rosstat, 2005–2010. (in Russian)
- Panin L.E. Energy aspects of adaptation. Leningrad: Meditsina, 1978: 189 p. (in Russian)
- Kaybysheva V.O., Baranskaya Ye.K. Carbohydrate intolerance. *Rossiyskiy zhurnal gastroenterologii, gepatologii, koloproktologii [Russian Journal of Gastroenterology, Hepatology, Coloproctology]*. 2017; 27 (5): 94–104. (in Russian)
- Treem W.R. Clinical aspects and treatment of congenital sucrase-isomaltase deficiency. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2012; 55 (2): S7–13.
- Hammer H.F., Hammer J. Diarrhea caused by carbohydrate malabsorption. *Gastroenterol Clin North Am*. 2012; 41 (3): 611–27.
- Semenza G., Auricchio S., Mantei N. Small-intestinal disaccharidases. In: C.R. Scriver, A.L. Beaudet, W.S. Sly, D. Valle (eds). *The Metabolic and Molecular Basis of Inherited Disease*. New York: McGraw-Hill, 2000; 1: 1623–50.
- Weijers H.A., de Kamer J.H. V, Mossel D.A., Dicke W.K. Diarrhoea caused by deficiency of sugar-splitting enzymes. *Lancet*. 1960; 2 (7145): 296–7.
- Naim H.Y., Roth J., Sterchi E.E., et al. Sucrase-isomaltase deficiency in humans. Different mutations disrupt intracellular transport, processing, and function of an intestinal brush border enzyme. *J Clin Invest*. 1988; 82: 667–79.
- Cohen S.A. The clinical consequences of sucrase-isomaltase deficiency. *Mol Cell Pediatr*. 2016; 3 (5). doi: 10.1186/s40348-015-0028-0.
- Nichols B.L., Avery S.E., Karnsakul W., et al. Congenital maltase-glucoamylase deficiency associated with lactase and sucrase deficiencies. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2002; 35 (4): 573–9.
- Nichols B.L. Jr, Adams B., Roach C.M., et al. Frequency of sucrase deficiency in mucosal biopsies. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2012; 55 (2): S28–30.
- Kolho K.L., Savilahti E. Ethnic differences in intestinal disaccharidase values in children in Finland. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2000; 30 (3): 283–7.
- Blomme B., Gerlo E., Hauser B., Vandenplas Y. Disaccharidase activities in Belgian children: reference intervals and comparison with non-Belgian Caucasian children. *Acta Paediatr*. 2003; 92 (7): 806–10.
- Geng L., Li D-Y., Ou W., et al. Congenital sucrase-isomaltase deficiency: an under-diagnosed disease in Chinese children. *BMC Pediatr*. 2014; 14 (11). doi: 10.1186/1471-2431-14-11.
- Karakoyun M., Kilicoglu E., Sahan Y.O., et al. Our cases with sucrase isomaltase deficiency. *J Gastrointest Dig Syst*. 2015; 5: 354.
- Gudmand-Hoyer E., Fenger H.J., Kern-Hansen P., Madsen P.R. Sucrase deficiency in Greenland. Incidence and genetic aspects. *Scand J Gastroenterol*. 1987; 22 (1): 24–8.
- Ellestad-Sayed J.J., Haworth J.C. Disaccharide consumption and malabsorption in Canadian Indians. *Am J Clin Nutr*. 1977; 30 (5): 698–703.
- Marcadier J.L., Boland M., Scott C.R., et al. Congenital sucrase-isomaltase deficiency: identification of a common Inuit founder mutation. *Can Med Assoc J*. 2015; 187: 102–7.

42. Malyarchuk B.A., Derenko M.V., Denisova G.A. The frequency of inactive sucrase-isomaltase variant in indigenous populations of Northeast Asia. *Genetika [Genetics]*. 2017; 53 (9): 1052–54. (in Russian)
43. Kozlov A., Lisitsyn D. History of dairy cattle-breeding and distribution of LAC*R and LAC*P alleles among European populations. C. Renfrew, K. Boyle (eds). *Archaeogenetics: DNA and the Population Prehistory of Europe*. Cambridge: McDonald Institute for archaeological Research, 2000: 309–13.
44. Kozlov A.I., Vershubskaya G.G. D-vitamin status and lactase persistence in European populations (review with the elements of meta-analysis). *Vestnik Moskovskogo universiteta. Seriya XXIII. Antropologiya [Bulletin of Moscow University. Series XXIII. Anthropology]*. 2017; (3): 68–75. (in Russian)
45. Kozlov A.I., Balanovskaya E.V., Nurbaev S.D., Balanovsky O.P. Gene geography of primary hypolactasia in populations of the Old World. *Genetika [Genetics]*. 1998; 34 (4): 445–54. (in Russian)
46. Borinskaya S.A., Sokolova M.V., Kozlov A.I., et al. Molecular diagnosis and frequencies of primary hypolactasia in populations of Russia and neighboring countries. *Molekulyarnaya biologiya [Molecular Biology]*. 2006; 40 (6): 931–5. (in Russian)
47. Sokolova M.V., Vasil'ev E.V., Kozlov A.I., et al. Polymorphism C/T-13910 of the LCT gene regulatory region and lactase deficiency in Eurasian populations. *Ekologicheskaya genetika [Ecological Genetics]*. 2007; 5 (3): 26–35. (in Russian)
48. Kozlov A.I. Primary hypolactasia in the indigenous populations of Northern Russia. *Int J Circumpolar Health*. 1998; 57: 2–5.
49. Khabarova Y., Grigoryeva V., Tuomisto S., et al. High prevalence of lactase non-persistence among indigenous nomadic Nenets, north-west Russia. *Int J Circumpolar Health*. 2012; 71: 1–6.
50. Enattah N.S., Trudeau A., Pimenoff V. Evidence of still-ongoing convergence evolution of the lactase persistence T-13910 alleles in humans. *Am J Hum Genet*. 2007; 81 (3): 615–25.
51. Khabarova Y., Torniaainen S., Nurmi H., et al. Prevalence of lactase persistent/non-persistent genotypes and milk consumption in a young population in north-west Russia. *World J Gastroenterol*. 2009; 15 (15): 1849–53.
52. Richards A.B., Krakowka S., Dexter L.B., et al. Trehalose: a review of properties, history of use and human tolerance, and results of multiple safety studies. *Food Chem Toxicol*. 2002; 40 (7): 871–98.
53. Murray I.A., Coupland K., Smith J.A., et al. Intestinal trehalase activity in a UK population: establishing a normal range and the effect of disease. *Br J Nutr*. 2000; 83: 241–5.
54. Montalto M., Gallo A., Ojetti V., Gasbarrini A. Fructose, trehalose and sorbitol malabsorption. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2013; 17 (2): 26–9.
55. Gudmand-Hoyer E., Fenger H.J., Skovbjerg H., et al. Trehalase deficiency in Greenland. *Scand J Gastroenterol*. 1988; 23: 775–8.
56. Muller Y.L., Hanson R.L., Knowler W.C., et al. Identification of genetic variation that determines human trehalase activity and its association with type 2 diabetes. *Hum Genet*. 2013; 132: 697–707.
57. Malyarchuk B.A., Derenko M.V. Polymorphism of the trehalase gene (TREH) in native populations of Siberia. *Vavilovskiy zhurnal genetiki i selektsii [N. Vavilov Journal of Genetics and Selection]*. 2017; 21 (8): 964–8. (in Russian)
58. Clemente F.J., Cardona A., Inchley C.E., et al. A selective sweep on a deleterious mutation in the CPT1A gene in Arctic populations. *Am J Hum Genet*. 2014; 95: 584–9.
59. Pagani L., Lawson D.J., Jagoda E., et al. Genomic analyses inform on migration events during the peopling of Eurasia. *Nature*. 2016; 538: 238–42.
60. Carpenter D., Mitchell L., Armour J.A.L., John A.L. Copy number variation of human AMY1 is a minor contributor to variation in salivary amylase expression and activity. *Hum Genomics*. 2017; 11 (2). URL: <https://doi.org/10.1186/s40246-017-0097-3>.
61. Mandel A.L., Peyrot des Gachons C., Plank K.L., et al. Individual differences in AMY1 gene copy number, salivary α -amylase levels, and the perception of oral starch. *PLoS One*. 2010; 5: e13352. doi: 10.1371/journal.pone.0013352.
62. Santos J.L., Saus E., Smalley S.V., et al. Copy number polymorphism of the salivary amylase gene: Implications in human nutrition research. *J Nutrigenet Nutrigenomics*. 2012; 5: 117–31.
63. Perry G.H., Dominy N.J., Claw K.G., et al. Diet and the evolution of human amylase gene copy number variation. *Nat Genet*. 2007; 39: 1256–60.
64. Inchley C.E., Larbey C.D.A., Shwan N.A.A., et al. Selective sweep on human amylase genes postdates the split with Neanderthals. *Sci Rep*. 2016; 6: 37198. doi: 10.1038/srep37198.
65. Kozlov A.I., Vershubskaya G.G., Lisitsyn D.V., et al. Permian and Volga Finns: medical anthropology in ecological perspective. *Per'm: PGPU*, 2009: 160 p. (in Russian)
66. Kozlov A.I., Lisitsyn D.V., Kozlova M.A., et al. Kola Sami in changing world. Moscow: Institut naslediya, 2008: 96 p. (in Russian)
67. Borinskaya S.A., Kozlov A.I., Yankovsky N.K. Genes, peoples and nutrition practices. *Etnograficheskoe obozrenie [Ethnographic Review]*. 2009; (3): 117–37. (in Russian)
68. Yamin-Pasternak S. An ethnomycological approach to land use values in Chukotka. *Inuit Studies*. 2007; 31 (1–2): 121–42.
69. van Can J.G., Ijzerman T.H., van Loon L.J., et al. Reduced glycaemic and insulinaemic responses following trehalose ingestion: implications for postprandial substrate use. *Br J Nutr*. 2009; 102 (10): 1395–99.
70. Shleyp T. Attention: lactose! Saint Petersburg: Ves', 2004: 96 p. (in Russian)
71. Vorobyev I.A. Immunophysiological specifics of nutrients and energy consumption by Tundra Nenets adolescents: Diss. Tyumen', 2005: 21 p. (in Russian)
72. Nutrition of the population. 2013: Statistical Issue. Rosstat. Moscow: Statistika Rossii, 2016: 220 p. (in Russian)
73. Agranat G. Chukotka at twilight. *Geografiya [Geography]*. 2003; (17). URL: <http://geo.lseptember.ru/articles/2003/17/02>. (in Russian)
74. Russia and the World states – 2016: Statistical Issue. Rosstat. URL: http://www.gks.ru/wps/wcm/connect/rosstat_main/rosstat/ru/materials/news/f97c690046c07e7aa66f8e87789c42f5. (date of access May 06, 2018) (in Russian)
75. Lu L., Xun P., Wan Y., et al. Long-term association between dairy consumption and risk of childhood obesity: a systematic review and meta-analysis of prospective cohort studies. *Eur J Clin Nutr*. 2016; 70: 414–23.
76. Falchi M., Moustafa J.S.E.-S., Takousis P., et al. Low copy number of the salivary amylase gene predisposes to obesity. *Nat Genet*. 2014; 46: 492–97.
77. Carpenter D., Dhar S., Mitchell L.M., et al. Obesity, starch digestion and amylase: association between copy number variants at human salivary (AMY1) and pancreatic (AMY2) amylase genes. *Hum Mol Genet*. 2015; 24: 3472–80.

Для корреспонденции

Сокурнко Мария Сергеевна – лаборант-исследователь
 лаборатории химии пищевых продуктов
 ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии»
 Адрес: 109240, Россия, г. Москва, Устьинский проезд, д. 2/14
 Телефон: (495) 698-57-36
 E-mail: sokmary@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-6416-7091>

Сокурнко М.С., Соловьева Н.Л., Бессонов В.В., Мазо В.К.

Полифенольные соединения класса стильбеноидов: классификация, представители, содержание в растительном сырье, особенности структуры, использование в пищевой промышленности и фармации

Polyphenolic compounds of the stilbenoid class: classification, representatives, content in plant raw materials, structural features, use in the food industry and pharmacy

Sokurenko M.S., Solovieva N.L., Bessonov V.V., Mazo V.K.

ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии», Москва, Россия
 Federal Research Centre of Nutrition, Biotechnology and Food Safety,
 Moscow, Russia

Известно более 300 представителей стильбеноидов – группы природных, синтетических и полусинтетических биологически активных веществ, по химическому строению относящихся к группе полифенольных соединений – фенолпропаноидов. Представителей данной группы соединений можно обнаружить в таких классах растений, как голосеменные, покрытосеменные, бриофиты и птеридофиты. Основными пищевыми источниками являются плоды винограда, черники, голубики, арахиса, какао. История их обнаружения связана с открытием защитных функций растений в ответ на действие внешних раздражителей. При дальнейшем изучении были выявлены выраженные антиоксидантные свойства. Механизм развития множества заболеваний связан с процессом окисления свободных радикалов, который можно прервать действием антиоксидантов. Были изучены возможные механизмы антиоксидантного действия стильбеноидов и их влияние на заболевания, вызываемые избыточным количеством свободных радикалов. Стильбеноиды повышают тонус и устойчивость организма стрессорным факторам окружающей среды, улучшают адаптивные возможности нервной и иммунной систем, проявляют противоопухолевую, кардиопротекторную и гиполлипидемическую виды активности, ингибируют процессы перекисного окисления липидов. В связи с этим разработаны специализированные пищевые продукты, биологические активные добавки к пище и лекарственные препараты, содержащие стильбеноиды. Однако представители данной группы соединений обладают низкими потребительскими

Для цитирования: Сокурнко М.С., Соловьева Н.Л., Бессонов В.В., Мазо В.К. Полифенольные соединения класса стильбеноидов: классификация, представители, содержание в растительном сырье, особенности структуры, использование в пищевой промышленности и фармации // *Вопр. питания*. 2019. Т. 88, № 1. С. 17–25. doi: 10.24411/0042-8833-2019-10002.

Статья поступила в редакцию 27.11.2017. **Принята в печать** 27.12.2018.

For citation: Sokurenko M.S., Solovieva N.L., Bessonov V.V., Mazo V.K.. Polyphenolic compounds of the stilbenoid class: classification, representatives, content in plant raw materials, structural features, use in the food industry and pharmacy. *Voprosy pitaniia* [Problems of Nutrition]. 2019; 88 (1): 17–25. doi: 10.24411/0042-8833-2019-10002. (in Russian)

Received 27.11.2017. **Accepted for publication** 27.12.2018

свойствами, чувствительны к факторам внешней среды, обладают низкой растворимостью и всасываемостью. В связи с этим способы устранения этих проблем являются важной задачей при разработке новых пищевых продуктов и лекарств. На сегодняшний день используются вспомогательные вещества (солюбилизаторы), а также такие технологические приемы, как микрокапсулирование, коацервация, полимеризация и другие, позволяющие справиться с проблемами нестабильности, плохой растворимости, невысокой биодоступности и неудовлетворительными потребительскими качествами, что позволяет улучшить эффективность воздействия стильбеноидов на организм.

Ключевые слова: стильбеноид, ресвератрол, антиоксиданты, биодоступность

Nowadays, more than 300 representatives of stilbenoids are known – a group of natural, synthetic and semi-synthetic biologic active substances, according to the chemical structure belonging to the group of polyphenolic compounds – phenylpropanoids. Representatives of this group of compounds can be detected in such classes of plants as gymnosperms, angiosperms, bryophytes and pteridophyte. The main food sources are the fruits of grapes, blueberries, blueberries, peanuts, cocoa. The history of their detection is associated with the discovery of the protective functions of plants in response to the action of external stimuli. Further study revealed pronounced antioxidant properties. The mechanism of development of many diseases is associated with the processes of oxidation of free radicals, which can be interrupted by the effect of antioxidants. Possible mechanisms of antioxidant action of stilbenoids and their effect on diseases caused by excessive amounts of free radicals have been studied. Stilbenoids increase the tone and stability of the body to stress factors of the environment, improve the adaptive capacity of the nervous and immune systems, show antitumor, cardio-protective and lipid-lowering activities, inhibit lipid peroxidation. In this regard specialized products, food supplements and drugs containing stilbenoids have been developed. However, representatives of this group of compounds have low consumer properties, are sensitive to environmental factors and have low solubility and absorption. Therefore, solutions of these problems are important when developing new foods and drugs. Nowadays, auxiliary substances (solubilizers) are used, as well as such technological methods as microencapsulation, coacervation, polymerization, and others that can cope with problems of instability, poor solubility, low bioavailability, and unsatisfactory consumer qualities, which improve the effect of stilbenoids on the organism.

Keywords: stilbenoid, resveratrol, antioxidants, bioavailability

На сегодняшний день широко применяются биологически активные добавки к пище и лекарственные препараты на основе растительного сырья. Особый интерес вызывают полифенольные вещества, представленные такими группами соединений, как стильбеноиды, лигнаны, фенолокислоты, фенолоспирты, флавоноиды [1].

Группа стильбеноидов является малоизученной и насчитывает более 400 соединений, которые можно обнаружить в химическом составе таких классов растений, как бриофиты (мхи, лат. *Bryophytes*) и птеридофиты (сосудистые споровые растения, лат. *Pteridophytes*), а также голосеменные, покрытосеменные (бобовые, виноградные, гнетовые, зонтичные, осоковые и др.) Название группы пришло из греческого языка от слова *Stilbos*, что в переводе означает «сияние».

В табл. 1 приведены наиболее распространенные представители группы.

Физико-химические свойства стильбеноидов

Ядро стильбеноида состоит из 14-углеродного скелета, представленного двумя фенольным кольцами, соединенными этиленовым мостиком.

По химическому строению класс стильбеноидов относится к группе фенилпропаноидов.

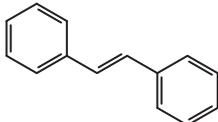
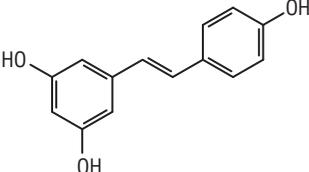
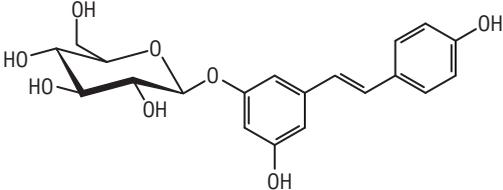
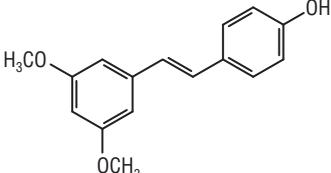
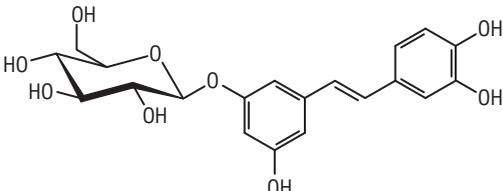
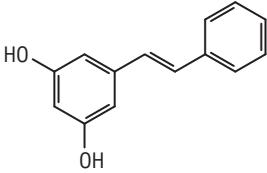
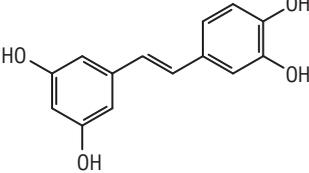
Стильбеноиды, в частности ресвератрол, образуются в ответ на возникновение факторов стресса, причем инициировать синтез стильбеноидов могут несколько факторов: ультрафиолетовое (УФ) излучение, химические раздражители, механические повреждения и воздействие микроорганизмов. Например, при воздействии виноградной плесневой серой гнили (*Botrytis cinerea*) увеличивается синтез стильбен синтазы с последующим ее накоплением в месте воздействия патогена [2].

Представители данной группы полифенолов, как и алкены, вступают в реакции бромирования, эпоксицирования, комплексообразования, полимеризации.

Как и для алкенов, для стильбеноидов характерна пространственная изомерия. *Цис*-изомеры стильбеноидов менее стабильны по сравнению с *транс*-изомерами (температура плавления соответственно 125 и 6 °С). Стильбеноиды являются химически и термически стабильными соединениями, обладают свойствами поглощения УФ-излучения и флуоресценции, что дает возможность идентифицировать их спектральными методами.

Особенностью стильбеноидов является способность к изомеризации под действием внешних источников света, тепла, УФ-излучения. В зависимости от

Таблица 1. Мономерные стильбеноиды

Соединение	Формула	Растение и его часть, содержащая биологически активное вещество
Стильбеноид		В природных соединениях не обнаружен. Является предшественником
Ресвератрол		Плоды винограда, плоды арахиса
Пицеид (производное ресвератрола)		Плоды винограда
Птеростильбеноид		Плоды винограда, плоды черники
Астрингин (гликозид пикеатаннола)		Ель норвежская, плоды винограда
Пиносильвин		Древесина сосны сибирской
Пикеатаннол		Корни ели обыкновенной, семена пальмы

типа стильбеноида фотоизомеризация происходит под влиянием различных факторов (рис. 1). Так, стильбеноид переходит из *цис*- в *транс*-форму только под действием УФ-излучения ($\lambda=290$ нм), а температуры, превышающие 100 °С, не влияют на процесс фотоизомеризации. Согласно проведенным исследованиям *цис*-стильбеноид, возвращаясь из возбужденного электронного состояния в основное, образует *цис*- и *транс*-изомеры (35 и 35% соответственно), а оставшиеся 30% образуют другой изомер стильбеноида – дигидрофенантрен [3].

Дигидрофенантрен легко превращается в фенантрены (рис. 2) в окислительных условиях (акцепторы кислорода, йод или посредством *p*-электронов, таких как тетрацианоэтилен) [4, 5].

Распространение. Пищевые источники

Стильбеноиды, как и большинство других представителей полифенолов, можно обнаружить практически во всех растениях: овощах, фруктах, ягодах, орехах, бобах,

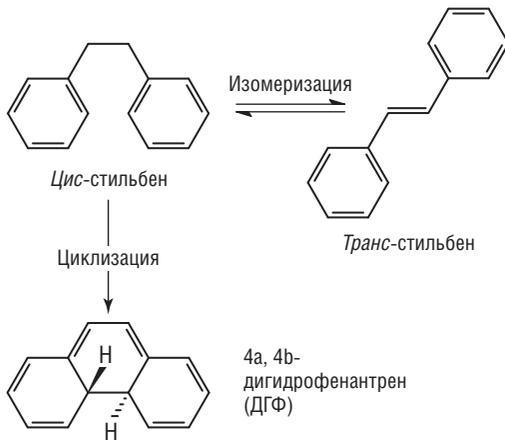


Рис. 1. Процессы изомеризации и циклизации *цис*-стильбена

злаках (табл. 2). Их концентрация зависит от внешних факторов: тепла, влажности, обработки, условий заготовки (времени и степени зрелости), хранения.

Спектр биологических свойств и применение в пищевой промышленности и медицине

Наиболее значимым биологическим свойством стильбеноидов, как и всей многочисленной группы полифенольных соединений, является их антиоксидантное действие.

Ресвератрол – один из наиболее распространенных представителей группы стильбеноидов. Это вторичный метаболит, природный фитоалексин (3,5,4'-тригидроксистильбеноид), обладающий высокой биологической активностью. Ресвератрол вырабатывается растениями различных семейств для защиты от паразитов, таких как бактерии или грибы. Впервые ресвератрол был обнаружен в 1940 г. японским ученым Мичио Такаока (Michio Takaoka) и выделен из чемерицы крупноцветковой (*Veratrum grandiflorum*) [2].

В небольшом количестве ресвератрол содержится во многих растениях. Одним из первых источников был корень горца птичьего японского (*Japanese knotweed*) и горца гребенчатого (*Polygonum cuspidatum*). Ресвератрол образуется в них при воздействии на растения различных патогенов.

На сегодняшний день основными источниками ресвератрола являются плоды и продукты, производимые из винограда (*Vitis vinifera*). В красном вине содержание ресвератрола больше, чем в белом. Это может быть объяснено тем, что при производстве белого вина кожура

винограда удаляется, а при производстве красного вина кожура ягод используется, являясь дополнительным источником полифенола [9].

Ресвератрол играет важную защитную роль в растениях. Было показано, что он обладает умеренным антибиотическим эффектом *in vitro* [10]. Трансгенные растения, например пшеница, ячмень и табак, содержащие ген увеличивается синтез стильбен синтазы, проявляют повышенную устойчивость к грибковой инфекции [11].

Изначально интерес к ресвератролу был небольшой, пока в начале 1990-х гг. не было обнаружено, что у жителей некоторых районов Франции сравнительно низкая частота возникновения ишемической болезни сердца, несмотря на употребление пищи, богатой насыщенными жирами. Было выдвинуто предположение, что умеренное потребление красного вина приводит к снижению риска возникновения сердечно-сосудистых заболеваний [12, 13].

Результаты исследований, проведенные *in vitro*, подтвердили, что ресвератрол защищает сердечно-сосудистую систему путем агрегации тромбоцитов и окисления липопротеинов низкой плотности. Исследования, проведенные с 2003 по 2006 г., показали, что ресвератрол опосредованно воздействует на белки-сиртуины, замедляя процесс старения клеток [14, 15].

Это вызвало еще больший интерес к исследованиям ресвератрола, а также разработкам диетических добавок и лекарственных препаратов на его основе.

Проведены исследования влияния ресвератрола на разные физиологические функции, в том числе на заболевания различного генеза: нарушения обмена веществ, ожирение, болезнь Альцгеймера, онкологические заболевания [16, 17].

Долголетний контакт с газообразным формальдегидом приводит к ухудшению памяти и деменции. Показано, что ресвератрол снижает степень воздействия формальдегида на гиппокамп, улучшая память. Исследования *in vivo* продемонстрировали положительные результаты в тестах на пространственное обучение и память (водный лабиринт Морриса), особенно у животных, которым был введен стрептозоцин, индуцирующий дефицит пространственной памяти [18]. Кроме того, ресвератрол улучшал поведенческий ответ у мышей с болезнью Альцгеймера, предотвращая увеличение активности ацетилхолинэстеразы [19].

Участие ресвератрола в замедлении процессов деменции может быть связано с ингибированием активности β-секретазы (участвует в формировании миелиновых оболочек периферийных нервов, а также в образовании β-амилоида, играющего ключевую роль в патогенезе болезни Альцгеймера) [16].

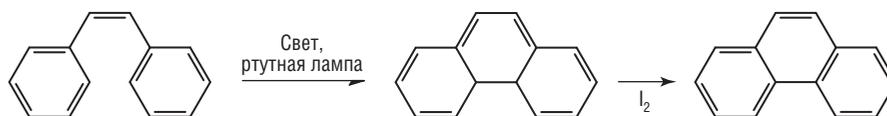


Рис. 2. Образование фенантрена из дигидрофенантрена путем окисления

При дозировке 10 мг на 1 кг массы тела ресвератрол продемонстрировал благоприятное воздействие на животных, диета которых была обогащена жирами. У мышей уменьшались общий объем и масса тела, а также слои эпидидимальной, паховой и забрюшинной белой жировой ткани. У крыс существенно уменьшились индекс висцерального жира и индекс массы печени. Влияние ресвератрола может быть различным в пределах одного вида лабораторных животных. Например, у крыс линии Zucker, страдающих ожирением, было выявлено незначительное снижение содержания жира в организме. При этом у животных наблюдалось значительное уменьшение уровня триглицеридов в плазме крови, свободных жирных кислот, холестерина и триглицеридов в печени по сравнению с показателями крыс, не получавших ресвератрол [20–23].

Лекарственные средства и пищевые продукты, в состав которых входит ресвератрол, довольно давно исследуют с целью оценки возможности их применения для профилактики и лечения сахарного диабета.

Было проведено 4-месячное исследование влияния ресвератрола на метаболический синдром и окислительный стресс у крыс-самцов линии Вистар с диабетом, индуцированным после 12-часового голодания инъекцией стрептозоцина (50 мг на 1 кг массы тела внутривнутрибрюшинно) и затем через 15 мин никотинамида (100 мг/кг внутривнутрибрюшинно). Результаты проведенных исследований показали, что пероральное введение ресвератрола

(5 мг на 1 кг массы тела в день) значительно ослабляло повышение уровня глюкозы в крови, гликозилированного гемоглобина, общего белка, альбумина, мочевины, креатинина и 8-изопростана, уменьшалось содержание глутатиона, изменялась общая антиоксидантная способность и активность таких антиоксидантных ферментов, как каталаза, супероксиддисмутаза, глутатионпероксидаза. Существенных различий в активности аминотрансфераз (аланинаминотрансферазы и аспартатаминотрансферазы), а также в уровне инсулина у крыс с диабетом, получавших ресвератрол, и животных из диабетической контрольной группы не наблюдалось [24].

Результаты доклинических исследований, проведенные *in vivo* и *in vitro*, показывают, что ресвератрол активно влияет на развитие и прогрессирование различных опухолей: карциномы молочной железы, легких, предстательной железы, толстой кишки, лейкемии, меланомы [25]. Действие ресвератрола проявляется на различных участках жизненного цикла клеток организма:

- 1) апоптоз и аутофагия;
- 2) цикл деления клеток и дифференциация;
- 3) клеточный редокс-гомеостаз;
- 4) эпигенетический контроль транскрипции гена посредством активации сиртуина;
- 5) специфические молекулярные пути: PKC (Protein kinase C), PI3K-AKT (Phosphoinositide 3-kinases), MAPK/JNK/p38 (P38 mitogen-activated protein kinases и c-Jun N-terminal kinase) и др. [26].

Таблица 2. Основные пищевые источники стильбеноидов и их содержание

Биологически активное вещество	Пищевой источник	Содержание, мг/г	Источник
Транс-ресвератрол	Арахис	$(5,1 \pm 2,8) \times 10^{-3}$	[6]
	Арахисовое масло	$(0,3 \pm 0,1) \times 10^{-3}$	[6]
	Горец японский (корень)	$0,52 \pm 1$	[6]
	Порошок какао	$(1,25 - 2,27) \times 10^{-3}$	[7]
	Шоколадный сироп	$(0,06 - 0,11) \times 10^{-3}$	[7]
	Молочный шоколад	$(0,05 - 0,17) \times 10^{-3}$	[7]
	Темный шоколад	$(0,25 - 0,43) \times 10^{-3}$	[7]
	Горький шоколад	$(0,89 - 1,47) \times 10^{-3}$	[7]
	Шоколадные чипсы	$(0,33 - 0,66) \times 10^{-3}$	[7]
	Ягоды (малина, брусника, черника и др.), в пересчете на сухое вещество	$7 \times 10^{-6} - 5,9 \times 10^{-3}$	[8]
Транс-ресвератрол в гликозидной форме	Горец японский (корень)	$1,65 \pm 0,002$	[6]
	Листья (молодые)	$0,87 \pm 0,017$	[6]
	Листья (старые)	$0,5 \pm 0,004$	[6]
	Стебель (молодой)	$0,370 \pm 0,009$	[6]
	Стебель (старый)	$0,083 \pm 0,003$	[6]
Транс-пицеид	Порошок какао	$(6,2 - 8,2) \times 10^{-3}$	[7]
	Шоколадный сироп	$(0,57 - 0,41) \times 10^{-3}$	[7]
	Молочный шоколад	$(0,37 - 0,52) \times 10^{-3}$	[7]
	Темный шоколад	$(1,47 - 2,31) \times 10^{-3}$	[7]
	Несладкий шоколад	$(3,81 - 4,06) \times 10^{-3}$	[7]
	Шоколадные чипсы	$(1,76 - 2,19) \times 10^{-3}$	[7]
Птеростильбеноид	Голубика, в пересчете на сухое вещество	$(99 - 520) \times 10^{-6}$	[8]
Пиквеатаннол		$(138 - 422) \times 10^{-6}$	[8]

Таблица 3. Биологические эффекты представителей стильбеноидов

Наименование соединения	Биологическое значение	Источник
Ресвератрол	Антиоксидантное, противоопухолевое, антигиперхолестеринемическое и другие виды воздействий	[27, 28, 35, 39]
Пицеид	Ингибитор перекисного окисления липидов	[38, 39]
Птеростильбеноид	Антиоксидантное, противоопухолевое, гиполлипдемическое, гипохолестеринемическое действие	[18, 40]
Астрингин	Антиоксидантное действие, ингибитор перекисного окисления липидов (результаты <i>in vitro</i>)	[41, 42]
Пиносильвин	Антибактериальное и фунгицидное действие	[43, 44]
Пикеатаннол	Блокатор вирусной тирозинкиназы LMP2A, играющей роль в заболеваниях, связанных с вирусом Эпштейна–Барр. Замедляет или полностью ингибирует адипогенез в клеточной культуре	[12, 13, 45]

Принцип действия ресвератрола на раковые клетки связывают со способностью ингибировать их рост и индуцировать апоптоз. Ресвератрол можно использовать в качестве вспомогательного химиотерапевтического препарата для ингибирования ранней инвазии и метастазирования рака после операции. Ресвератрол усиливает действие таких веществ, как капсаицин, гемцитабин, доцетаксел, темозоломид и др. Некоторые данные также подтверждают, что ресвератрол можно использовать в качестве радиозащитного средства для снижения побочных эффектов, включая ксеростомию и мукозит, вызванные лучевой терапией [26, 27].

Одним из сильнейших побочных эффектов химиотерапии у детей – потеря костной массы. Исследования показывают, что хронический дефект костей возникает из-за увеличенного образования жира в костном мозге и костной резорбции. Эти изменения, вероятно, являются результатом изменения экспрессии/активации регуляторных молекул и/или путей, отвечающих за образование и активность скелетных клеток. Данные экспериментальных исследований показывают, что при воздействии метотрексатом на организм уменьшается образование губчатой костной ткани, снижается остеогенез, но увеличивается адипогенез в стромальных клетках–предшественниках костного мозга. Как показывают исследования, введение в курс лечения ресвератрола приводит к сохранению остеогенеза, предотвращению резорбции костной ткани и ожирения костного мозга. Это происходит из-за его способности подавлять адипогенную дифференцировку и увеличивать передачу сигналов Wnt (сигнальный путь Wnt – один из внутриклеточных сигнальных путей, регулирующий эмбриогенез, дифференцировку клеток и развитие злокачественных опухолей), приводя к усилению образования остеобластов. Кроме того, ресвератрол защищает кость, подавляя экспрессию провоспалительных цитокинов (IL-1, IL-6, и TNF- α), ингибируя транскрипционный фактор NF- κ B и уменьшая индуцированное RANKL (мембранный белок, цитокин семейства факторов некроза опухоли) образование остеокластов, снижая резорбцию кости [28].

Согласно Единым санитарно-эпидемиологическим и гигиеническим требованиям к товарам, подлежащим санитарно-эпидемиологическому надзору (контролю) (Приложение 5) адекватный уровень потребления ресвератрола составляет 30 мг/сут, а верхний допустимый – 150 мг/сут.

Пицеид – ресвератрол-3-O- β -гликозид – один из наиболее широко распространенных производных ресвератрола. Согласно данным литературы, содержание *транс*-пицеида в соке красного винограда может достигать 3,38 мг/л, в то время как в белом виноградном соке было обнаружено около 0,18 мг/л, а *цис*-пицеида – соответственно 0,79 и 0,26 мг/л. Причем это количество превышает содержание самого ресвератрола в виноградных соках и вине [29, 30].

Исследования биологических свойств гликозида ресвератрола подтверждают схожесть с эффектами его предшественника, поэтому описаний физиологической активности пицеида практически нет. Известно, что пицеид увеличивает сократимость кардиомиоцитов, что может быть связано с увеличением концентрации внутриклеточного кальция. Другие исследования показали, что пицеид может ингибировать агрегацию тромбоцитов и вазоконстрикцию, уменьшать синтез тромбоксана и эйкозаноидов [31, 32].

Пикеатаннол и астрингин. Пикеатаннол является гидроксильрованным производным стильбеноида. Астрингин – гликозид пикеатаннола. Оба вещества выделяют из микоризных и немикоризных корней ели обыкновенной. Пикеатаннол известен как сильный природный антиоксидант, обладающий антиканцерогенным хемопрофилактическим эффектом. Причем в зависимости от типа клеток пикеатаннол может либо стимулировать, либо ингибировать апоптоз. Некоторые исследования подтверждают, что пикеатаннол ингибирует рост клеток меланомы, индуцируя апоптоз [33].

Тирозин-специфичная протеинкиназа играет важную роль как в образовании и росте здоровых клеток, так и в разрастании опухолевых. Поэтому актуален поиск биологически активных веществ, оказывающих таргетное действие. Результаты исследований *in vivo* и *in vitro* показали, что воздействие пикеатаннола на раковые клетки значительно замедляет их рост, никак не влияя на здоровые [34].

Механизм действия пикеатаннола на ожирение связывают с ингибированием адипогенеза 3T3-L1 преадипоцитов в нецитотоксических концентрациях [35].

При изучении эффекта пикеатаннола на клеточный цикл развития аденокарциномы (клеточная линия Caco-2) обнаружено дозозависимое уменьшение числа раковых клеток [36].

Птеростильбеноид является сильным антиоксидантом. Одними из основных источников являются плоды черники. К биологическим эффектам, проявляемым птеростильбеноидом, относят влияние на ингибирование образования раковых клеток, уменьшение скорости развития атеросклероза, защиту от гемолиза. Механизмы влияния на развитие рака в молочной и предстательной железах, пищеводе, отделах желудочно-кишечного тракта основаны на снижении скорости пролиферации, индукции апоптоза, изменении клеточного цикла и ингибировании метастазирования [37, 38].

Заключение

Согласно существующим на сегодняшний день научным публикациям, стильбеноиды являются малоизученным классом соединений. Дальнейшие исследования помогут определить диапазон их содержания как в растениях различных семейств, так и в отдельных растениях. Это важно для разработки специализированных пищевых продуктов, в состав которых они входят, так как хранение, технология производства и кулинарная обработка влияют на содержание в исходном продукте, в конечном продукте, а также на биодоступность. Кроме того, важно установить величину адекватного и верхнего допустимого суточного уровней потребления.

Среди растительных экстрактов, богатых полифенолами и используемых в пищу, можно привести экстракты виноградных семян, коры сосны, зеленого чая,

оливок, алоэ вера и т.д. Среди перечисленных способность ингибировать процесс перекисного окисления липидов продемонстрировали экстракты семян винограда и коры сосны пинии (*Pinus pinea*).

Сложность использования стильбеноидов в составе пищевой продукции состоит в их уязвимости к свету, температуре и кислороду, что служит причиной потери антиоксидантных свойств в процессе приготовления пищи. Кроме того, на их стабильность может оказывать действие среда желудочно-кишечного тракта (рН, ферменты), а также состав пищевого продукта, влияющий на растворимость полифенолов.

Кроме того, определенную роль играет форма использования пищевого продукта, содержащего стильбеноиды. Ведь органолептические свойства влияют на потребительские качества продукта, поэтому важно маскировать запах, вкус, цвет используемых растений и/или их экстрактов.

Существуют способы преодоления вышеперечисленных проблем, например микрокапсуляция, которая также может помочь замаскировать неприятный вкус экстрактов и улучшить другие органолептические свойства продукта, а также повысить растворимость стильбеноидов и улучшить их биодоступность.

Финансирование. Научно-исследовательская работа по подготовке рукописи проведена за счет гранта Российского научного фонда (проект № 14-36-00041).

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Сведения об авторах

Сокуренько Мария Сергеевна (Sokurenko Maria S.) – лаборант-исследователь лаборатории химии пищевых продуктов ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии» (Москва, Россия)

E-mail: sokmary@mail.ru

<https://orcid.org/0000-0002-6416-7091>

Соловьева Наталья Леонидовна (Solovieva Natalia L.) – кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармацевтической технологии ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский университет) (Москва, Россия)

<https://orcid.org/0000-0002-0781-7553>

E-mail: sldom@list.ru

Бессонов Владимир Владимирович (Bessonov Vladimir V.) – доктор биологических наук, заведующий лабораторией химии пищевых продуктов ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии» (Москва, Россия)

E-mail: bessonov@ion.ru

<https://orcid.org/0000-0002-3587-5347>

Мазо Владимир Кимович (Mazo Vladimir K.) – доктор биологических наук, профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории алиментарной коррекции нарушений метаболизма ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии» (Москва, Россия)

E-mail: mazo@ion.ru

<https://orcid.org/0000-0003-2163-091X>

Литература

1. Тутельян В.А., Киселева Т.Л., Кочеткова А.А. Растительные источники фитонутриентов для специализированных пищевых продуктов антидиабетического действия. М.: Библио-Глобус, 2016. 421 с.
2. Raederstorff D., Kunz I., Schwager J. Resveratrol, from experimental data to nutritional evidence: the emergence of a new food ingredient // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2013. Vol. 1290. P. 136–141.
3. Еремин В.В. Управление фотохимическими реакциями: квантовые методы // *Природа*. 2005. № 11. С. 9–13.
4. Jørgensen K.B. Photochemical oxidative cyclisation of stilbenes and stilbenoids – the Mallory-reaction // *Molecules*. 2010. Vol. 15. P. 4334–4358.
5. Albini A., Fagnoni M. *Handbook of Synthetic Photochemistry*. Weinheim: Wiley-VCH Verlag, 2010. 486 p.

6. Burns J., Yokota T., Ashihara H., Lean M.E., Crozier A. Plant foods and herbal sources of resveratrol // *J. Agric. Food Chem.* 2002. Vol. 50, N 11. P. 3337–3340.
7. Hurst W.J., Glinski J.A., Miller K.B., Apgar J., Davey M.H., Stuart D.A. Survey of the trans-resveratrol and trans-piceid content of cocoa-containing and chocolate products // *J. Agric. Food Chem.* 2008. Vol. 56, N 18. P. 8374–8378.
8. Rimando A.M., Kalt W., Magee J.B., Dewey J., Ballington J.R. Resveratrol, pterostilbene, and piceatannol in vaccinium berries // *J. Agric. Food Chem.* 2004. Vol. 52, N 15. P. 4713–4719.
9. Kopp P. Resveratrol, a phytoestrogen found in red wine. A possible explanation for the conundrum of the «French paradox»? // *Eur. J. Endocrinol.* 1998. Vol. 138, N 6. P. 619–620.
10. Soleas G.J., Diamandis E.P., Goldberg D.M. Occurrence of resveratrol and pterostilbene in age-old darakchasava, an ayurvedic medicine from India // *Clin. Biochem.* 1997. Vol. 50. P. 91–113.
11. Hain R., Reif H.-J., Krause E., Langebartels R., Kindl H., Vomam B. et al. Disease resistance results from foreign phytoalexin expression in a novel plant // *Nature.* 1993. Vol. 361. P. 153–156.
12. Constant J. Alcohol, ischemic heart disease, and the French paradox // *Clin. Cardiol.* 1997. Vol. 20, N 5. P. 420–424.
13. Cichewicz R.H., Kouzi S.A. Resveratrol oligomers: structure, chemistry, and biological activity // *Stud. Nat. Prod. Chem.* 2002. Vol. 26, pt G. P. 507–579.
14. Borra M.T., Smith B.C., Denu J.M. Mechanism of human SIRT1 activation by resveratrol // *J. Biol. Chem.* 2005. Vol. 280, N 17. P. 17 187–17 195.
15. Beher D., Wu J., Cumine S., Kim K.W., Lu S.C., Atangan L. et al. Resveratrol is not a direct activator of SIRT1 enzyme activity // *Chem. Biol. Drug Des.* 2009. Vol. 74, N 6. P. 619–624.
16. Cole S.L., Vassar R. The Alzheimer's disease β -secretase enzyme, BACE1 // *Mol. Neurodegener.* 2007. Vol. 2. P. 22.
17. Vingdeux V., Dreses-Werringloer U., Zhao H., Davies P., Marambaud P. Therapeutic potential of resveratrol in Alzheimer's disease // *BMC Neurosci.* 2008. Vol. 9, suppl. 2. P. S6.
18. Ahmed T., Javed S., Javed S., Tariq A., Šamec D., Tejada S. et al. Resveratrol and Alzheimer's disease: mechanistic insights // *Mol. Neurobiol.* 2017. Vol. 54, N 4. P. 2622–2635.
19. Gacar N., Mutlu O., Utkan T., Celikyurt I.K., Gocmez S.S., Ulak G. Beneficial effects of resveratrol on scopolamine but not mecamylamine induced memory impairment in the passive avoidance and Morris water maze tests in rats // *Pharmacol. Biochem. Behav.* 2011. Vol. 99, N 3. P. 316–323.
20. Szkudelska K., Szkudelski T. Resveratrol, obesity and diabetes // *Eur. J. Pharmacol.* 2010. Vol. 635, N 1–3. P. 1–8.
21. Aguirre L., Fernández-Quintela A., Arias N., Portillo M.P. Resveratrol: anti-obesity mechanisms of action // *Molecules.* 2014. Vol. 19, N 11. P. 18 632–18 655.
22. Baur J.A., Sinclair D.A. Therapeutic potential of resveratrol: the in vivo evidence // *Nat. Rev. Drug Discov.* 2006. Vol. 5, N 6. P. 493–506.
23. Della-Morte D., Dave K.R., DeFazio R.A., Bao Y.C., Raval A.P., Perez-Pinzon M.A. Resveratrol pretreatment protects rat brain from cerebral ischemic damage via a sirtuin 1-uncoupling protein 2 pathway // *Neuroscience.* 2009. Vol. 159, N 3. P. 993–1002.
24. Soufi F.G., Sheervalilou R., Vardiani M., Khalili M., Alipour M.R. Chronic resveratrol administration has beneficial effects in experimental model of type 2 diabetic rats // *Endocr. Regul.* 2012. Vol. 46, N 2. P. 83–90.
25. Savouret J.F., Quesne M. Resveratrol and cancer: a review // *Biomed. Pharmacother.* 2002. Vol. 56, N 2. P. 84–87.
26. Cal C., Garban H., Jazirehi A., Yeh C., Mizutani Y., Bonavida B. Resveratrol and cancer: chemoprevention, apoptosis, and chemosensitizing activities // *Curr. Med. Chem. Anticancer Agents.* 2003. Vol. 3, N 2. P. 77–93.
27. Jiang Z., Chen K., Cheng L., Yan B., Qian W., Cao J. et al. Resveratrol and cancer treatment: updates // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2017. Vol. 1403, N 1. P. 59–69.
28. Su Y.W., Chen K.M., Hassanshahi M., Tang Q., Howe P.R., Xian C.J. Childhood cancer chemotherapy-induced bone damage: pathobiology and protective effects of resveratrol and other nutraceuticals // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2017. Vol. 1403, N 1. P. 109–117.
29. Romero-Perez A.I., Ibern-Gomez M., Lamuela-Raventos R.M., Carmendela Torre-Boronat M. Piceid, the major resveratrol derivative in grape juices // *J. Agric. Food Chem.* 1999. Vol. 47. P. 1533–1536.
30. Henry-Vittra C., Desmoulière A., Girard D., Mérillon J.-M., Krisa S. Transport, deglycosylation, and metabolism of trans-piceid by small intestinal epithelial cells // *Eur. J. Nutr.* 2006. Vol. 45. P. 376–382.
31. Lv C., Zhang L., Wang Q., Liu W., Wang C., Jing X. et al. Determination of piceid in rat plasma and tissues by high-performance liquid chromatographic method with UV-detection // *Biomed. Chromatogr.* 2006. Vol. 20. P. 1260–1266.
32. Kimura Y. New anticancer agents: in vitro and in vivo evaluation of the antitumor and antimetastatic actions of various compounds isolated from medicinal plants // *In Vivo.* 2005. Vol. 19, N 1. P. 37–60.
33. Du M., Zhang Z., Gao T. Piceatannol induced apoptosis through up-regulation of microRNA-181a in melanoma cells // *Biol. Res.* 2017. Vol. 50, N 1. P. 36.
34. Geahlen R.L., McLaughlin J.L. Piceatannol (3,4,3',5'-tetrahydroxy-trans-stilbene) is a naturally occurring protein-tyrosine kinase inhibitor // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1989. Vol. 165, N 1. P. 241–245.
35. Kwon J.Y., Seo S.G., Heo Y.S., Yue S., Cheng J.X., Lee K.W. et al. Piceatannol, natural polyphenolic stilbene, inhibits adipogenesis via modulation of mitotic clonal expansion and insulin receptor-dependent insulin signaling in early phase of differentiation // *J. Biol. Chem.* 2012. Vol. 287, N 14. P. 11 566–11 578.
36. Wolter F., Clausnitzer A., Akoglu B., Stein J. Piceatannol, a natural analog of resveratrol, inhibits progression through the S phase of the cell cycle in colorectal cancer cell lines // *J. Nutr.* 2002. Vol. 132, N 2. P. 298–302.
37. McCormack D., McFadden D. A review of pterostilbene antioxidant activity and disease modification // *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2013. Vol. 2013. Article ID 575482.
38. Yan D., Delori A., Lloyd G.O., Friščić T., Day G.M., Jones W. et al. A cocrystal strategy to tune the luminescent properties of stilbene-type organic solid-state materials // *Angew. Chem. Int. Ed.* 2011. Vol. 50, N 52. P. 12 483–12 486.
39. Ahmed T., Javed S., Javed S., Tariq A., Šamec D., Tejada S. et al. Resveratrol and Alzheimer's disease: mechanistic insights // *Mol. Neurobiol.* 2017. Vol. 54, N 4. P. 2622–2635.
40. Kwon J.Y., Seo S.G., Heo Y.S., Yue S., Cheng J.X., Lee K.W. et al. Piceatannol, natural polyphenolic stilbene, inhibits adipogenesis via modulation of mitotic clonal expansion and insulin receptor-dependent insulin signaling in early phase of differentiation // *J. Biol. Chem.* 2012. Vol. 287, N 14. P. 11 566–11 578.
41. Romero-Pérez A.I., Ibern-Gómez M., Lamuela-Raventós R.M., de La Torre-Boronat M.C. Piceid, the major resveratrol derivative in grape juices // *J. Agric. Food Chem.* 1999. Vol. 47, N 4. P. 1533–1536.
42. Perrone D., Fuggetta M.P., Ardito F., Cottarelli A., De Filippis A., Ravagnan G. et al. Resveratrol (3,5,4'-trihydroxystilbene) and its properties in oral diseases // *Exp. Ther. Med.* 2017. Vol. 14, N 1. P. 3–9.
43. Ribeiro de Lima M.T., Waffo-Tégou P., Teissedre P.L., Pujolas A., Vercauteren J., Cabanis J.C. et al. Determination of stilbenes (trans-astringin, cis- and trans-piceid, and cis- and trans-resveratrol) in Portuguese wines // *J. Agric. Food Chem.* 1999. Vol. 47, N 7. P. 2666–2670.
44. Mérillon J.M., Fauconneau B., Tégou P.W., Barrier L., Vercauteren J., Huguet F. Antioxidant activity of the stilbene astringin, newly extracted from *Vitis vinifera* cell cultures // *Clin. Chem.* 1997. Vol. 43, N 6. Pt 1. P. 1092–1093.
45. Potential Method to Control Obesity: Red Wine, Fruit Compound Could Help Block Fat Cell Formation // *Sci. Daily.* 2012. Vol. 4. URL: <https://www.sciencedaily.com/releases/2012/04/120404125355.htm>. (дата обращения: 11.02.2017)

References

- Tutelyan V.A., Kiseleva T.L., Kochetkova A.A. Plant sources of phytonutrients for foods for special uses with anti-diabetic actions. Moscow: Biblio-Globus, 2016: 421 p. (in Russian)
- Raederstorff D., Kunz I., Schwager J. Resveratrol, from experimental data to nutritional evidence: the emergence of a new food ingredient. *Ann N Y Acad Sci.* 2013; 1290: 136–41.
- Eremin V.V. Control of photochemical reactions: quantum methods. *Priroda [Nature]*. 2005; (11): 9–13. (in Russian)
- Jørgensen K.B. Photochemical oxidative cyclisation of stilbenes and stilbenoids – the Mallory-reaction. *Molecules.* 2010; 15: 4334–58.
- Albini A., Fagnoni M. Handbook of synthetic photochemistry. Weinheim: Wiley-VCH Verlag, 2010: 486 p.
- Burns J., Yokota T., Ashihara H., Lean M.E., Crozier A. Plant foods and herbal sources of resveratrol. *J Agric Food Chem.* 2002; 50 (11): 3337–40.
- Hurst W.J., Glineski J.A., Miller K.B., Apgar J., Davey M.H., Stuart D.A. Survey of the trans-resveratrol and trans-piceid content of cocoa-containing and chocolate products. *J Agric Food Chem.* 2008; 56 (18): 8374–8.
- Rimando A.M., Kalt W., Magee J.B., Dewey J., Ballington J.R. Resveratrol, pterostilbene, and piceatannol in vaccinium berries. *J Agric Food Chem.* 2004; 52 (15): 4713–9.
- Kopp P. Resveratrol, a phytoestrogen found in red wine. A possible explanation for the conundrum of the «French paradox»? *Eur J Endocrinol.* 1998; 138 (6): 619–20.
- Soleas G.J., Diamandis E.P., Goldberg D.M. Occurrence of resveratrol and pterostilbene in age-old darakchasa, an ayurvedic medicine from India. *Clin Biochem.* 1997; 50: 91–113.
- Hain R., Reif H.-J., Krause E., Langebartels R., Kindl H., Vomam B., et al. Disease resistance results from foreign phytoalexin expression in a novel plant. *Nature.* 1993; 361: 153–6.
- Constant J. Alcohol, ischemic heart disease, and the French paradox. *Clin Cardiol.* 1997; 20 (5): 420–4.
- Cichewicz R.H., Kouzi S.A. Resveratrol oligomers: structure, chemistry, and biological activity. *Stud Nat Prod Chem.* 2002; 26 (G): 507–79.
- Borra M.T., Smith B.C., Denu J.M. Mechanism of human SIRT1 activation by resveratrol. *J Biol Chem.* 2005; 280 (17): 17 187–95.
- Behr D., Wu J., Cumine S., Kim K.W., Lu S.C., Atangan L., et al. Resveratrol is not a direct activator of SIRT1 enzyme activity. *Chem Biol Drug Des.* 2009; 74 (6): 619–24.
- Cole S.L., Vassar R. The Alzheimer's disease β -secretase enzyme, BACE1. *Mol Neurodegener.* 2007; 2: 22.
- Vingetoux V., Dreses-Werringloer U., Zhao H., Davies P., Marambaud P. Therapeutic potential of resveratrol in Alzheimer's disease. *BMC Neurosci.* 2008; 9 (2): S6.
- Ahmed T., Javed S., Javed S., Tariq A., Šamec D., Tejada S., et al. Resveratrol and Alzheimer's disease: mechanistic insights. *Mol Neurobiol.* 2017; 54 (4): 2622–35.
- Gacar N., Mutlu O., Utkan T., Celikyurt I.K., Gocmez S.S., Ulak G. Beneficial effects of resveratrol on scopolamine but not mecamylamine induced memory impairment in the passive avoidance and Morris water maze tests in rats. *Pharmacol Biochem Behav.* 2011; 99 (3): 316–23.
- Szkudelska K., Szkudelski T. Resveratrol, obesity and diabetes. *Eur J Pharmacol.* 2010; 635 (1–3): 1–8.
- Aguirre L., Fernández-Quintela A., Arias N., Portillo M.P. Resveratrol: anti-obesity mechanisms of action. *Molecules.* 2014; 19 (11): 18 632–55.
- Baur J.A., Sinclair D.A. Therapeutic potential of resveratrol: the in vivo evidence. *Nat Rev Drug Discov.* 2006; 5 (6): 493–506.
- Della-Morte D., Dave K.R., DeFazio R.A., Bao Y.C., Raval A.P., Perez-Pinzon M.A. Resveratrol pretreatment protects rat brain from cerebral ischemic damage via a sirtuin 1-uncoupling protein 2 pathway. *Neuroscience.* 2009; 159 (3): 993–1002.
- Soufi F.G., Sheervalilou R., Vardiani M., Khalili M., Alipour M.R. Chronic resveratrol administration has beneficial effects in experimental model of type 2 diabetic rats. *Endocr Regul.* 2012; 46 (2): 83–90.
- Savouret J.F., Quesne M. Resveratrol and cancer: a review. *Biomed Pharmacother.* 2002; 56 (2): 84–7.
- Cal C., Garban H., Jazirehi A., Yeh C., Mizutani Y., Bonavida B. Resveratrol and cancer: chemoprevention, apoptosis, and chemoprevention activities. *Curr Med Chem Anticancer Agents.* 2003; 3 (2): 77–93.
- Jiang Z., Chen K., Cheng L., Yan B., Qian W., Cao J., et al. Resveratrol and cancer treatment: updates. *Ann N Y Acad Sci.* 2017; 1403 (1): 59–69.
- Su Y.W., Chen K.M., Hassanshahi M., Tang Q., Howe P.R., Xian C.J. Childhood cancer chemotherapy-induced bone damage: pathobiology and protective effects of resveratrol and other nutraceuticals. *Ann N Y Acad Sci.* 2017; 1403 (1): 109–17.
- Romero-Perez A.I., Ibern-Gomez M., Lamuela-Raventós R.M., Carmen de la Torre-Boronat M. Piceid, the major resveratrol derivative in grape juices. *J Agric Food Chem.* 1999; 47: 1533–6.
- Henry-Vittra C., Desmoulière A., Girard D., Méridon J.-M., Krisa S. Transport, deglycosylation, and metabolism of trans-piceid by small intestinal epithelial cells. *Eur J Nutr.* 2006; 45: 376–82.
- Lv C., Zhang L., Wang Q., Liu W., Wang C., Jing X., et al. Determination of piceid in rat plasma and tissues by high-performance liquid chromatographic method with UV-detection. *Biomed Chromatogr.* 2006; 20: 1260–6.
- Kimura Y. New anticancer agents: in vitro and in vivo evaluation of the antitumor and antimetastatic actions of various compounds isolated from medicinal plants. *In Vivo.* 2005; 19 (1): 37–60.
- Du M., Zhang Z., Gao T. Piceatannol induced apoptosis through up-regulation of microRNA-181a in melanoma cells. *Biol Res.* 2017; 50 (1): 36.
- Geahlen R.L., McLaughlin J.L. Piceatannol (3,4,3',5'-tetrahydroxy-trans-stilbene) is a naturally occurring protein-tyrosine kinase inhibitor. *Biochem Biophys Res Commun.* 1989; 165 (1): 241–5.
- Kwon J.Y., Seo S.G., Heo Y.S., Yue S., Cheng J.X., Lee K.W., et al. Piceatannol, natural polyphenolic stilbene, inhibits adipogenesis via modulation of mitotic clonal expansion and insulin receptor-dependent insulin signaling in early phase of differentiation. *J Biol Chem.* 2012; 287 (14): 11 566–78.
- Wolter F., Clausnitzer A., Akoglu B., Stein J. Piceatannol, a natural analog of resveratrol, inhibits progression through the S phase of the cell cycle in colorectal cancer cell lines. *J Nutr.* 2002; 132 (2): 298–302.
- McCormack D., McFadden D. A review of pterostilbene anti-oxidant activity and disease modification. *Oxid Med Cell Longev.* 2013; 2013: 575482.
- Yan D., Delori A., Lloyd G.O., Friščić T., Day G.M., Jones W., et al. A cocrystal strategy to tune the luminescent properties of stilbene-type organic solid-state materials. *Angew Chem Int Ed.* 2011; 50 (52): 12 483–6.
- Ahmed T., Javed S., Javed S., Tariq A., Šamec D., Tejada S., et al. Resveratrol and Alzheimer's disease: mechanistic insights. *Mol Neurobiol.* 2017; 54 (4): 2622–35.
- Kwon J.Y., Seo S.G., Heo Y.S., Yue S., Cheng J.X., Lee K.W., et al. Piceatannol, natural polyphenolic stilbene, inhibits adipogenesis via modulation of mitotic clonal expansion and insulin receptor-dependent insulin signaling in early phase of differentiation. *J Biol Chem.* 2012; 287 (14): 11 566–78.
- Romero-Pérez A.I., Ibern-Gómez M., Lamuela-Raventós R.M., de La Torre-Boronat M.C. Piceid, the major resveratrol derivative in grape juices. *J Agric Food Chem.* 1999; 47 (4): 1533–6.
- Perrone D., Fuggetta M.P., Ardito F., Cottarelli A., De Filippis A., Ravagnan G., et al. Resveratrol (3,5,4'-trihydroxystilbene) and its properties in oral diseases. *Exp Ther Med.* 2017; 14 (1): 3–9.
- Ribeiro de Lima M.T., Waffo-Tégou P., Teissedre P.L., Pujolas A., Vercauteren J., Cabanis J.C., et al. Determination of stilbenes (transstringin, cis- and trans-piceid, and cis- and trans-resveratrol) in Portuguese wines. *J Agric Food Chem.* 1999; 47 (7): 2666–70.
- Méridon J.M., Fauconneau B., Teguo P.W., Barrier L., Vercauteren J., Huguot F. Antioxidant activity of the stilbene astringin, newly extracted from *Vitis vinifera* cell cultures. *Clin Chem.* 1997; 43 (6, Pt 1): 1092–3.
- Potential Method to Control Obesity: Red Wine, Fruit Compound Could Help Block Fat Cell Formation. *Sci Daily.* 2012; 4. URL: <https://www.sciencedaily.com/releases/2012/04/120404125355.htm>. (date of access February 11, 2017)

Для корреспонденции

Атякшин Дмитрий Андреевич – доктор медицинских наук, доцент кафедры гистологии, директор Научно-исследовательского института экспериментальной биологии и медицины ФГБОУ ВО «Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко» Минздрава России
 Адрес: 394066, Россия, г. Воронеж, Московский проспект, д. 185а
 Телефон: (473) 243-76-88
 E-mail: earth-mars38@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0002-8347-4556>

Атякшин Д.А.¹, Алексеева Н.Т.¹, Клочкова С.В.², Никитюк Д.Б.^{2, 3}

Состояние коллагеновых волокнистых структур экстрацеллюлярного матрикса соединительной ткани желудка и кишечника мышей после 30-суточного орбитального полета

Extracellular matrix collagen fiber structures of the gastrointestinal connective tissues in mice after a 30 day orbital flight

Atiakshin D.A.¹, Alexeeva N.T.¹, Klochkova S.V.², Nikityuk D.B.^{2, 3}

¹ ФГБОУ ВО «Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко» Минздрава России, Воронеж, Россия

² ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский университет), Москва, Россия

³ ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии», Москва, Россия

¹ Voronezh State Medical University named after N.N. Burdenko, Voronezh, Russia

² I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia

³ Federal Research Centre of the Nutrition, the Biotechnology and the Food Safety, Moscow, Russia

Органы пищеварительной системы обладают высокой чувствительностью к влиянию факторов орбитального полета и могут лимитировать осуществление профессиональной деятельности экипажей на борту Международной космической станции. Соединительная ткань как системообразующая матрица интегративно-буферной метаболической среды обладает особым значением в космической биомедицине, обеспечивая функционирование внутренних органов в условиях с измененным уровнем гравитационного стимула.

Цель – изучение адаптивных механизмов волокнистого компонента внеклеточного матрикса соединительной ткани желудка и кишечника на влияние продолжительной микрогравитации.

Материал и методы. С помощью гистохимических методик изучено состояние коллагеновых волокон специфического тканевого микроокружения оболочек

Для цитирования: Атякшин Д.А., Алексеева Н.Т., Клочкова С.В., Никитюк Д.Б. Состояние коллагеновых волокнистых структур экстрацеллюлярного матрикса соединительной ткани желудка и кишечника мышей после 30-суточного орбитального полета // *Вопр. питания.* 2019. Т. 88, № 1. С. 26–40. doi: 10.24411/0042-8833-2019-10003.

Статья поступила в редакцию 22.06.2018. Принята в печать 27.12.2018.

For citation: Atiakshin D.A., Alexeeva N.T., Klochkova S.V., Nikityuk D.B. Extracellular matrix collagen fiber structures of the gastrointestinal connective tissues in mice after a 30 day orbital flight. *Voprosy pitaniia* [Problems of Nutrition]. 2019; 88 (1): 26–40. doi: 10.24411/0042-8833-2019-10003. (in Russian)

Received 22.06.2018. **Accepted for publication** 27.12.2018.

желудка и кишечника мышей линии C57BL/6N (58 самцов с исходной массой тела $27,1 \pm 0,7$ г) после 30-суточного космического полета и последующей 7-суточной наземной реадaptации, а также животных соответствующих контрольных групп.

Результаты и обсуждение. Пребывание лабораторных животных на биоспутнике «БИОН-М» № 1 приводило к редукации волокнистого компонента внеклеточного матрикса соединительной ткани в структурах изученных органов пищеварительной системы, за исключением собственной пластинки слизистой оболочки желудка. Спустя 7 сут после приземления биоспутника выявлено усиление фибриллогенеза в оболочках органов желудочно-кишечного тракта по сравнению с показателями животных группы космического полета. Во время эксперимента с наземным моделированием условий орбитального полета изменения коллагеновых волокон не характеризовались значимостью по отношению к группе виварийного контроля.

Заключение. Полученные результаты свидетельствуют о грависенситивности волокнистых структур экстрацеллюлярного матрикса интраорганной соединительной ткани и актуальности продолжения совершенствования профилактических мероприятий для органов пищеварительной системы космонавтов в условиях орбитального полета.

Ключевые слова: орбитальный полет, невесомость, пищеварительная система, соединительная ткань, коллагеновые волокна, мышцы линии C57BL/6N

The organs of the digestive system experience high sensitivity to the orbital flight factors and may limit the implementation of the professional activities of crews on International space station. The connective tissue as a system-forming matrix of the integrative and buffering metabolic environment has a particular importance in the space biomedicine because it provides the inner organ functionality in the conditions of changing level of the gravitational incentive.

Aim – to study the adaptive mechanisms of the fibrous component of the extracellular matrix of the connective tissue of stomach and intestines on the effect of prolonged microgravity.

Material and methods. Using histochemical methods the condition of collagen fibers of a specific tissue microenvironment of the membranes of stomach and intestines of C57BL/6N mice (58 males with an initial body weight of 27.1 ± 0.7 g) after a 30-day space flight and the following 7-day land readaptation was studied as well as in the animals representing corresponding control groups.

Results and discussion. Laboratory animal presence on the biosatellite «BION-M» No. 1 has led to the fibrous reduction of extracellular matrix of connective tissue in the studied organs of digestive system structure except for the proper lamina of the gastric mucous membrane. Fibrillogenesis increase in the gastrointestinal tract in comparison with the indicators of space flight animal group has been found after 7 days of the biosatellite landing. The collagen fibers were not characterized by the significance change from the vivarium control group during the experiment with the land modelling of orbital flight conditions.

Conclusion. The obtained results represent the evidence of fibrous structure gravity sensitivity of extracellular matrix of the connective tissue and show the relevance in the sphere of preventive measure improvement of the digestive system organs in the profession of astronauts in the orbital flight conditions.

Keywords: orbital flight, zero gravity, digestive system, connective tissue, collagen fibers, C57BL/6N mice

Соединительная ткань выполняет важную биологическую миссию в обеспечении деятельности органов. Создаваемые условия микроокружения для реализации функциональной активности клеток и их производных во всех тканях организма адекватны уровням внешних и внутренних вызовов. Условия гравитационного стимула на Земле являются фактором, к которому адаптированы как клеточные элементы соединительной ткани, так и компоненты внеклеточного матрикса. Структуры соединительной ткани внутренних

органов, выполняя роль мягкого скелета, реагируют на изменение силы тяжести в космическом полете. Как было показано ранее в эксперименте на монгольских песчанках после 12-суточного полета на космическом аппарате «Фотон-М3», в интерстиции органов пищеварительного тракта развивались специфические изменения, отражающие результат гравитационной разгрузки [1–3]. Запуск российского биологического спутника «БИОН-М» № 1 предоставил новые возможности по выявлению структурно-функциональных эффектов

в организме млекопитающих после длительного пребывания в невесомости, в том числе на состояние соединительной ткани органов пищеварительной системы. С одной стороны, была существенно увеличена продолжительность космического полета, впервые в истории запусков биоспутников достигнув 30 сут. С другой стороны, планирование научной программы эксперимента сделало возможным изучение морфофункциональных основ механизмов реадaptации соединительной ткани в органах пищеварительного тракта к обычному уровню гравитации после приземления биообъектов, изучение которых ранее не проводилось. Таким образом, современные вызовы космической гастроэнтерологии, диктующие необходимость дальнейшего изучения органов пищеварительной системы в условиях невесомости, определили проведение настоящего исследования состояния соединительной ткани под влиянием факторов орбитального полета.

Материал и методы

Эксперимент проведен на 58 самцах мышей линии C57BL/6N (табл. 1) с исходной массой тела $27,1 \pm 0,7$ г. В серию 30-суточного космического полета входили 5 животных, от которых биоматериал был взят через 9–11 ч после приземления биоспутника. Группу по исследованию процессов реадaptации органов пищеварительной системы к нормальному уровню гравитации составили 5 мышей, которые после возвращения из орбитального полета находились 7 сут в стандартных условиях содержания. В серию моделирования влияния факторов космического полета в наземных условиях (биологический контроль) входили 16 животных, из них половина находилась 30 сут в макете полетной аппаратуры «БИОС-МЛЖ», а другие после модельного эксперимента подвергались 7-суточной реадaptации, аналогичной та-

ковой у послеполетной группы животных. Каждой из четырех вышеперечисленных групп соответствовала группа мышей виварийного контроля в количестве 8 голов (см. табл. 1). Исчерпывающая информация по условиям содержания, питания и другим ключевым деталям особенностей пребывания мышей линии C57BL/6N в рамках программы полета биоспутника «БИОН-М1» представлена в соответствующих публикациях [4–6]. Животных полетной и дублирующей полетной групп транспортировали на Байконур за 7 сут до запуска [4]. Перемещение не оказало негативного влияния на состояние мышей, о чем свидетельствовало незначительное (на 3%, 0,9 г) снижение массы тела. Для перевозки использовали специализированные контейнеры из непрозрачного пластика с воздушными фильтрами (производства питомника «Пушино», Россия) [5, 6]. Во время как транспортировки, так и дальнейшего эксперимента животные имели доступ к специальному «полетному» корму, разработанному Т.С. Гурьевой и Е.И. Медниковой в ГНЦ РФ – ИМБП РАН, который представлял собой пасту из стандартного комбикорма, казеина в качестве загустителя с содержанием воды 76–78% [5, 6]. При приготовлении пастообразного корма использовали (на 100 г сухого продукта) корм-основу (экструдированный стандартный корм, 87,2%), казеин обезжиренный (11,6%); соль-плавитель (NaHPO_4 , 0,1%); сорбиновую кислоту (0,3%) [6]. Корм был сбалансирован по аминокислотному составу, дополнительно вводились макро- и микроэлементы (премиксы) и витамины. В частности, в 100 г сухого корма содержание белка составляло 44,5%, в том числе лизина – 2,36 г, метионина + цистина – 1,46 г, триптофана – 0,28 г, углеводов – 34,6%, зольность – 9,4%, кальция – 2,28%, магния – 2783,4 мг, цинка – 3,66 мг, железа – 56,18 мг, витамина А – 0,81 мг, витамина D – 0,06 мг, витамина Е – 4,65 мг, витамина B₁ – 1,10 мг, витамина B₂ – 3,15 мг, витамина B₆ – 25,2 мг, витамина K₃ – 5,59 мг; энергетическая ценность – 361,4 ккал [5, 6].

Таблица 1. Экспериментальные группы мышей линии C57BL/6N

Эксперимент	Группа животных	Условные сокращения	Количество животных
Эксперимент на борту биологического спутника «БИОН-М» № 1	1. Группа космического полета, находившаяся в течение 30 сут в условиях невесомости	КП	5
	2. Виварийный контроль к группе 30-суточного космического полета	ВК-КП	8
	3. Группа реадaptации, обследованная спустя 7 суток после возвращения животных из 30-суточного космического полета	РКП	5
	4. Виварийный контроль к группе 7-суточной реадaptации после 30-суточного космического полета	ВК-РКП	8
Наземный эксперимент по моделированию некоторых условий пребывания животных на борту биологического спутника «БИОН-М» № 1 в макете полетной аппаратуры «БИОС-МЛЖ»	1. Группа биологического контроля – наземного эксперимента по моделированию 30-суточного космического полета в макете полетной аппаратуры «БИОС-МЛЖ»	БК	8
	2. Виварийный контроль к группе наземного эксперимента по моделированию 30-суточного космического полета в макете полетной аппаратуры «БИОС-МЛЖ»	ВК-БК	8
	3. Группа реадaptации, обследованная спустя 7 суток после наземного моделирования 30-суточного космического полета в макете полетной аппаратуры «БИОС-МЛЖ»	РБК	8
	4. Виварийный контроль к группе 7-суточной реадaptации после наземного моделирования 30-суточного космического полета в макете полетной аппаратуры «БИОС-МЛЖ»	ВК-РБК	8
Всего экспериментальных животных			58

Среднее потребление пастообразного корма мышами полетной и контрольной групп составляло $5,52 \pm 0,88$ г на 10 г массы тела. С учетом влажности пастообразного корма (76–78%) потребление сухого вещества составляло $1,27 \pm 0,2$ г на 10 г массы тела, что не отличалось от потребления стандартного комбикорма. Масса тела животных после полета существенно варьировала, однако в целом ее изменения у животных основных экспериментальных групп в сравнении с животными из групп виварного контроля в полетном и наземном экспериментах были противоположными. В космическом полете (КП) мыши набрали большую массу тела, чем мыши группы виварийного контроля (ВК) к КП, а в наземном контрольном эксперименте (БК) меньше, чем соответствующий виварный контроль (ВК-БК) [5]. Возможно, такие изменения связаны со снижением интенсивности физических нагрузок у мышей в условиях невесомости.

После декапитации животных фрагменты фундального отдела желудка, а также тощей и толстой кишки длиной не менее 10 мм фиксировали в 10% нейтральном формалине при комнатной температуре. Согласно стандартному протоколу пробоподготовки фрагменты желудка и кишечника проводили через батарею спиртов, растворы ксилола и заливали в парафин. Парафиновые срезы толщиной 6 мкм, выполненные по длинной оси полученных фрагментов желудка и кишечника, для целей обзорной микроскопии окрашивали гематоксилином Майера и эозином [7]. Общее представление о содержании внеклеточного матрикса соединительной ткани в стенке органов желудочно-кишечного тракта, а также гладкой мускулатуры получали после окрашивания по Массону–Голднеру [8]. Для идентификации коллагеновых структур волокнистого компонента внеклеточного матрикса соединительной ткани приготовленные срезы окрашивали железным гематоксилином Вейгерта и пикрофуксином по методу Ван-Гизона, ретикулярные волокна выявляли импрегнацией азотнокислым серебром [7–9]. Селективность выбранных методик согласуется с результатами использования иммуноморфологических подходов для изучения волокнистых коллагенов [9, 10]. В частности, окрашенные по методу Ван-Гизона волокнистые структуры представлены преимущественно коллагеном I типа, тогда как импрегнированные волокна содержат более высокое содержание коллагена III типа [11, 12]. Также известно, что ретикулярные волокна могут являться непосредственным продолжением коллагеновых волокон [13, 14]. Таким образом, используемые в работе гистохимические методы позволяли дифференцировать ретикулярные волокна, содержащие коллаген III типа, от волокнистых структур, образованных иными фибриллярными коллагенами (I, II, V, XI и других типов) [9, 14]. Топографию и тинкториальные характеристики коллагеновых волокон в интерстиции желудка и тонкой кишки оценивали на аппаратно-программном комплексе для биологических исследований с системой документирования на основе прямого исследовательского микроскопа ZEISS Axio Imager.A2 (Carl Zeiss Microscopy,

Германия). Для получения количественных данных о состоянии волокнистого компонента интерстиция использовали планиметрический подход [15], в условных единицах определяя индекс содержания волокон на поле зрения при использовании объектива $\times 100$. Репрезентативность выборки достигалась оценкой не менее 50 полей зрения.

Полученные данные статистически анализировали с использованием программного обеспечения ZEN 2.3 (Carl Zeiss Microscopy, Германия). В зависимости от нормальности распределения данных для сравнения двух выборок применяли параметрический критерий – *t*-критерий Стьюдента либо непараметрический Вилкоксона с уровнем значимости $p < 0,05$.

Исследования проведены с соблюдением требований по гуманному обращению с животными в соответствии с решением Комиссии по биомедицинской этике ИМБП (протокол № 206 от 07.10.2007).

Результаты

Желудок

Волокнистый компонент соединительной ткани хорошо идентифицировался во всех структурах стенки желудка мышей группы виварийного контроля (рис. 1А, 2А). В собственной пластинке слизистой оболочки выявлялись преимущественно ретикулярные волокна, располагающиеся между фундальными железами желудка (рис. 1А, 1Б). Часть из них повторяла гистотопографию базальной мембраны собственных желез, простираясь практически на всю толщину слизистой оболочки желудка. В пределах мышечной пластинки слизистой оболочки ретикулярные волокна сопровождали гладкие миоциты, формируя сеть тонких переплетающихся волокон с умеренной аргирофилией. В подслизистой оболочке локализовалось большее количество ретикулярных волокон различного калибра, расположенных рядом с пучками волокнистых структур, представленных главным образом коллагеном I типа. Следует отметить, что при импрегнации серебром данные волокна обладали окрашиванием в более коричнево-желтые тона по сравнению с практически черными импрегнированными ретикулярными волокнами. Высокое содержание ретикулярных волокон определялось в мышечной оболочке желудка (см. рис. 2А). Слои гладких миоцитов были разделены скоплениями рыхлой волокнистой соединительной ткани, содержащей ретикулярные волокна различной толщины. В пределах мышечного пласта ретикулярные волокна, контактируя с плазмалеммой миоцитов, располагались в характерной последовательности и формировали густую сеть, оплетающую сократительные единицы. Ориентация ретикулярных волокон в мышечной оболочке органа определялась в направлении как длинной оси гладких миоцитов, так и поперечной (см. рис. 2А). Иногда с плазмалеммой миоцитов соприкасался неравномерно распределенный аргирофильный материал в форме пылевидных зерен или

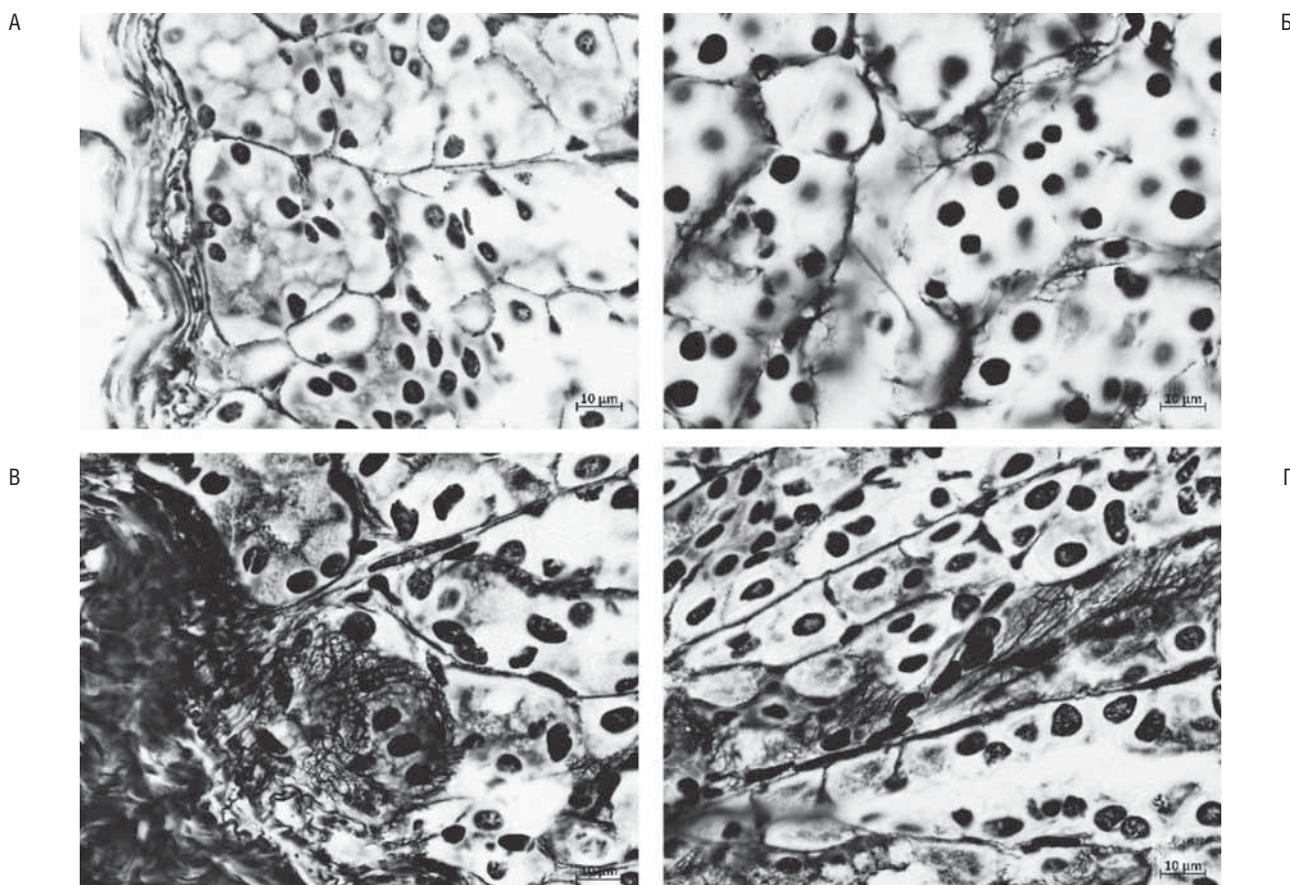


Рис. 1. Слизистая оболочка желудка мышей линии C57BL/6N

Фиксация: 10% нейтральный формалин. Методика: импрегнация азотнокислым серебром по методу Фута. А – виварийный контроль к группе 30-суточного космического полета. Ретикулярные волокна локализованы между фундальными железами желудка собственной пластинки слизистой оболочки; Б – группа наземного эксперимента по моделированию 30-суточного космического полета в макете полетной аппаратуры «БИОС-МЛЖ» (биологический контроль). Количество ретикулярных волокон в строме не меняется по сравнению с группой виварийного контроля; В – группа космического полета. Высокое содержание ретикулярных волокон в нижних отделах собственных желез желудка; Г – группа 7-суточной реадaptации после возвращения животных из космического полета. В строме слизистой оболочки сохраняется повышенное содержание импрегнированных волокнистых структур.

более крупных глыбок. В серозной оболочке постоянно выявлялись коллагеновые волокна, в том числе ретикулярные.

После орбитального полета обнаруживались различные преобразования коллагеновых волокон по отношению к характеристикам животных группы виварийного контроля, выраженность которых зависела от гистотопографии в стенке желудка. Становились очевидными процессы дезорганизации ретикулярных волокон, которые сочетались с изменениями их количественных характеристик. Возрастание представительства соединительной ткани в слизистой оболочке было обусловлено формированием микрокусов с высоким содержанием ретикулярных волокон (рис. 1В). Часто такие территории распространялись на всю толщу слизистой оболочки. Однако основным трендом являлось локальное повышение числа импрегнированных волокнистых структур в пределах ограниченных территорий поверхности слизистой оболочки. Гистотопографически это было характерно для нижней трети собственных желез желудка или области их дна.

Наиболее вероятной причиной таких изменений следует считать особенность трофики слизистой оболочки желудка в условиях космического полета, которая могла определять масштаб распространения. Отделялись микрокусы собственных желез желудка с нарушением целостности аргирофильных волокнистых структур, входящих в состав базальной мембраны. Со стороны тинкториальных характеристик ретикулярных волокон интерстиция слизистой оболочки желудка мышей линии C57BL/6N наблюдалось возрастание степени их аргирофилии, тогда как после окрашивания по Ван-Гизону более часто выявлялось повышение интенсивности окрашивания волокон фуксином, а в местах морфологических признаков гомогенизации волокон либо их пучков в некоторых случаях обнаруживалось усиление пикринофилии. В мышечной пластинке слизистой оболочки желудка происходило достоверное снижение представительства ретикулярных волокон. Аналогичные изменения выявлялись и в области подслизистой оболочки. Уменьшалось количество ретикулярных волокон крупного калибра, часто наблюдались

зернистоподобные скопления импрегнированного материала, а также интенсивно окрашенные отдельные фрагменты волокон. Редукция пучков коллагеновых волокон сочеталась с возрастанием фуксинофилии

и признаками отечных явлений. Выявлялись участки гомогенизации коллагеновых волокон, некоторые из которых приобретали пикринофилию. Этот факт свидетельствует о дистрофических изменениях, приводящих

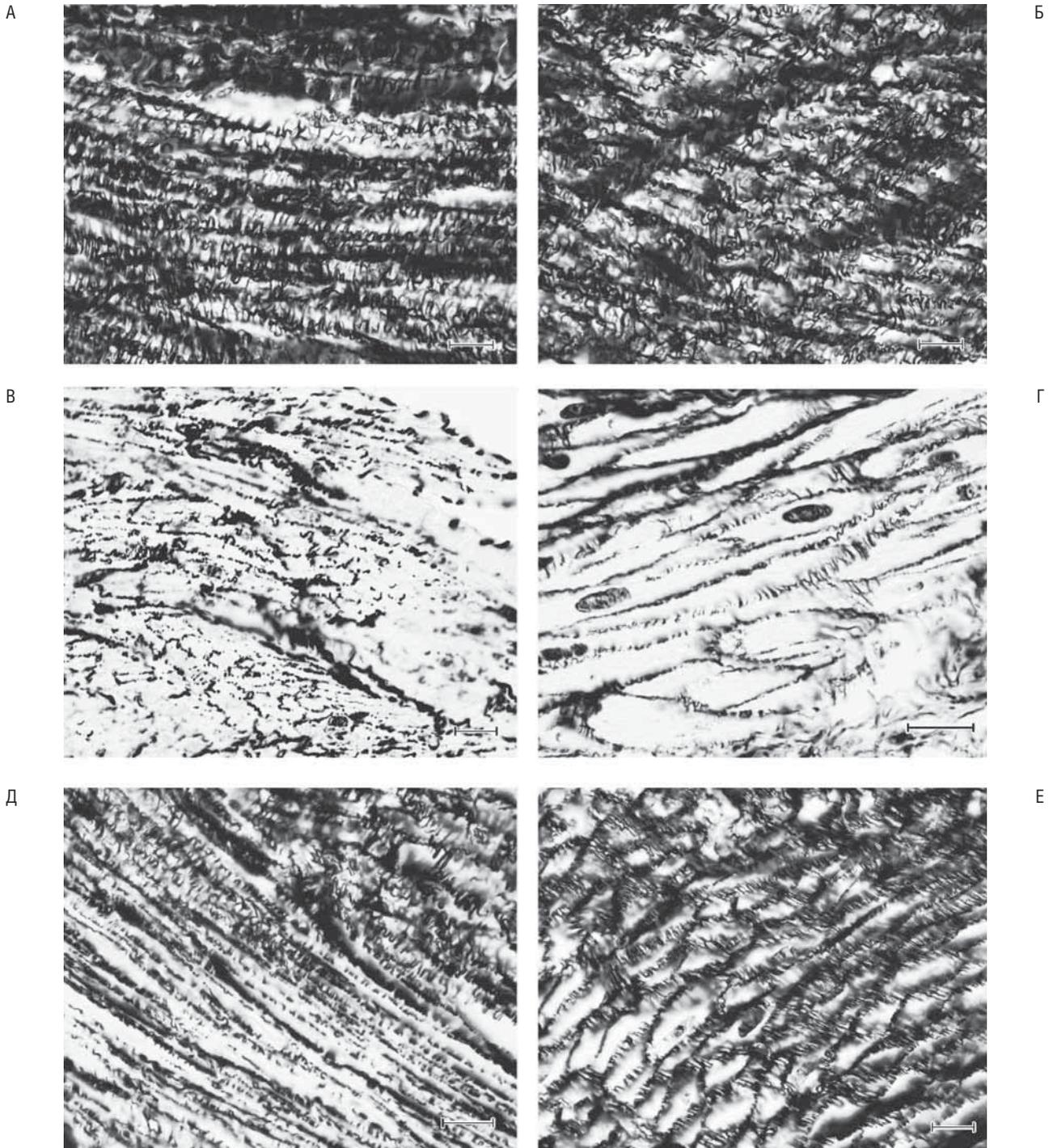


Рис. 2. Мышечная оболочка желудка мышей линии C57BL/6N

Фиксация: 10% нейтральный формалин. Методика: импрегнация азотнокислым серебром по методу Фута. Шкала – 10 мкм. А, Б – развитая сеть ретикулярных волокон в эндомизии мышечной оболочки желудка мышей виварийного контроля к группе 30-суточного космического полета (А) и группы наземного эксперимента по моделированию 30-суточного космического полета в макете полетной аппаратуры «БИОС-МЛЖ» (Б); В, Г – редукция ретикулярных волокон в мышечной оболочке желудка мышей после космического полета; Д, Е – возрастание представительства импрегнированных волокнистых структур в эндомизии мышечной оболочки желудка мышей спустя 7 сут после приземления биоспутника «БИОН-М» № 1. Сохраняются участки с редуцированным содержанием ретикулярных волокон (Д).

Таблица 2. Индекс содержания ретикулярных волокон в мышечной оболочке органов пищеварительной системы мышей линии C57BL/6N, усл. ед.

Группа животных		Желудок	Тощая кишка	Толстая кишка
Эксперимент на борту биологического спутника «БИОН-М» № 1	ВК-КП	0,214±0,019	0,156±0,011	0,188±0,012
	КП	0,154±0,011*, **	0,084±0,002*, **	0,112±0,007*, **
	РКП	0,244±0,017*, **	0,179±0,011*	0,208±0,018*, **
	ВК-РКП	0,202±0,012	0,144±0,014	0,173±0,013
Эксперимент в макете полетной аппаратуры «БИОС-МЛЖ»	ВК-БК	0,208±0,022	0,165±0,018	0,178±0,020
	БК	0,214±0,017	0,173±0,021	0,171±0,024
	РБК	0,197±0,023	0,154±0,018	0,170±0,014
	ВК-РБК	0,212±0,018	0,152±0,016	0,182±0,022

Примечание. Статистическая значимость отличий: * – $p < 0,05$ по сравнению с показателем животных соответствующего виварийного контроля; ** – $p < 0,05$ по сравнению с соответствующим биологическим контролем; сокращенные названия групп эксперимента см. в табл. 1.

к частичной дезорганизации коллагеновых волокон в пределах микролокусов, либо о реализации направленного механизма их лизиса.

Наиболее заметные послеполетные изменения волокнистых структур внеклеточного матрикса обнаруживались в мышечной оболочке желудка. Количество ретикулярных волокон достоверно уменьшалось (рис. 2В, 2Г, табл. 2). Аналогичная тенденция в представительстве соединительной ткани наблюдалась при изучении микропрепаратов после окрашивания по Массону–Голднеру и Ван-Гизону. Иногда в мышечной оболочке формировались довольно крупные локусы, в которых волокнистые соединительнотканые структуры практически полностью отсутствовали, в том числе аргирофильные (см. рис. 1В). В эндомизии изменялось взаимное расположение волокон относительно друг друга. Количество ретикулярных волокон, локализованных поперечно длинной оси гладких миоцитов, существенно сокращалось (см. рис. 2В, 2Г). Редуцированные импрегнированные волокна гистопографически характеризовались преимущественно параллельной направленностью по отношению к длинной оси гладких миоцитов. Часто выявлялись локусы эндомизия с накоплением зернистого аргирофильного материала. На протяжении ретикулярных волокон выявлялись изменения сродства к красителю, что проявлялось выраженной вариабельностью от участков с низкой степенью окрашивания до формирования микролокусов с высокой степенью импрегнированности. Кроме того, идентифицировались образования, представленные конгломератами из импрегнированного материала без упорядоченной структуры, обладающие вытянутой формой и иногда достигающие довольно крупных размеров.

Изучение желудка мышей линии C57BL/6N группы 7-суточного восстановления после орбитального полета показало, что в слизистой оболочке не происходило возвращения состояния соединительной ткани к уровню группы виварийного контроля. Прежде всего это касалось количественных показателей ретикулярных волокон. В местах локализации клеток собственных желез желудка, испытывавших наиболее выраженные признаки дистрофии в условиях космического полета, сохранялось повышенное содержание аргирофильных структур

(рис. 1Г). Также наблюдалось увеличенное количество ретикулярных волокон в прослойках соединительной ткани, разделяющей собственные железы желудка (см. рис. 1Г). Во всех микропрепаратах отмечалось усиление аргирофилии.

В то же время в мышечной пластинке слизистой оболочки и особенно в мышечной оболочке численность ретикулярных волокон достоверно возрастала (рис. 2Д, 2Е, см. табл. 2). Восстанавливались аргирофильные волокна с поперечной направленностью по отношению к длинной оси гладких миоцитов. В меньшей степени содержание ретикулярных волокон увеличивалось за счет волокнистых структур, локализованных в эндомизии параллельно длинной оси гладких миоцитов, а также расположенных в перимизии. Одновременно обращало на себя внимание высокое содержание импрегнированных зернистых образований в мышечной оболочке, что могло свидетельствовать о незавершенности процессов лизиса ретикулярных волокон, сочетающегося с активным биогенезом в условиях адаптации к привычному уровню земной гравитации. Кроме того, происходило восстановление содержания аргирофильных структур эндомизия, контактирующих с базальной мембраной гладких миоцитов, что особенно хорошо видно на поперечных срезах (рис. 1Д, 1Е). Частота выявления локусов гладкой мускулатуры желудка с явлениями выраженной редукции сети ретикулярных волокон в эндомизии была существенно снижена по сравнению с таковой у животных из группы космического полета, хотя такие территории продолжали выявляться.

В свете выявленных изменений волокнистого компонента внеклеточного матрикса желудка мышей C57BL/6N, вернувшихся из космического полета, очень важны были результаты обследования групп животных из наземного биологического контроля, имитирующего условия пребывания на орбите. При анализе биоматериала как непосредственно после 30-суточного пребывания в макете полетной аппаратуры «БИОС-МЛЖ», так и спустя 7 сут после моделирования космического полета главные изменения волокнистого компонента соединительной ткани происходили в слизистой оболочке и затрагивали преимущественно состояние ретикулярных волокон. При этом тенденция к снижению

представительства ретикулярных волокон не приобретала достоверный характер в сравнении с показателями животных группы виварийного контроля (см. рис. 1Б). Изменения главным образом касались тинкториальных характеристик ретикулярных волокон. Дистрофические изменения покровного эпителия и собственных желез желудка были редки и отмечались в пределах микро-территорий. В мышечной пластинке слизистой оболочки топография волокнистых элементов практически не отличалась от картин, наблюдаемых у мышей виварийного контроля. Исследование волокнистого остова подслизистой оболочки показало высокое содержание ретикулярных волокон, находящихся в тесном контакте с волокнистыми структурами, образованными коллагеном I типа. В мышечной оболочке обращала на себя внимание тенденция к возрастанию по сравнению с показателями контрольной группы животных содержания ретикулярных волокон, не достигающая уровня статистической значимости. Гистотопография волокнистых структур не претерпевала существенных изменений (рис. 2Б). При исследовании материала животных, обследованных на 7-е сутки после проведения модельного эксперимента, выявленные микроскопические картины по большинству признаков не отличались от показателей животных группы виварийного контроля.

Кишечник

В стенке тощей кишки животных группы виварийного контроля ретикулярные волокна идентифицировались во всех оболочках, в то время как коллагеновые волокна преимущественно располагались в подслизистой и серозной оболочках. В серозной оболочке ретикулярные волокна локализовались в субсерозном слое, обладали крупным калибром и высоким уровнем аргирофилии. В мышечной оболочке импрегнированные волокнистые элементы выявлялись как в циркулярном слое, так и в продольном (рис. 3А). При этом ретикулярные волокна создавали сеть, ориентированную преимущественно по ходу длинной оси гладких миоцитов (см. рис. 3А). На поперечных срезах хорошо определялось контактирование базальной мембраны гладких миоцитов со структурами эндомизия.

В пределах подслизистой оболочки выявлялись ретикулярные волокна с наиболее крупным калибром. Как и в желудке, они располагались вместе с пучками коллагеновых волокон, которые хорошо идентифицировались после окрашивания по Ван-Гизону и методу Массона–Голднера.

В собственной пластинке слизистой оболочки выявлялись преимущественно ретикулярные волокна, которые формировали остов ворсин и свободно располагались в межкрипальной строме. В ворсинах ретикулярные волокна могли образовывать мелкоячеистую сеть различной степени выраженности (рис. 4А).

После космического полета во всех оболочках тощей кишки выявлялись количественные и качественные изменения волокнистого компонента соединительной ткани по сравнению с показателями виварийной группы

животных. В субсерозном слое ретикулярные волокна приобретали разнокалиберный вид с непостоянным уровнем аргирофилии на протяжении. В мышечной оболочке на фоне снижения аргирофилии в некоторых локусах выявлялась полная утрата ретикулярных волокон (рис. 3В, 3Г). При этом калибр ретикулярных волокон снижался вместе с их количеством (см. табл. 2). Однако иногда встречались импрегнированные волокнистые фрагменты значительной толщины, свидетельствуя о признаках определенной дезинтеграции стромального компонента. Выявлялось большое количество импрегнированного материала в виде зерен, а также фрагменты ретикулярных волокон с высокой аргирофилией (см. рис. 3В). Гистотопографические особенности локализации импрегнированных волокнистых структур изменялись по сравнению с картинами, характерными для животных группы виварийного контроля. В частности, в мышечной оболочке формировалась утрата упорядоченной локализации ретикулярных волокон, они становились более редкими и меняли направленность (см. рис. 3В, 3Г). Аналогичные картины обнаруживались в собственной пластинке слизистой оболочки тощей кишки. Редукция ретикулярных волокон была заметна в строме ворсин (рис. 4В, 4Г, 4Д). Межкрипальная строма также характеризовалась снижением представительства аргирофильных волокон, что сочеталось с уменьшением их калибра, и накоплением большого количества фрагментов с высокой степенью импрегнированности. В подслизистой оболочке уменьшалось содержание коллагеновых волокон, которые приобретали более высокий уровень фуксинофилии.

Исследование биоматериала тощей кишки мышей линии C57BL/6N через 7 сут после приземления биологического спутника показало существенные качественные и количественные изменения в системе волокнистого компонента внеклеточного матрикса соединительной ткани по сравнению с показателями животных группы космического полета. Прежде всего это было связано с усилением выраженности ретикулярного остова в собственной пластинке слизистой оболочки и мышечной оболочке (см. табл. 2; рис. 3Д, 3Е, 4Е). Формировалась сеть утолщенных волокнистых структур, топография которой принимала вид, характерный для животных группы виварийного контроля. В то же время в большом количестве обнаруживался зернистый импрегнированный материал, обладающий высокой аргирофильностью, а также фрагменты ретикулярных волокон, что, очевидно, являлось отражением процессов незавершенной реадaptации стромы тощей кишки к обычному уровню земной гравитации. Содержание коллагеновых волокон в подслизистой и серозной оболочках возрастало.

Изучение волокнистого компонента внеклеточного матрикса соединительной ткани толстой кишки виварийных животных показало его присутствие во всех оболочках. Ретикулярные волокна располагались преимущественно в собственной пластинке слизистой оболочки и в мышечной оболочке. В гладкой мускулатуре толс-

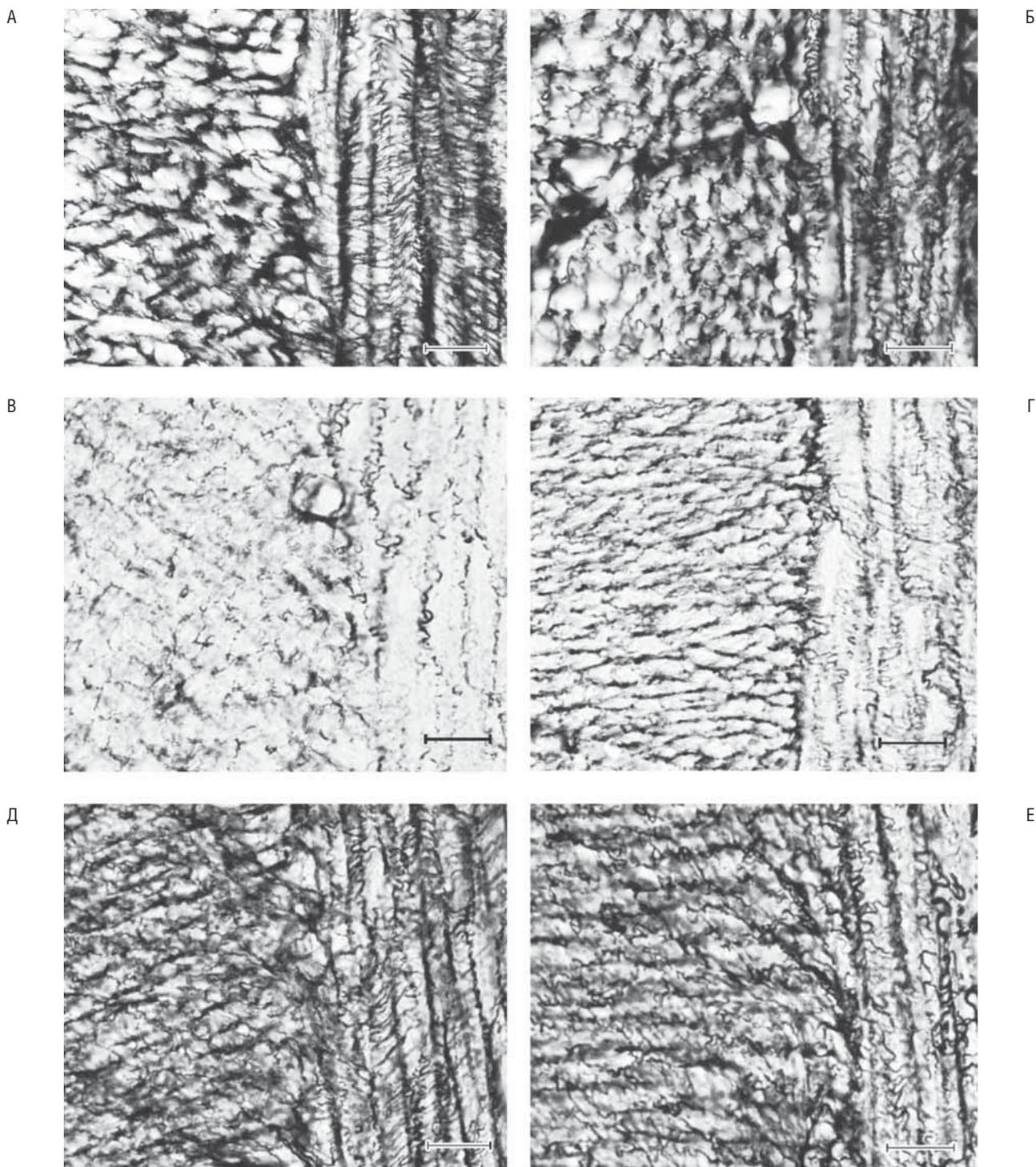


Рис. 3. Гистоархитектоника ретикулярных волокон в мышечной оболочке тощей кишки мышей линии C57BL/6N

Фиксация: 10% нейтральный формалин. Методика: импрегнация азотнокислым серебром по методу Фута. Шкала – 10 мкм. А – виварийный контроль к группе 30-суточного космического полета. Хорошо видны ретикулярные волокна на продольном и поперечном срезах гладкомышечных пластов; Б – группа наземного эксперимента по моделированию 30-суточного космического полета в макете полетной аппаратуры «БИОС-МЛЖ» (биологический контроль). Состояние гистоархитектоники ретикулярных волокон не меняется по отношению к виварийной группе животных; В, Г – группа 30-суточного космического полета. Определяется редукция ретикулярных волокон в интерстиции мышечной оболочки с признаками фрагментации и образованием гранулярного импрегнированного материала; Д, Е – группа реадaptации, обследованная спустя 7 сут после возвращения животных из космического полета. Отмечается возрастание численности ретикулярных волокон в мышечной оболочке.

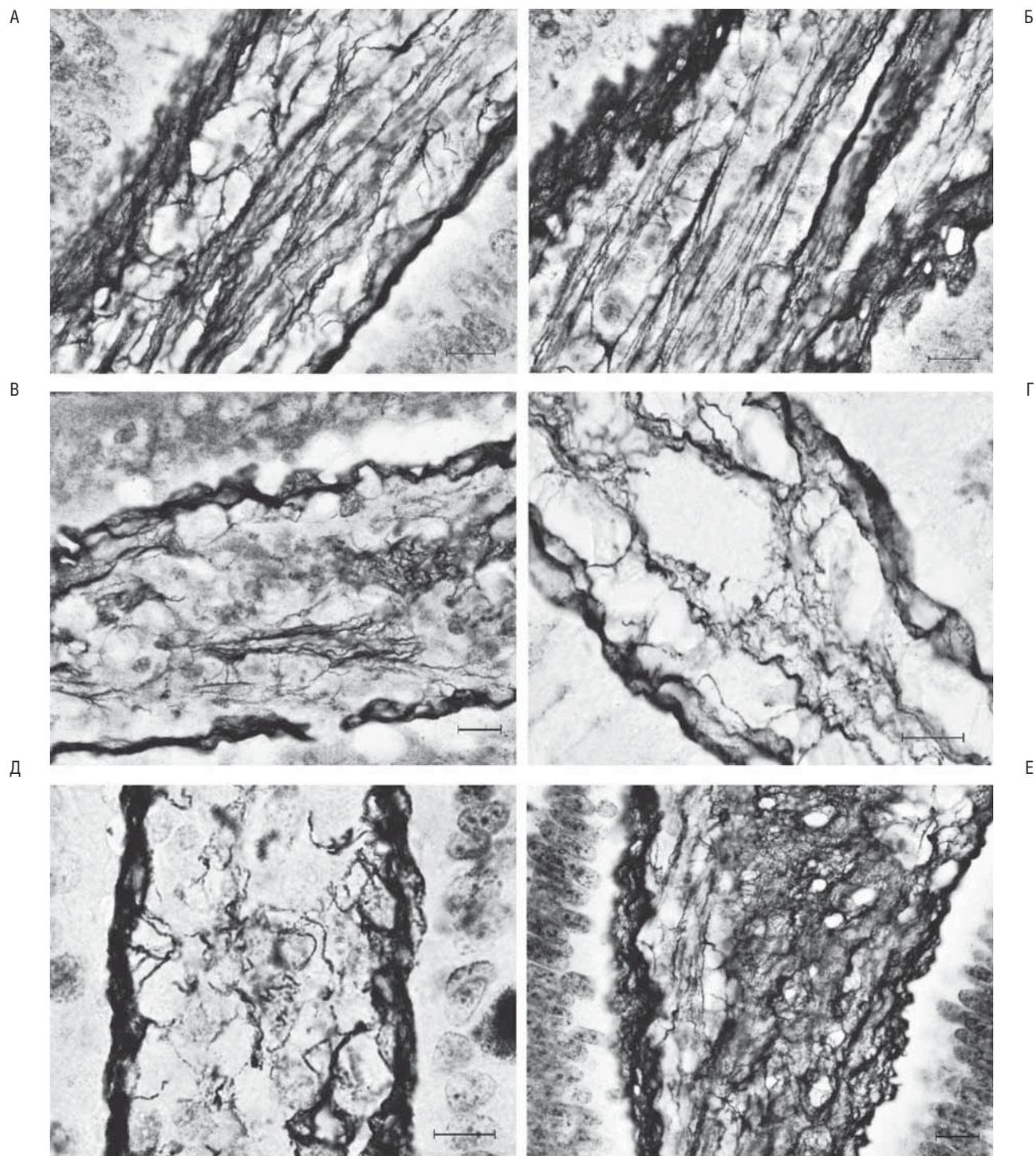


Рис. 4. Гистоархитектоника ретикулярных волокон в строме ворсин тощей кишки мышей линии C57BL/6N

Фиксация: 10% нейтральный формалин. Методика: импрегнация азотнокислым серебром по методу Фута. А – виварийный контроль к группе 30-суточного космического полета; Б – наземный эксперимент по моделированию 30-суточного космического полета в макете полетной аппаратуры «БИОС-МЛЖ» (биологический контроль). В строме ворсин хорошо определяется сеть ретикулярных волокон; В, Г, Д – группа космического полета. Определяется редукция ретикулярных волокон в строме ворсин, наличие импрегнированного материала в виде зерен и фрагментов; Е – группа реадaptации, обследованная спустя 7 сут после возвращения животных из 30-суточного космического полета. В строме ворсины выявляется высокое содержание разнокалиберных ретикулярных волокон.

той кишки по сравнению с мышечной оболочкой тощей кишки следует отметить более выраженное развитие сети ретикулярных волокон. Они имели достаточно крупный калибр и характеризовались равномерной аргирофилией на протяжении. После 30-суточного космического полета в собственной пластинке слизистой оболочки толстой кишки обнаруживались аргирофильные фрагменты, скопления импрегнированного зернистого материала. В целом содержание ретикулярных волокон снижалось во всех оболочках органа. У полетной группы животных в мышечной оболочке толстой кишки выявлялись локусы отсутствия аргирофильных структур, формирующих в некоторых случаях территории, распространяющиеся на значительные площади стенки толстой кишки. При этом выявляемые ретикулярные волокна характеризовались неравномерностью окрашивания на протяжении и наличием утолщений или истончений. В то же время спустя 7 сут наземной адаптации после космического полета происходило выраженное нарастание численности ретикулярных волокон.

Коллагеновые волокна в стенке толстой кишки были преимущественно распределены в подслизистой оболочке, хотя в незначительном количестве они наблюдались в субсерозном слое серозной оболочки. В пределах подслизистой оболочки коллагеновые волокна формировали разнокалиберные пучки. После космического полета обращало на себя внимание возрастание фуксинофилии вместе с тенденцией к снижению содержания коллагеновых волокон в подслизистой оболочке в сравнении с показателями группы животных биологического контроля. Формировались признаки отека, неравномерно распространяющегося в области подслизистой оболочки. Вместе с этим определялись участки гомогенизации пучков коллагеновых волокон, возрастание их фуксинофильных свойств, а в подслизистой оболочке – локусы пикринофилии. Спустя 7 сут после завершения космического полета уровень фуксинофилии пучков коллагеновых волокон снижался, тинкториальные характеристики волокнистых структур приближались к уровню, характерному для животных группы виварийного контроля. В то же время признаки отека явлений в пределах подслизистой оболочки продолжали выявляться.

При анализе биоматериала тонкой и толстой кишки животных из групп биологического контроля после пребывания в макете полетной аппаратуры «БИОС-МЛЖ» было обнаружено, что главные изменения состояния волокнистого компонента соединительной ткани происходили в слизистой оболочке и затрагивали тинкториальные свойства ретикулярных волокон. В частности, в межкрипальной строме тощей кишки мышшей обнаруживались разнокалиберные ретикулярные волокна, обладающие на протяжении неравнозначной аргирофилией. В строме ворсин наблюдалась тенденция к увеличению представительства сети ретикулярных волокон вместе с признаками снижения аргирофильных свойств, хотя их количество не отличалось от уровня у животных группы виварийного контроля (рис. 4Б). У некоторых животных

наблюдалось также увеличение интенсивности выявления фрагментов ретикулярных волокон. Однако это не имело столь выраженный характер, обнаруженный у животных в группе космического полета. Примечательно, что состояние ретикулярных волокон в мышечной оболочке не подвергалось существенным изменениям (см. рис. 3Б). Количество волокнистого компонента в толстой кишке практически не менялось как после завершения модельного эксперимента, так и через 7 дней пребывания в условиях имитации реадaptации (см. табл. 2).

Обсуждение

Приступая к обсуждению полученных результатов, хотелось бы отметить, что роль измененной гравитации в формировании морфологических эквивалентов реакции организма длительное время является предметом многочисленных научных дискуссий [16–22]. Полученные данные в выполненной работе согласуются с результатами исследования органов пищеварительной системы монгольских песчанок, побывавших в условиях 12-суточного космического полета на КА «Фотон-М3» [1–3]. Интраоргannую соединительную ткань можно рассматривать в качестве гравитационно-зависимой системы, в значительной степени определяющей специфику развития морфофункциональных изменений других компонентов органов в условиях орбитального полета [1–3].

Как и у монгольских песчанок, полученные данные в эксперименте на мышцах линии C57BL/6N свидетельствуют об интенсивном адаптивном remodelировании внеклеточного матрикса соединительной ткани пищеварительного тракта в условиях космического полета, которое может быть опосредовано снижением эффективности фибриллогенеза и нарушением процессов восстановления межклеточного вещества. С данным предположением также согласуются результаты эмбриологического эксперимента на орбитальной станции «Мир» с птенцами японского перепела, показавшего слабое развитие соединительной ткани стромы желудочно-кишечного тракта в условиях невесомости, в том числе более рыхлое расположение волокон у эмбрионов и птенцов [23].

Среди основополагающих причин изменения гистоархитектоники и тинкториальных свойств волокнистого компонента внеклеточного матрикса соединительной ткани изученных органов можно предположить особенности состояния аморфного компонента и кислотно-щелочного равновесия, формирующиеся во время космического полета. При этом изменение биосинтеза коллагеновых белков и фибриллогенеза в конечном итоге может отражаться на свойствах как отдельных ретикулярных волокон, так и организуемых ими пространственных структур – петель, сетей и т.д. Особое значение это приобретает для эндомизия мышечной оболочки желудка и кишечника. Полученные результаты

показывают высокий потенциал волокнистых элементов соединительной ткани к процессам реадaptации после возвращения животных из космического полета. Однако, судя по морфологическим признакам, их нельзя считать завершенными на 7-е сутки послеполетного периода.

В условиях невесомости состояние соединительной ткани органов пищеварительной системы подвергается характерным структурно-функциональным перестройкам, отражающим как адаптивные, так и альтеративные гравитационно-индуцированные процессы. Признаки усиления взаимодействия селективных красителей с коллагеновыми белками могут быть свидетельством деполимеризации волокнистых структур, приводящей к высвобождению значительного числа реакционно-способных групп. Это позволяет допустить наличие либо прямых эффектов космического излучения на сшивки аминокислот в молекулах коллагена, либо явлений дезорганизации волокнистых структур в результате развития трофических нарушений. Кроме того, нельзя исключить влияние матриксных металлопротеиназ, функционирование которых может активироваться в условиях гравитационной разгрузки, в том числе под влиянием протеаз тучных клеток [32, 33]. В частности, биоэффекты космической радиации были показаны в эксперименте на культуре человеческих фибробластов, экспонированных в течение 14 дней на борту МКС [24]. Следует учесть, что в условиях орбитального полета в силу развития гемодинамических изменений функционирование соединительной ткани органов пищеварительной системы проходит в среде с другими характеристиками. Очевидно, что под влиянием невесомости уменьшение эффективности экстрацеллюлярной сборки волокон в соединительной ткани обусловлено существенной перестройкой микросреды в аморфном компоненте интерстиция: изменением уровня pH, содержанием гиалуронана, других гликозаминогликанов, протеинов, воды и т.д. Фибриллогенез коллагена в экстрацеллюлярном матриксе сопровождается агрегацией молекул в надмолекулярные структуры: протофибриллы, микрофибриллы, фибриллы и волокна [14]. В начальной стадии формирования волокнистой фазы интерстиция молекулы тропоколлагена образуют перичеллюлярные скопления (мезофазы), в которых между молекулами имеется расстояние, заполненное жидкостью. Данное жидкокристаллическое состояние начального этапа формирования волокна получило название тактоида [14]. Молекулы тропоколлагена занимают в тактоидах энергетически выгодную позицию по отношению друг к другу, а форма молекул принимает участие в стабилизации этого состояния вместе с действием электростатических сил, энергией молекулярно-кинетического движения и влиянием окружающей жидкой фазы. Для инициации начала процесса образования надмолекулярных агрегатов коллагена необходимо сближение молекул тропоколлагена до определенного расстояния, что требует уменьшения объема водной среды между ними. Это достигается либо в резуль-

тате повышения концентрации молекул тропоколлагена путем возрастания клеточной секреции, либо за счет увеличения либерализации во внеклеточное пространство молекул гликозаминогликанов, способных взаимодействовать с водой из тактоидов по осмотическому механизму. Таким образом, инициируется сборка протофибрилл из молекул тропоколлагена. Далее образуются микрофибриллы, фибриллы волокна либо коллагеновые пучки. Однако для успешного формирования коллагенового волокна необходимо соблюдение четко определенных условий, которые зависят от содержания воды, концентрации тропоколлагена, осмотического давления, температуры, ионной силы, pH и многих других факторов. Более того, даже при достижении необходимых условий эффект волокнообразования будет зависеть от количества протеогликанов, ионов-комплексобразователей, аденозинтрифосфатов, аскорбиновой кислоты, ферментов и т.д. [14]. Не вызывает сомнения, что в невесомости процессы волокнообразования происходят в иных условиях специфического тканевого микроокружения по сравнению с наземными. Вот почему, видимо, в орбитальном полете процессы физиологической регенерации коллагеновых волокон не могут реализовываться в полном объеме, поскольку последствия венозного застоя в органах пищеварительной системы сопровождаются модификацией параметров интегративно-буферной метаболической среды.

Более того, в условиях невесомости, видимо, получает активное развитие процесс ремоделирования или адаптации стромы органа. При этом большое значение могут иметь процессы дезорганизации коллагеновых волокон вследствие как формирования определенных трофических нарушений, так и снятия статической нагрузки, имеющей место в условиях земной гравитации. Таким образом, процессы ускоренной редукции в совокупности с замедлением новообразования волокон приводят к уменьшению объема волокнистых структур в интерстиции органов пищеварительной системы в условиях невесомости.

Динамика содержания волокнистого компонента внеклеточного матрикса в стенке органов пищеварительной системы в условиях космического полета выражается главным образом процессами редукции, снижающими интегративную роль внеклеточной фазы соединительной ткани органов желудочно-кишечного тракта. Процессы ускоренного лизиса волокнистых структур в совокупности с замедлением образования вызывают снижение их объема в интерстиции желудка и кишечника, что можно считать одним из проявлений ремоделирования межклеточного матрикса соединительной ткани в соответствии с достижением состояния адаптационной, или «космической», нормы [25]. В желудке (за исключением собственной пластинки слизистой оболочки) и кишечнике невесомость вызывала редукцию волокнистой фазы соединительной ткани, что сопровождалось снижением морфометрических показателей их структур, в том числе мышечной оболочки.

Уменьшение представительства ретикулярных волокон в стенке желудка и кишечника коррелировало с результатами морфометрического анализа [2]. Это позволяет предположить, что показанные морфологические изменения интерстиция, в первую очередь связанные с потерей волокнистых коллагенов мышечной оболочкой, могут оказывать влияние на ослабление моторной функции желудочно-кишечного тракта, отмеченного в ряде исследований, в том числе проведенных на борту орбитальных станций [26–29].

Полученные результаты о состоянии соединительнотканых структур в невесомости указывают на то, что клетка и окружающий ее экстрацеллюлярный матрикс представляют собой единое образование с весьма высокой способностью к детекции уровня силы тяжести в различных условиях среды обитания. Это подчеркивает существование клетки в комплексе с другими структурными компонентами специфического тканевого микроокружения как цельного мобильного образования, обладающего широкими возможностями для реализации адаптивных реакций под влиянием микрогравитации. Полученные данные об изменении структуры и обмена коллагеновых волокнистых структур экстрацеллюлярного матрикса соединительной ткани желудка и кишечника мышей и монгольских песчанок в результате длительного полета животных на околоземной орбите свидетельствуют о возможности аналогичных изменений в других органах, в том числе в сосудах.

Состояние межклеточного вещества соединительной ткани различных органов желудочно-кишечного тракта после космического полета или содержания в условиях наземного моделирования физиологических эффектов невесомости, судя по ряду проведенных экспериментальных работ, тесно связано с характеристиками популяции тучных клеток [30, 31]. При этом особенно важной представляется активная секреция протеаз – трипазы и химазы, способных активировать матриксные металлопротеиназы и, как следствие, ускорение деградации коллагеновых волокон [32, 33]. Способность тучных клеток к миграции во всех слоях стенки полых органов и активной секреции обуславливает возможность их активного участия в ремоделировании стромы желудка и кишечника во время космического полета.

Таким образом, коллагеновые волокнистые структуры внеклеточного матрикса органов желудочно-кишечного тракта можно рассматривать в качестве системы с выраженной грависенситивностью, состояние которой будет определять адекватность процессов ремоделирования в условиях отсутствия земной гравитации и целостность адаптивных реакций органов пищеварительной системы. Данный тезис ставит новые задачи в космической гастроэнтерологии, связанные с системой профилактики неблагоприятного действия невесомости на органы пищеварительной системы.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Сведения об авторах

Атякшин Дмитрий Андреевич (Atiakshin Dmitrii A.) – доктор медицинских наук, доцент кафедры гистологии, директор Научно-исследовательского института экспериментальной биологии и медицины ФГБОУ ВО «Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко» Минздрава России (Воронеж, Россия)

E-mail: earth-mars38@yandex.ru

<https://orcid.org/0000-0002-8347-4556>

Алексеева Наталия Тимофеевна (Alexeeva Natalia T.) – доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой нормальной анатомии человека ФГБОУ ВО «Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко» Минздрава России (Воронеж, Россия)

E-mail: alexeevant@list.ru

<https://orcid.org/0000-0003-1510-8543>

Клочкова Светлана Валерьевна (Klochkova Svetlana V.) – доктор медицинских наук, профессор кафедры анатомии человека ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский университет) (Москва, Россия)

E-mail: swetlana.chava@yandex.ru

<https://orcid.org/0000-0003-2041-7607>

Никитюк Дмитрий Борисович (Nikityuk Dmitriy B.) – член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук, профессор, заведующий лабораторией спортивной антропологии и нутрициологии, директор ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии», профессор кафедры анатомии человека ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский университет) (Москва, Россия)

E-mail: dimitrynik@mail.ru

<https://orcid.org/0000-0002-2259-1222>

Литература

1. Атякшин Д.А., Быков Э.Г. Ретикулярные волокна интерстиция органов пищеварительной системы монгольских песчанок после 12-суточного орбитального полета на КА «Фотон-М3» // Журн. анат. и гистопатол. 2013. Т. 2, № 3. С. 14–21.
2. Атякшин Д.А., Быков Э.Г. Морфологические изменения стенки желудка монгольских песчанок после 12-суточного орбитального полета на космическом аппарате «Фотон-М3» // Авиакосм. и экол. мед. 2012. Т. 46, № 5. С. 26–22.

3. Атякшин Д.А., Быков Э.Г., Ильин Е.А., Пашков А.Н. Состояние интерстиция тощей кишки монгольских песчанок после полета на космическом аппарате «Фотон-М3» // *Авиакосм. и экол. мед.* 2012. Т. 46, № 3. С. 8–13.
4. Сычев В.Н., Ильин Е.А., Ярманова Е.Н. и др. Проект «Бион-М1»: общая характеристика и предварительные итоги // *Авиакосм. и экол. мед.* 2014. Т. 48, № 1. С. 7–14.
5. Андреев-Андрьевский А.А., Шенкман Б.С., Попова А.С. и др. Экспериментальные исследования на мышах по программе полета биоспутника «Бион-М1» // *Авиакосм. и экол. мед.* 2014. Т. 48, № 1. С. 14–27.
6. Космический научный проект «Бион-М1»: медико-биологические эксперименты и исследования / под ред. А.И. Григорьева. М.: ГНЦ РФ-ИМБП РАН, 2016. 624 с.
7. Romeis – *Mikroskopische Technik*. Springer Spektrum, 2010. 556 с.
8. Атякшин Д.А., Бухвалов И.Б., Тиманн М. Гистохимия ферментов // *Методическое пособие для студентов, ординаторов и аспирантов медицинских и фармацевтических вузов. Воронеж: Научная книга, 2016. 122 с.*
9. *Микроскопическая техника: руководство* / под ред. Д.С. Саркисова, Ю.Л. Перова. М.: Медицина, 1996. 544 с.
10. Adachi E., Hayashi T., Hashimoto P.H. A comparison of the immunofluorescent localization of collagen types I, III, and V with the distribution of reticular fibers on the same liver sections of the snow monkey (*Macaca fasciata*) // *Cell Tissue Res.* 1991. Vol. 264, N 1. P. 1–8.
11. Junqueira L.C., Montes G.S., Martins J.E., Joazeiro P.P. Dermal collagen distribution. A histochemical and ultrastructural study // *Histochemistry.* 1983. Vol. 79, N 3. P. 397–403.
12. Fakoya F.A. Reticulinfibres in the tunica albuginea and peritubular tissue of seminiferous tubules of adult male Wistar rats // *Acta Histochem.* 2002. Vol. 104, N 3. P. 279–283.
13. Ushiki T. Collagen fibers, reticular fibers and elastic fibers. A comprehensive understanding from a morphological viewpoint // *Arch. Histol. Cytol.* 2002. Vol. 65, N 2. P. 109–126.
14. Омеляненко Н.П., Слуцкий Л.И. Соединительная ткань (гистофизиология и биохимия) / под ред. С.П. Миронова. М.: Известия, 2009. Т. 1. 380 с.
15. Автандилов Г.Г. *Медицинская морфометрия: руководство*. М.: Медицина, 1990. 384 с.
16. Zhong G.H., Ling S.K., Li Y.X. Mechanism of cardiac atrophy under weightlessness/simulated weightlessness // *Sheng Li Xue Bao.* 2016. Vol. 68, N 2. P. 194–200.
17. Ильин Е.А., Капланский А.С., Савина Е.А. Эксперименты с крысами на биоспутниках «Космос»: морфологические и биохимические исследования // *Косм. биол. и авиакосм. мед.* 1989. Т. 23, № 1. С. 4–9.
18. Jin M., Zhang H., Zhao K., Xu C., Shao D., Huang Q. et al. Responses of Intestinal Mucosal barrier functions of rats to simulated weightlessness // *Front. Physiol.* 2018. Vol. 729. P. 1–13.
19. Chen Z., Luo Q., Yuan L., Song G. Microgravity directs stem cell differentiation // *Histol. Histopathol.* 2017. Vol. 32, N 2. P. 99–106.
20. Capellesso R., Nicole L., Guido A., Pizzol D. Spaceflight osteoporosis: current state and future perspective // *Endocr. Regul.* 2015. Vol. 49, N 4. P. 231–239.
21. Серова Л.В. Приспособительные возможности млекопитающих в условиях невесомости // *Авиакосм. и экол. мед.* 1996. Т. 30, № 2. С. 5–10.
22. Blaber E., Sato K., Almeida E.A. Stem cell health and tissue regeneration in microgravity // *Stem Cells Dev.* 2014. Vol. 23., suppl. 1. P. 73–78.
23. Гурьева Т.С., Дадашева О.А., Медникова Е.И. и др. Гистогенез внутренних органов эмбрионов японского перепела, развившихся в условиях невесомости // *Авиакосм. и экол. мед.* 2009. Т. 43, № 6. С. 8–13.
24. Lu T. Detection of DNA damage by space radiation in human fibroblasts flown on the International Space Station // *Life Sci. Space Res. (Amst.)*. 2017. Vol. 12. P. 24–31.
25. Пестов И.Д. Управление процессами естественной адаптации в космических полетах // *Организм и окружающая среда: адаптация к экстремальным условиям: материалы Всероссийской конференции с международным участием*. М., 2003. С. 272–273.
26. Смирнов К.В. и др. Реакция пищеварительной системы на воздействие факторов космического полета // *Космические полеты на кораблях «Союз». Биомедицинские исследования*. М.: Наука, 1976. 416 с.
27. Смирнов К.В., Уголев А.М. *Пищеварение и всасывание // Человек в космическом полете. Т. 3. Космическая биология и медицина* / под ред. В.В. Антипова, А.И. Григорьева, К.Л. Хантун. М.: Наука, 1997. Т. 3, кн. 1. С. 357–401.
28. Хантун К.Л. *Кратковременные космические полеты // Человек в космическом полете. Т. 3. Космическая биология и медицина* / под ред. В.В. Антипова, А.И. Григорьева, К.Л. Хантун. М.: Наука, 1997. Т. 3, кн. 2. С. 354–367.
29. Harm D.L. Changes in gastric myoelectric activity during space flight // *Dig. Dis. Sci.* 2002. Vol. 47, N 8. P. 1737–1745.
30. Атякшин Д.А., Быков Э.Г. Популяционные характеристики слизистых тканевых базофилов тощей кишки монгольских песчанок после 12-суточного орбитального полета на космическом аппарате «ФОТОН-М3» // *Авиакосм. и экол. мед.* 2013. Т. 47, № 6. С. 17–24.
31. Бурцева А.С., Алексеева Н.Т., Атякшин Д.А. Морфологические эквиваленты функциональной активности тучных клеток тощей кишки монгольских песчанок после моделирования эффектов невесомости // *Журн. анат. и гистопатол.* 2015. Т. 4, № 4 (16). С. 26–33.
32. Atiakshin D.A., Buchwalow I.B., Samoilova V.E., Tiemann M. Tryptase as a polyfunctional component of mast cells // *Histochem. Cell Biol.* 2018. Vol. 149, N 5. P. 461–477.
33. Атякшин Д.А., Никитюк Д.Б., Клочкова С.В., Алексеева Н.Т., Бурцева А.С. Участие тучных клеток в адаптации желудка монгольских песчанок к гравитационному фактору // *Журн. анат. и гистопатол.* 2018. Т. 7, № 1. С. 14–26.

References

1. Atiakshin D.A., Bykov E.G. Interstitium reticular fibers of the digestive system of Mongolian gerbils after 12-day orbital flight on the spacecraft «Foton-M3». *Zhurnal anatomii i gistopatologii* [Anatomy and Histopathology Journal]. 2013; 2 (3): 14–21. (in Russian)
2. Atiakshin D.A., Bykov E.G. Morphological changes in gastric wall of Mongolian gerbils following the 12-day orbital flight aboard Foton-M3. *Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina* [Aerospace and Environmental Medicine]. 2012; 46 (5): 26–33. (in Russian)
3. Atiakshin D.A., Bykov E.G., Il'yin E.A., Pashkov A.N. Jejunum interstitium in Mongolian gerbils after the flight on spacecraft Fotom-M3. *Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina* [Aerospace and Environmental Medicine]. 2012; 46 (3): 8–13. (in Russian)
4. Sychev V.N., Il'yin E.A., Yarmanova E.N., et al. The Bion-M1 Project: overview and first results. *Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina* [Aerospace and Environmental Medicine]. 2014; 48 (1): 7–14. (in Russian)
5. Andreev-Andrievskiy A.A., Shenkman B.S., Popova A.S., et al. Experimental studies with mice on the program of the biosatellite Bion-M1 mission. *Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina* [Aerospace and Environmental Medicine]. 2014; 48 (1): 14–27. (in Russian)

6. Space scientific project «Bion-M1»: medical and biological experiments and research. In: A.I. Grigoriev (ed.). Moscow: GNTS RF-IMBP RAN, 2016: 624 p. (in Russian)
7. Romeis – Mikroskopische Technik. Springer Spektrum, 2010: 556 c.
8. Atiakshin D.A., Bukhvalov I.B., Timann M. Enzyme histochemistry. Methodological guide for students, residents and postgraduates of medical and pharmaceutical universities. Voronezh: Nauchnaya kniga. 2016: 122 p. (in Russian)
9. Microscopic technique: manual. In: D.S. Sarkisov, Yu.L. Perov (eds). Moscow: Meditsina, 1996: 544 p. (in Russian)
10. Adachi E., Hayashi T., Hashimoto P.H. A comparison of the immunofluorescent localization of collagen types I, III, and V with the distribution of reticular fibers on the same liver sections of the snow monkey (*Macaca fasciata*). *Cell Tissue Res.* 1991; 264 (1): 1–8.
11. Junqueira L.C., Montes G.S., Martins J.E., Joazeiro P.P. Dermal collagen distribution. A histochemical and ultrastructural study. *Histochemistry.* 1983; 79 (3): 397–403.
12. Fakoya F.A. Reticulinfibres in the tunica albuginea and peritubular tissue of seminiferous tubules of adult male Wistar rats. *Acta Histochem.* 2002; 104 (3): 279–83.
13. Ushiki T. Collagen fibers, reticular fibers and elastic fibers. A comprehensive understanding from a morphological viewpoint. *Arch Histol Cytol.* 2002; 65 (2): 109–26.
14. Connective tissue (histophysiology and biochemistry). In: S.P. Mironov. Moscow: Izvestiya, 2009; (1): 380 p. (in Russian)
15. Avtandilov G.G. Medical morphometry: a guide. Moscow: Meditsina, 1990: 384 p. (in Russian)
16. Zhong G.H., Ling S.K., Li Y.X. Mechanism of cardiac atrophy under weightlessness/simulated weightlessness. *Sheng Li Xue Bao.* 2016; 68 (2): 194–200.
17. Il'yin E.A., Kaplanskiy A.S., Savina E.A. Experiments with rats on «Cosmos» biosatellites: morphological and biochemical studies. *Kosmicheskaya biologiya i aviakosmicheskaya meditsina [Space Biology and Aerospace Medicine].* 1989; 23 (1): 4–9. (in Russian)
18. Jin M., Zhang H., Zhao K., Xu C., Shao D., Huang Q., et al. Responses of Intestinal Mucosal barrier functions of rats to simulated weightlessness. *Front Physiol.* 2018; 729: 1–13.
19. Chen Z., Luo Q., Yuan L., Song G. Microgravity directs stem cell differentiation. *Histol Histopathol.* 2017; 32 (2): 99–106.
20. Capellesso R., Nicole L., Guido A., Pizzol D. Spaceflight osteoporosis: current state and future perspective. *Endocr Regul.* 2015; 49 (4): 231–9.
21. Serova L.V. Adaptive capabilities of mammals in weightlessness. *Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina [Aerospace and Environmental Medicine].* 1996; 30 (2): 5–10. (in Russian)
22. Blaber E., Sato K., Almeida E.A. Stem cell health and tissue regeneration in microgravity. *Stem Cells Dev.* 2014; 23 (1): 73–78.
23. Gurieva T.S., Dadasheva O.A., Mednikova E.I., et al. Histogeny of the visceral organs of embryonic Japanese quails developed in the micro-g environment. *Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina [Aerospace and Environmental Medicine].* 2009; 43 (6): 8–13. (in Russian)
24. Lu T. Detection of DNA damage by space radiation in human fibroblasts flown on the International Space Station. *Life Sci Space Res (Amst).* 2017; 12: 24–31.
25. Pestov I.D. Management of the processes of natural adaptation to space flight. In: *Organizm i okruzhayushchaya sreda: adaptatsiya k ekstremal'nyim usloviyam: materialy rossiyskoy konferentsii s mezhduнародnym uchastiem [Organism and Environment: Adaptation to Extreme Conditions: Proceedings of the Russian Conference with International Participation].* Moscow, 2003: 272–3. (in Russian)
26. Smirnov K.V., et al. The reaction of the digestive system to the effects of space flight factors. *Space flights on the ships «Soyuz». Biomedical research.* Moscow: Nauka, 1976: 416 p. (in Russian)
27. Smirnov K.V., Ugolev A.M. Digestion and absorption. In: V.V. Antipov, A.I. Grigoriev, K.L. Khantun (eds). *Man in Space Flight. Vol. 3. Space Biology and Medicine.* Moscow: Nauka, 1997; (3, book 1): 357–401. (in Russian)
28. Khantun K.L. Short-term space flights. In: V.V. Antipov, A.I. Grigoriev, K.L. Khantun (eds). *Man in Space Flight. Vol. 3. Space Biology and Medicine.* Moscow: Nauka, 1997. (3, book 2): 354–67. (in Russian)
29. Harm D.L. Changes in gastric myoelectric activity during space flight. *Dig Dis Sci.* 2002; 47 (8): 1737–45.
30. Atiakshin D.A., Bykov E.G. Population characteristics of mucous tissue basophil in the mongolian gerbil's jejunum following the 12-day orbital flight onboard space platform «FOTON-M3». *Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina [Aerospace and Environmental Medicine].* 2013; 47 (6): 17–24. (in Russian)
31. Burtseva A.S., Alexeeva N.T., Atiakshin D.A. Morphological equivalents of the functional activity of jejunum mast cells of Mongolian gerbils after weightlessness simulation. *Zhurnal anatomii i gistopatologii [Anatomy and Histopathology Journal].* 2015; 4 (4): 26–33. (in Russian)
32. Atiakshin D.A., Buchwalow I.B., SamoiloVA V.E., Tiemann M. Tryptase as a polyfunctional component of mast cells. *Histochem Cell Biol.* 2018; 149 (5): 461–77.
33. Atiakshin D.A., Nikityuk D.B., Klochkova S.V., Alexeeva N.T., Burtseva A.S. The participation of mast cells in adaptation of the stomach of Mongolian gerbils to the gravitational factor. *Zhurnal anatomii i gistopatologii [Anatomy and Histopathology Journal].* 2018; 7 (1): 14–26. (in Russian)

Для корреспонденции

Пучкова Людмила Валентиновна – доктор биологических наук, профессор биохимии, руководитель лаборатории метаболизма микроэлементов ФГАОУ ВО «Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики», ведущий научный сотрудник отдела молекулярной генетики ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», профессор кафедры биофизики ФГАОУ ВО «Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого»
 Адрес: 197101, г. Санкт-Петербург, Кронверкский пр., д. 49
 Телефон: (812) 552-79-64
 E-mail: puchkova.lv@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0003-0958-2812>

Ильичева Е.Ю.¹⁻³, Канаш Л.А.¹, Тимирова З.Р.¹, Цымбаленко Н.В.², Орлов Ю.А.¹,
 Ключева Н.Н.², Скоморохова Е.А.¹, Денисенко А.Д.², Пучкова Л.В.¹⁻³

Особенности метаболизма меди у крыс, содержащихся на низко- или высококалорийном рационе

The changes of copper metabolism in rats fed with low- or high-calorie ration

Ilyechova E.Yu.¹⁻³, Kanash L.A.¹, Timirova Z.R.¹, Tsymbalenko N.V.², Orlov Yu.A.¹, Klyuyeva N.N.², Skomorokhova E.A.¹, Denisenko A.D.², Puchkova L.V.¹⁻³

- ¹ ФГАОУ ВО «Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики», Санкт-Петербург, Россия
 - ² ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия
 - ³ ФГАОУ ВО «Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого», Санкт-Петербург, Россия
- ¹ Peter the Great St. Petersburg Polytechnic University, St. Petersburg, Russia
² Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russia
³ Peter the Great St. Petersburg Polytechnic University, St. Petersburg, Russia

Медь относится к эссенциальным микронутриентам, так как является каталитическим и структурным кофактором ферментов, контролирующих базовые процессы во всех клетках, а также участником сигнальных путей. Токсические свойства ионов меди, обусловленные их химической природой, проявляются при нарушении ее гомеостаза в клетках и в целом организме.

Цель работы – выявление связи между калорийностью корма, статусом меди в крови, метаболизмом меди в печени и белой жировой ткани (БЖТ) крыс.

Материал и методы. Работа выполнена на 3 группах (в каждой n=5) белых беспородных крыс (средняя масса тела 220±15 г), содержащихся в течение 75 дней на стандартном, низкокалорийном (НКР) или высококалорийном (высокожировом) (ВКР) рационах. Концентрацию мРНК определяли методом

Для цитирования: Ильичева Е.Ю., Канаш Л.А., Тимирова З.Р., Цымбаленко Н.В., Орлов Ю.А., Ключева Н.Н., Скоморохова Е.А. Денисенко А.Д., Пучкова Л.В. Особенности метаболизма меди у крыс, содержащихся на низко- или высококалорийном рационе // Вопр. питания. 2019. Т. 88, № 1. С. 41–48. doi: 10.24411/0042-8833-2019-10004.

Статья поступила в редакцию 07.08.2018. Принята в печать 27.12.2018.

For citation: Ilyechova E.Yu., Kanash L.A., Timirova Z.R., Tsymbalenko N.V., Orlov Yu.A., Klyuyeva N.N., Skomorokhova E.A., Denisenko A.D., Puchkova L.V. The changes of copper metabolism in rats fed with low- or high-calorie ration. Voprosy pitaniia [Problems of Nutrition]. 2019; 88 (1): 41–48. doi: 10.24411/0042-8833-2019-10004. (in Russian)

Received 07.08.2018. Accepted for publication 27.12.2018.

полимеразной цепной реакции в реальном времени с обратной транскрипцией. Содержание церулоплазмينا (ЦП) определяли методом иммуноэлектрофореза, иммуноблоттинга и по оксидазной активности. Концентрацию меди измеряли методом атомно-абсорбционной спектроскопии.

Результаты и обсуждение. Показано, что в сыворотке крови крыс, содержащихся на НКР, увеличивался уровень триглицеридов, а при ВКР снижались основные показатели статуса меди (концентрация атомной меди, уровень холо-ЦП и содержание иммунореактивного ЦП). В печени ни один из рационов не влиял на уровень экспрессии гена ЦП. В клетках подкожной жировой клетчатки при НКР достоверно повышалась концентрация обеих сплайс-форм ЦП-мРНК. В висцеральной жировой клетчатке при НКР концентрация ЦП-мРНК, кодирующей секреторный ЦП, не менялась, но содержание мРНК, кодирующей ЦП, связанный с мембраной, по сравнению с контрольной группой падало почти до нуля. При ВКР достоверных изменений в уровне обеих сплайс-форм ЦП-мРНК не было. Обсуждаются особенности метаболизма меди в клетках печени и БЖТ, обусловленные калорийностью корма.

Заключение. У крыс связь между метаболизмом меди и калорийностью рациона в печени проявляется в изменении экспрессии гена ЦП на уровне трансляции, а в БЖТ – на уровне транскрипции и посттранскрипционного созревания пре-мРНК этого гена.

Ключевые слова: метаболизм меди, церулоплазмин, экспрессия гена церулоплазмينا, статус меди сыворотки крови, белая жировая ткань, низко- и высококалорийный рацион

Copper is an essential micronutrient, because it is a catalytic and structural cofactor of enzymes that control the basic processes in all cells, and moreover it is a participant in signaling pathways. The toxic properties of copper ions, due to their chemical nature, are manifested when the cellular and/or organism systems for copper homeostasis are disturbed.

Aim of the work was to study the relationships between the diet caloric and the copper status in the blood serum, the copper metabolism in the liver and white adipose tissue (WAT) of rats.

Material and methods. The work was performed on three groups (each n=5) of white outbred rats (average body weight 220±15 g), kept for 75 days on a standard, low-calorie (LCR) or high-calorie (high-fat) (HCR) rations. mRNA concentration was measured by qRT-PCR technology. The ceruloplasmin (CP) content was determined by the method of immune electrophoresis, immune blotting and by oxidase activity. The copper concentration was measured by atomic absorption spectrometry.

Results and discussion. It has been shown that serum level of triglycerides increased in rats fed LCR. The main indicators of copper status (concentration of atomic copper, the level of holo-CP, and the content of immunoreactive CP) decreased in rats fed HCR. In the liver, none of the diets affected Cp gene expression level. In the cells of the subcutaneous fatty tissue, the concentration of both splice-forms of CP-mRNA significantly increased in rats fed LCR. In visceral adipose tissue the concentration of Cp-mRNA encoding the secretory CP did not change in LCR-rats, but the level of mRNA, encoding CP anchored to plasma membrane, dropped to almost zero as compared to the control group. There was no significant change in the level of both splice-forms of CP-mRNA in HCR-rats. The features of copper metabolism in the cells of the liver and WAT, due to the caloric content of ration, have been discussed.

Conclusions. In rats' liver, the link between copper metabolism and calorie intake is manifested in changes in the expression of the CP gene at the translation level, and in white adipose tissue – at the level of transcription and post-transcriptional maturation of the pre-mRNA of this gene.

Keywords: copper metabolism, ceruloplasmin gene expression, serum copper status indexes, white adipose tissue, copper metabolism, low and high-calorie rations

В последние 20 лет физиологическая роль белой жировой ткани (БЖТ), которая долго рассматривалась только как инертное депо липидов, важное для поддержания энергетического баланса, в корне пересматривается. Формируется концепция, согласно которой БЖТ

является анатомически гетерогенным эндокринным органом, вовлеченным, помимо терморегуляции, в регуляцию углеводного и липидного обмена, а также в контроль над воспалительным ответом и чувствительностью к инсулину [1]. Недавно было показано, что церулоплазмин (ЦП),

основной медьсодержащий белок крови печеночного происхождения, который включает 95–96% внеклеточной меди [2, 3], является и адипокином [4, 5]. ЦП относится к полифункциональным белкам категории «moonlighting» [2], основными функциями которого являются окисление Fe(II) → Fe(III), требуемое для переноса железа через мембраны, регуляция уровня катехоламинов и транспорт меди к клеткам негепатоцитарных рядов. Показано, что клетки БЖТ продуцируют ЦП на низком уровне, однако синтез и секреция ЦП в кровотоке многократно повышаются в клетках опухолей, развитие которых связано с ожирением [4, 5]. При хроническом дефиците сывороточного холо-ЦП в клетках подкожной жировой клетчатки (ПЖК) повышается продукция ЦП-мРНК, кодирующей секреторную форму ЦП, что компенсирует дефицит холо-ЦП в крови [6, 7]. У мышей с нокаутированным геном *Atp7b* в гепатоцитах наряду с накоплением меди и снижением продукции холо-ЦП (фенотипические проявления мутаций в этом гене, болезнь Вильсона) также наблюдали нарушение липидного обмена [8]. Приведенные факты свидетельствуют о существовании межорганной системы, направленной на поддержание гомеостаза меди в организме, в которой наряду с печенью – центральным органом, контролирующим баланс меди, принимает активное участие и БЖТ. Ранее было показано, что повышение концентрации меди в корме млекопитающих, принадлежащих к различным отрядам (жвачные [9], зайцевые [10], грызуны [11], нежвачные парнокопытные [12]), изменяет липидный метаболизм в различных органах, в том числе и в БЖТ. Возможно, это связано с тем, что медь контролирует липолиз через активацию сАМР-зависимого сигнального пути [13]. Многие стороны систем, обеспечивающих безопасный транспорт и утилизацию токсичных и одновременно жизненно необходимых ионов меди, известны [14, 15]. Общеизвестно, что с нарушением гомеостаза меди связано развитие сердечно-сосудистых, нейродегенеративных, онкологических заболеваний и метаболического синдрома [5, 16]. Сведения о влиянии липидного обмена на метаболизм меди в БЖТ отсутствуют.

Цель работы – выявление связи между калорийностью корма, статусом меди в крови, метаболизмом меди в печени и БЖТ крыс.

Представленная работа фокусируется на экспрессии гена ЦП в клетках печени и БЖТ у крыс, содержащихся на низко- или высококалорийном рационе (НКР и ВКР соответственно). Поскольку ПЖК и висцеральная жировая клетчатка (ВЖК) различаются по многим параметрам (анатомическому строению, клеточному составу, паттернами экспрессирующихся генов, способностью утилизировать жирные кислоты, чувствительностью к инсулину, к катехоламинам и др. [5]), исследование проведено на обоих подтипах БЖТ.

Материал и методы

Животные и их содержание. Исследование было одобрено Комитетом по этике ФГБНУ «Институт экспери-

ментальной медицины» (Санкт-Петербург, Россия), который руководствовался приказом Минздравсоцразвития России от 23.08.2010 № 708н «Об утверждении Правил лабораторной практики», проведено с соблюдением Конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей, принятой Европейским союзом в 1986 г.

Работа выполнена на белых беспородных самцах крыс, приобретенных в питомнике Рапполово (Ленинградская область, Россия). Крысы адаптировались в течение 1 мес в виварии ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины». Их содержали в пластиковых клетках на древесных опилках. В помещении поддерживали 12:12-часовой цикл свет–темнота и 60% влажность. После карантина крысы (средняя масса тела 220±15 г) были разделены на 3 группы (в каждой $n=5$). Животные контрольной группы получали стандартный рацион – сухой полнорационный экструдированный комбикорм (ООО «Лабораторкорм», Россия) (СК-крысы), в котором содержалось 19% белка, 5% жиров, 4,9% клетчатки, энергетическая ценность 295 ккал/100 г. Крысы 2-й группы получали НКР (НКР-крысы) – комбикорм (ООО «Лабораторкорм», Россия) с калорийностью 195 ккал/100 г и содержанием белка 18,5%, клетчатки – 11,76%. Крысы 3-й группы получали высококалорийный рацион (ВКР-крысы) – 420 ккал/100 г, который готовили из пшенной каши и сала в соотношении 100 г сырого свиного сала на 100 г сухой крупы (масса которой после варки увеличивается в 3 раза), в готовом корме содержание сала составляло 25%. Все животные получали воду и корм без ограничения. Учет потребления корма не проводили. Крысы ежедневно получали 40–50 г корма на 1 животное, который не съедали полностью. Концентрация меди в корме составила соответственно 12,5; 20 и 9 мг/кг, т.е. со всеми рационами животные получали количество меди, соответствующее физиологической норме.

Эксперимент длился 75 дней. В течение этого времени животных взвешивали через каждые 7 дней. Крыс гильотинировали, собирали образцы тканей и крови. Кровь оставляли при комнатной температуре до образования сгустка, затем центрифугированием собирали сыворотку. Все биологические образцы хранили при -80 °С.

Тотальную рибонуклеиновую кислоту (РНК) выделяли с помощью реагента TRIzol в соответствии с рекомендациями производителя (Ambion, США). Степень чистоты препаратов РНК оценивали по отношению экстинкций A_{260}/A_{280} , которое не было ниже 1,8. Измерение проводили на спектрофотометре «NanoDrop 2000» (Thermo Scientific, США), о нативности препаратов РНК судили по соотношению зон 18S/28S рРНК, выявляемых при электрофорезе в 1,4% агарозном геле в присутствии бромистого этидия. Синтез кДНК на полученных препаратах РНК проводили с помощью обратной транскрипции. Реакционная смесь (25 мм³) содержала 500 нг тотальной РНК, 200 единиц M-MLV обратной транскриптазы, однократный буфер для обратной транскриптазы, эквимольную смесь 4 dNTP

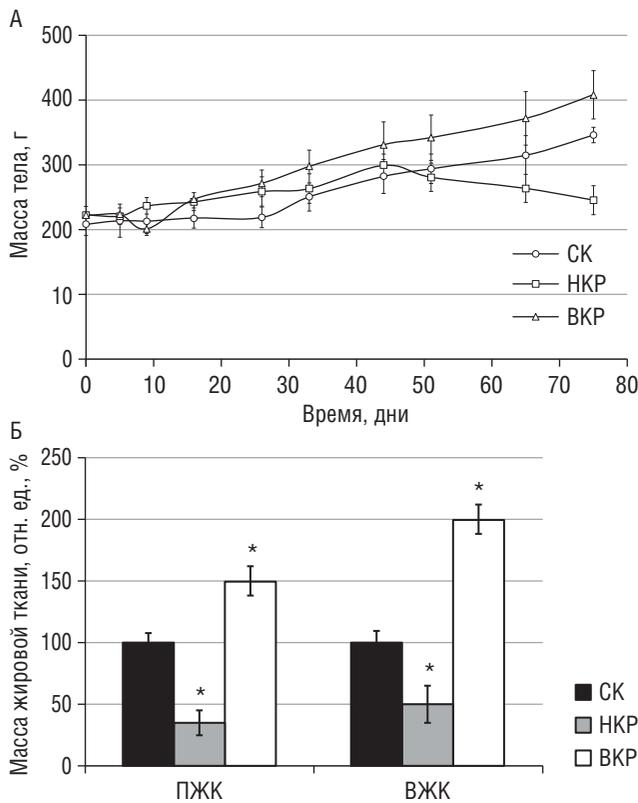


Рис. 1. Динамика массы тела (А) и изменение массы жировой ткани (Б) у крыс, содержащихся на различных рационах

* – статистически значимые ($p < 0,05$) отличия по сравнению с показателем СК-крыс. Здесь и на рис. 2, 3: расшифровка аббревиатур дана в тексте.

по 500 мкМ каждого, 0,5 мкМ случайных праймеров и 0,5 мкМ 16-членных олиго-dT в присутствии 25 единиц ингибитора РНКаз (Promega, США). Относительное и абсолютное содержание молекулярных форм ЦП-мРНК измеряли методом полимеразной цепной реакции в реальном времени на приборе CFX96TM (Bio-Rad, США) с использованием неспецифического интеркалирующего красителя EVA Green по прописи производителя («Синтол», РФ). Праймеры для ЦП-мРНК (F: ttg-ctg-ggt-aac-aga-atc-gct; R: gaa-gag-ttg-gag-aca-gtt-tag-tgg-a) и ЦП-мРНК, кодирующей ЦП, связанный с мембраной через гликозилфосфатидинозитоловый якорь (ГФИ-ЦП) (F: tac-caa-gga-gta-gcc-agg-aaa-ata-a; R: aga-ata-tagctt-ttg-agg-ggc-aaa-g), были подобраны по программе «Primer-BLAST» (NCBI, США) и изготовлены фирмой «Синтол» (Москва, Россия).

Иммуноблоттинг с антителами к высокоочищенному препарату ЦП крысы [17], определение относительного содержания холо-ЦП в геле окрашиванием ортоданизидином, измерение оксидазной активности колориметрическим методом с парафенилендиамином, количественный иммуноэлектрофорез и измерение концентрации меди методом атомно-абсорбционной спектроскопии (ZЕЕnit 650P, Analytik Jena, Германия) описаны ранее [18]. Содержание общего холестерина, триглицеридов и холестерина липопротеинов высокой плотности (ЛПВП) определяли на анализаторе «Chem Well» (Awareness Technology, США).

Статистический анализ данных проводили с применением пакета программ Statistica 8. Данные представлены как среднее \pm стандартное квадратичное отклонение. При сравнении двух групп применяли критерий Стьюдента для неравных дисперсий. Различия считали значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

За динамикой массы тела животных следили в течение всего эксперимента. На рис. 1А показано, что масса тела СК-крыс росла равномерно и к концу эксперимента увеличилась почти в 1,5 раза. Чтобы исключить влияние естественного роста крыс на результаты измерений, все нижеописанные исследования были проведены на образцах печени и БЖТ, взятых у СК-крыс в начале и в конце эксперимента. Поскольку изменений не было найдено (данные не приводятся), в работе в качестве контроля использовали СК-крыс одного возраста с НКР- и ВКР-крысами. В течение первых 2 нед масса тела крыс групп НКР и ВКР изменялась одинаково с контрольной группой (см. рис. 1А). После 3-й недели крысы в группе НКР прогрессивно теряли массу тела, а в группе ВКР набирали ее. Через 75 дней НКР-крысы отличались по массе тела от ВКР-крыс почти в 2 раза ($p < 0,05$). Для оценки изменения массы подкожных жировых отложений использовали жир, располагающийся в области бедра, внутренних жировых отложений – жир, локализованный в брюшной полости в области брыжейки. За 100% принимали изменение массы этих участков БЖТ у СК-крыс этого же возраста. Данные, приведенные на рис. 1Б, показывают, что масса подкожного жира у НКР-крыс была почти в 3 раза ниже, а у ВКР-крыс в 1,5 раза выше, чем у животных на СК. Масса висцерального жира у НКР-крыс была в 2 раза ниже, а у ВКР-крыс в 2 раза выше, чем у СК-крыс. Данные позволяют считать, что диета с высоким содержанием сала и углеводов индуцировала рост БЖТ.

Концентрация общего холестерина и холестерина, связанного с ЛПВП, в сыворотке крови крыс всех групп была примерно одинаковой (см. таблицу). У НКР-крыс повышалось содержание триглицеридов по сравнению с крысами, находившимися на стандартном или высококалорийном рационе. В обеих экспериментальных группах, но не в СК-группе наблюдали широкие индивидуальные колебания значений регистрируемых параметров.

В качестве показателей статуса меди в сыворотке крови использовали атомную концентрацию меди, а также содержание оксидазного и иммунореактивного ЦП. Данные, приведенные на рис. 2А, показывают, что концентрация меди в сыворотке крыс всех групп была одинаковой. У ВКР-крыс концентрация оксидазного ЦП, по данным колориметрических измерений с парафенилендиамином (рис. 2Б) и окрашивания гелей ортоданизидином (данные не приводятся), была снижена

Биохимические показатели экспериментальных животных

Показатель	Группа животных		
	СК	НКР	ВКР
Концентрация меди в органах, мкг/г:			
- печень	3,74±0,42	3,82±0,47	3,40±0,25
- ПЖК	0,37±0,05	0,70±0,09 (а)	0,48±0,10
- ВЖК	0,34±0,05	0,92±0,35 (а)	0,31±0,18
- почки	5,53±1,34	5,16±1,06	5,63±1,22
- легкие	1,15±0,14	1,18±0,05	1,06±0,07
- сердце	3,87±0,11	3,15±0,79	4,17±0,14
- селезенка	0,91±0,03	0,83±0,19	0,93±0,02
- мышцы	0,52±0,04	0,49±0,07	0,46±0,03
- семенники	1,10±0,20	0,94±0,18	1,22±0,17
Профиль липидов в сыворотке крови:			
- холестерин, мг/100 см ³	61,6±6,02	70,4±14,2	65,8±12,1
- триглицериды, мг/100 см ³	124,4±15,6	132,4±8,5 (б)	95,8±8,4
- холестерин ЛПВП, мг/100 см ³	27,8±2,1	30,2±3,3	27,9±2,4
- холестерин ЛПВП, %	45,3±2,7	43,6±4,6	43,3±6,8
- холестерин, не связанный с ЛПВП, мг/100 см ³	35,0±5,2	40,4±10,9	38±11,4
- холестерин, не связанный с ЛПВП, %	54,7±6,1	56,4±5,9	56,7±4,7
Концентрация ЦП-мРНК/актин-мРНК в печени, отн. ед.	1,1±0,03	0,8±0,02	0,9±0,02

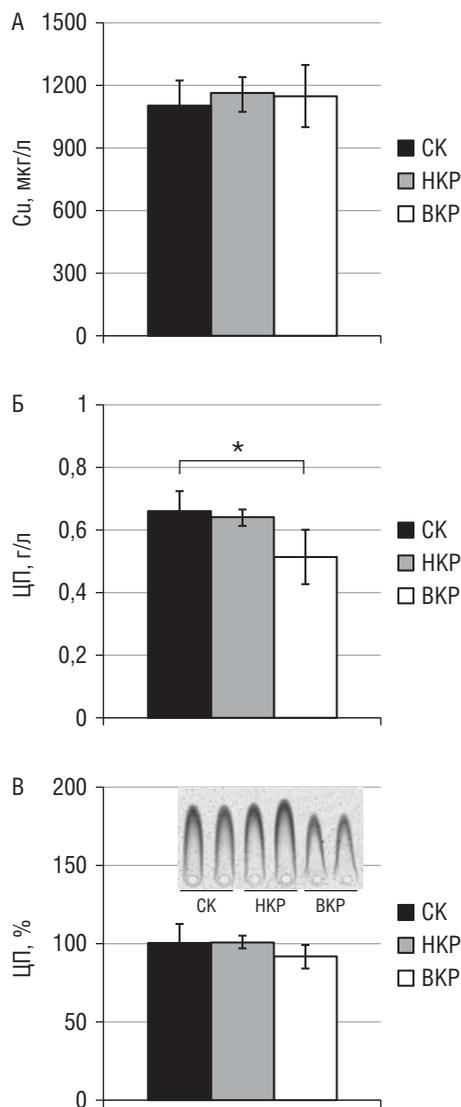
Примечание. Статистически значимые ($p < 0,05$) отличия по сравнению с показателем: а – СК-крысы; б – ВКР-крысы; расшифровка аббревиатур дана в тексте.

примерно на 30%. Содержание полипептидов ЦП, определенное методом ракетного иммуноэлектрофореза, соответствовало уровню содержания энзиматически активного ЦП (рис. 2В). Данные полностью совпадают с результатами определения относительного содержания иммунореактивного ЦП методом иммуноблоттинга (данные не приводятся). Полученные результаты позволяют заключить, что показатели статуса меди, которые в основном определяются метаболизмом меди в печени, при ВКР снижаются. При этом наблюдается несоответствие между снижением уровня ЦП и не изменяющейся концентрацией меди в сыворотке крови. Возможно, у ВКР-крысы молекула ЦП содержит больше лабильных атомов меди или в крови увеличивается содержание нецерулоплазминовой меди. Однако, чтобы понять природу этого противоречия, необходимы дополнительные исследования.

Концентрация меди у животных всех групп была измерена в печени, ПЖК, ВЖК, а также в почках, селезенке, сердце, легких, мышцах и семенниках. В печени по сравнению с СК-крысами концентрация меди у крыс обеих групп не менялась. У НКР-крысы концентрация меди повышалась в обоих подтипах БЖТ в большей степени, чем снижалась масса жировой ткани. В то же время у ВКР-крысы концентрация меди в БЖТ не менялась по сравнению с СК-крысами. В других органах, взятых в исследование, концентрация меди у НКР- и ВКР-крысы по сравнению с СК-крысами не менялась (см. таблицу).

Рис. 2. Показатели статуса меди в сыворотке крови крыс

А – концентрация меди, мкг/л; Б – концентрация церулоплазмина, измеренная с парафенилендиамином; В – содержание иммунореактивного церулоплазмина, определенного методом ракетного иммуноэлектрофореза. За 100% принято содержание церулоплазмина у крыс, получавших сухой полнорационный экструдированный комбикорм. На врезке: протоколы для 2 животных из каждой группы; * – статистическая значимость различий ($p < 0,05$).



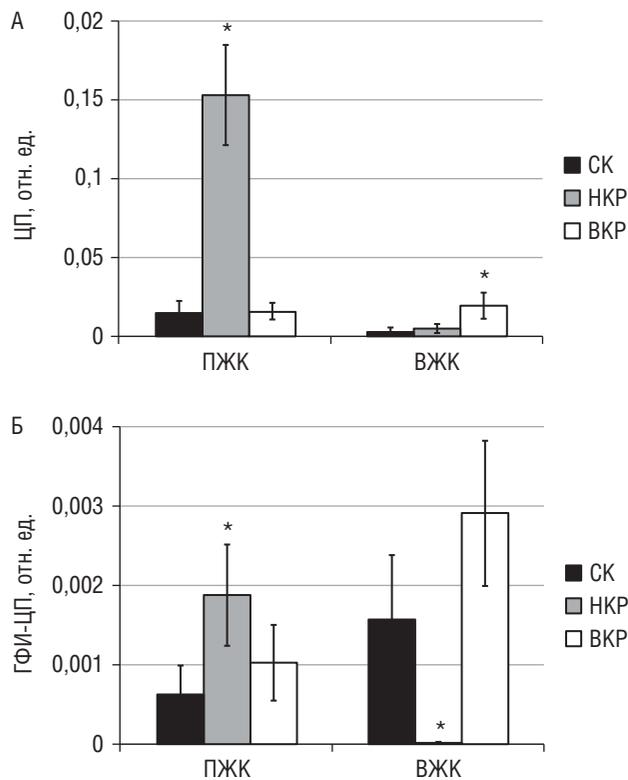


Рис. 3. Экспрессия гена церулоплазмينا в клетках белой жировой ткани

А – концентрация ЦП-мРНК, кодирующей растворимую форму церулоплазмينا в клетках подкожной и висцеральной клетчатки; Б – концентрация мРНК ГФИ-ЦП в клетках подкожной и висцеральной жировой клетчатки. Для расчета относительного содержания молекулярных форм ЦП-мРНК использовали относительное содержание ЦП-мРНК в печени крыс, получавших сухой полнорационный экструдированный комбикорм; * – статистически значимые ($p < 0,05$) отличия по сравнению с показателем СК-крыс.

Повышение концентрации меди в клетках БЖТ при изменении калорийности корма и снижение уровня ЦП в крови при ВКР стали основанием для изучения экспрессии гена ЦП в клетках БЖТ. Общая транскрипционная активность, если судить по концентрации тотальной РНК, в печени примерно в 8 раз выше, чем в клетках ПЖК ($2,5 \pm 0,4$ мкг РНК/мг ткани в печени vs $0,31 \pm 0,08$ мкг РНК/мг ткани в ПЖК), а в ПЖК примерно в 3 раза выше, чем в ВЖК ($0,31 \pm 0,08$ мкг РНК/мг ткани в ПЖК vs $0,09 \pm 0,02$ мкг РНК/мг ткани в ВЖК). Измерение в печени концентрации зрелых транскриптов гена ЦП, кодирующих его секреторную форму, показало, что у крыс, содержащихся как на НКР, так и на ВКР, по сравнению с СК-крысами экспрессия гена ЦП на уровне транскрипции не менялась (см. таблицу). Это может означать, что снижение концентрации полипептидов ЦП в крови у ВКР-крыс (рис. 2) происходит не за счет снижения скорости транскрипции гена ЦП в печени. Возможно, что в клетках печени ВКР-крыс подавлена трансляция ЦП-мРНК. Это предположение согласуется с существованием системы посттранскрипционного подавления активности гена ЦП с помощью управляю-

щих сигналов в 3'-нетранслируемой области ЦП-мРНК [19, 20]. В клетках многих тканей, в том числе и в БЖТ, но не в гепатоцитах из первичного продукта транскрипции гена ЦП формируются 2 сплайс-формы ЦП-мРНК: мРНК, кодирующая секреторный ЦП, и ЦП-мРНК, кодирующая синтез ЦП, связанного с поверхностью плазматической мембраны через ГФИ-ЦП [6, 21]. У крыс СК-группы содержание ЦП-мРНК для секреторной формы ЦП в клетках ПЖК почти в 20 раз ниже, чем в печени, а в клетках ВЖК в 3 раза ниже, чем в ПЖК (рис. 3А, см. таблицу). Уровень секреторной формы ЦП-мРНК повышался в клетках ПЖК у НКР-крыс по сравнению с СК-крысами в 5 раз, а в клетках ВЖК-животных, содержащихся на ВКР, концентрация ЦП-мРНК была примерно в 3 раза выше, чем у СК-крыс (см. рис. 3А). Концентрация ГФИ-ЦП мРНК в ПЖК достоверно повышалась при содержании животных на НКР (рис. 3Б). В ВЖК крыс, содержащихся на НКР, сплайс-форма ЦП-мРНК ГФИ-ЦП практически не формировалась, но ее уровень повышался у ВКР-крыс (см. рис. 3Б).

Заключение

В целом представленные данные позволяют заключить, что при ВКР показатели статуса меди в крови снижаются за счет пропорционального уменьшения концентрации полипептидов холо-ЦП, которое, возможно, происходит за счет снижения скорости трансляции ЦП-мРНК, содержащей в 3'-нетранслируемой области регуляторные последовательности, участвующие в посттранскрипционном подавлении активности гена ЦП [19, 20].

ПЖК по сравнению с ВЖК демонстрирует более высокую транскрипционную активность, в частности в отношении экспрессии гена ЦП, центрального белка внеклеточного круговорота меди, металлирование которого зависит от импорта меди в клетку, ее переноса в люмен аппарата Гольджи и корректного включения в апо-ЦП [14, 22].

Повышение концентрации меди в клетках ПЖК и ВЖК при обоих рационах согласуется с увеличением уровня экспрессии гена ЦП. Однако профиль формирования сплайс-форм ЦП-мРНК отличается между ПЖК и ВЖК и зависит от калорийности корма в обоих типах БЖТ.

Представленные данные впервые устанавливают связь между метаболизмом меди в БЖТ и калорийностью корма на фоне сбалансированного содержания меди в рационе. Они подтверждают участие меди в липидном метаболизме; результаты этих исследований могут помочь в понимании связи между развитием метаболического синдрома и нарушением гомеостатической меди в организме млекопитающих.

Финансирование. Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ (гранты № 18-015-00481 и 16-34-60219) и Президента РФ (грант МК 2718.2018.4).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Сведения об авторах

Ильичева Екатерина Юрьевна (Ilyechova Ekaterina Yu.) – кандидат биологических наук, сотрудник лаборатории метаболизма микроэлементов ФГАОУ ВО «Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики», старший научный сотрудник отдела молекулярной генетики ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», доцент кафедры биофизики ФГАОУ ВО «Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого» (Санкт-Петербург, Россия)

E-mail: ikaterina2705@yandex

<https://orcid.org/0000-0002-5623-2156>

Канаш Людмила Александровна (Kanash Lyudmila A.) – магистр ФГАОУ ВО «Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики» (Санкт-Петербург, Россия)

E-mail: kanash2221@yandex.ru

Тимирова Залия Риятовна (Timirova Zaliya R.) – магистр ФГАОУ ВО «Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики» (Санкт-Петербург, Россия)

E-mail: zaliya.timirova@mail.ru

Цымбаленко Надежда Васильевна (Tymbalenko Nadezhda V.) – доктор биологических наук, профессор, ведущий научный сотрудник отдела молекулярной генетики ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины» (Санкт-Петербург, Россия)

E-mail: tymbalengkonn@mail.ru

<https://orcid.org/0000-0002-0670-5306>

Орлов Юрий Александрович (Orlov Yurii A.) – аспирант лаборатории метаболизма микроэлементов ФГАОУ ВО «Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики» (Санкт-Петербург, Россия)

E-mail: orlov239@gmail.com

Клюева Наталья Николаевна (Klyuyeva Nataliya N.) – старший научный сотрудник отдела биохимии ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины» (Санкт-Петербург, Россия)

E-mail: nnklyueva@gmail.com

Скоморохова Екатерина Александровна (Skomorokhova Ekaterina A.) – аспирант лаборатории метаболизма микроэлементов ФГАОУ ВО «Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики» (Санкт-Петербург, Россия)

E-mail: katjaskom@yandex.ru

<https://orcid.org/0000-0001-6018-2190>

Денисенко Александр Дороевич (Denisenko Aleksandr D.) – доктор медицинских наук, профессор, руководитель отдела биохимии «Институт экспериментальной медицины» (Санкт-Петербург, Россия)

E-mail: add@iem.sp.ru

<https://orcid.org/0000-0003-1613-0654>

Пучкова Людмила Валентиновна (Puchkova Liudmila V.) – доктор биологических наук, профессор, руководитель лаборатории метаболизма микроэлементов ФГАОУ ВО «Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики», ведущий научный сотрудник отдела молекулярной генетики ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», профессор кафедры биофизики ФГАОУ ВО «Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого» (Санкт-Петербург, Россия)

E-mail: puchkovalv@yandex.ru

<https://orcid.org/0000-0003-0958-2812>

Литература

1. Kwok K.H., Lam K.S., Xu A. Heterogeneity of white adipose tissue: molecular basis and clinical implications // *Exp. Mol. Med.* 2016. Vol. 48. P. e215.
2. Bielli P., Calabrese L. Structure to function relationships in ceruloplasmin: a 'moonlighting' protein // *Cell. Mol. Life Sci.* 2002. Vol. 59. N9. P. 1413-1427.
3. Bernevic B., El-Khatib A.H., Jakubowski N., Weller M.G. Online immunocapture ICP-MS for the determination of the metalloprotein ceruloplasmin in human serum // *BMC Res. Notes.* 2018. Vol. 11, N 1. P. 213–217.
4. Arner E., Forrest A.R., Ehlund A. et al. Ceruloplasmin is a novel adipokine which is overexpressed in adipose tissue of obese subjects and in obesity-associated cancer cells // *PLoS One.* 2014. Vol. 9, N 3. Article ID e80274.
5. Gómez-Hernández A., Beneit N., Díaz-Castroverde S., Escribano Ó. Differential role of adipose tissues in obesity and related metabolic and vascular complications // *Int. J. Endocrinol.* 2016. Vol. 2016. Article ID 1216783.
6. Ilyechova E.Y., Tymbalenko N.V., Puchkova L.V. The role of subcutaneous adipose tissue in supporting the copper balance in rats with a chronic deficiency in holo-ceruloplasmin // *PLoS One.* 2017. Vol. 12, N 4. Article ID e0175214.
7. Ilyechova E.Y., Saveliev A.N., Skvortsov A.N., Babich P.S. et al. The effects of silver ions on copper metabolism in rats // *Metalomics.* 2014. Vol. 6, N 10. P. 1970–1987.
8. Muchenditsi A., Yang H., Hamilton J.P. et al. Targeted inactivation of copper transporter Atp7b in hepatocytes causes liver steatosis and obesity in mice // *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 2017. Vol. 313, N 1. P. G39–G49.
9. Engle T.E. Copper and lipid metabolism in beef cattle: a review // *J. Anim. Sci.* 2011. Vol. 89, N 2. P. 591–596.
10. Lei L., Xiaoyi S., Fuchang L. Effect of dietary copper addition on lipid metabolism in rabbits // *Food Nutr. Res.* 2017. Vol. 61, N 1. Article ID 1348866.
11. Tinkov A.A., Polyakova V.S., Nikonorov A.A. Chronic administration of iron and copper potentiates adipogenic effect of high

- fat diet in Wistar rats // *Biometals*. 2013. Vol. 26, N 3. P. 447–463.
12. Amer M.A., Elliot J.I. Influence of supplemental dietary copper and vitamin E on the oxidative stability of porcine depot fat // *J. Anim. Sci.* 1973. Vol. 37, N 1 P. 87–90.
 13. Krishnamoorthy L., Cotruvo J.A. Jr, Chan J. et al. Copper regulates cyclic-AMP-dependent lipolysis // *Nat. Chem. Biol.* 2016. Vol. 12, N 4. P. 586–592.
 14. Lutsenko S. Copper trafficking to the secretory pathway // *Metalomics*. 2016. Vol. 8, N 9. P. 840–852.
 15. Мазо В.К., Ширина Л.И. Медь в питании человека: абсорбция и биодоступность // *Вопр. питания*. 2005. Т. 74, № 2. С. 52–59.
 16. Kozłowski H., Kolkowska P., Watly J. et al. General aspects of metal toxicity // *Curr. Med. Chem.* 2014. Vol. 21, N 33. P. 3721–3740.
 17. Соколов А.В., Костевич В.А., Романико Д.Н. и др. Двухстадийный метод получения церулоплазмينا на основе его взаимодействия с неомицином // *Биохимия*. 2012. Т. 77, № 6. С. 775–784.
 18. Zatulovskaia Y.A., Ilyechova E.Y., Puchkova L.V. The features of copper metabolism in the rat liver during development // *PLoS One*. 2015. Vol. 10, N 10. Article ID e0140797.
 19. Tapryal N., Mukhopadhyay C., Das D. et al. Reactive oxygen species regulate ceruloplasmin by a novel mRNA decay mechanism involving its 3'-untranslated region: implications in neurodegenerative diseases // *J. Biol. Chem.* 2009. Vol. 284, N 3. P. 1873–1883.
 20. Mazumder B., Sampath P., Fox P.L. Translational control of ceruloplasmin gene expression: beyond the IRE // *Biol. Res.* 2006. Vol. 39, N 1. P. 59–66.
 21. Mostad E.J., Prohaska J.R. Glycosylphosphatidylinositol-linked ceruloplasmin is expressed in multiple rodent organs and is lower following dietary copper deficiency // *Exp. Biol. Med. (Maywood)*. 2011. Vol. 236, N 3. P. 298–308.
 22. Пучкова Л.В. Пищевая роль церулоплазмينا молока // *Вопр. питания*. 2015. Т. 84, № 4. С. 4–17.

References

1. Kwok K.H., Lam K.S., Xu A. Heterogeneity of white adipose tissue: molecular basis and clinical implications. *Exp Mol Med*. 2016; 48: e215.
2. Bielli P., Calabrese L. Structure to function relationships in ceruloplasmin: a 'moonlighting' protein. *Cell Mol Life Sci*. 2002; 59 (9): 1413–27.
3. Bernevic B., El-Khatib A.H., Jakubowski N., Weller M.G. Online immunocapture ICP-MS for the determination of the metalloprotein ceruloplasmin in human serum. *BMC Res Notes*. 2018; 11 (1): 213–7.
4. Arner E., Forrest A.R., Ehrlund A., et al. Ceruloplasmin is a novel adipokine which is overexpressed in adipose tissue of obese subjects and in obesity-associated cancer cells. *PLoS One*. 2014; 9 (3): e80274.
5. Gómez-Hernández A., Benoit N., Díaz-Castroverde S., Escribano Ó. Differential role of adipose tissues in obesity and related metabolic and vascular complications. *Int J Endocrinol*. 2016; 2016: 1216783.
6. Ilyechova E.Y., Tsybalenko N.V., Puchkova L.V. The role of subcutaneous adipose tissue in supporting the copper balance in rats with a chronic deficiency in holo-ceruloplasmin. *PLoS One*. 2017; 12 (4): e0175214.
7. Ilyechova E.Y., Saveliev A.N., Skvortsov A.N., Babich P.S., et al. The effects of silver ions on copper metabolism in rats. *Metalomics*. 2014; 6 (10): 1970–87.
8. Muchenditsi A., Yang H., Hamilton J.P., et al. Targeted inactivation of copper transporter Atp7b in hepatocytes causes liver steatosis and obesity in mice. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2017; 313 (1): G39–49.
9. Engle T.E. Copper and lipid metabolism in beef cattle: a review. *J Anim Sci*. 2011; 89 (2): 591–6.
10. Lei L., Xiaoyi S., Fuchang L. Effect of dietary copper addition on lipid metabolism in rabbits. *Food Nutr Res*. 2017; 61 (1): 1348866.
11. Tinkov A.A., Polyakova V.S., Nikonov A.A. Chronic administration of iron and copper potentiates adipogenic effect of high fat diet in Wistar rats. *Biometals*. 2013; 26 (3): 447–63.
12. Amer M.A., Elliot J.I. Influence of supplemental dietary copper and vitamin E on the oxidative stability of porcine depot fat. *J Anim Sci*. 1973; 37 (1): 87–90.
13. Krishnamoorthy L., Cotruvo J.A. Jr, Chan J., et al. Copper regulates cyclic-AMP-dependent lipolysis. *Nat Chem Biol*. 2016; 12 (4): 586–92.
14. Lutsenko S. Copper trafficking to the secretory pathway. *Metalomics*. 2016; 8 (9): 840–52.
15. Mazo V.K., Shirina L.I. Copper in nutrition man: absorption and bioavailability. *Voprosy pitaniia [Problems of Nutrition]*. 2005; 74 (2): 52–9. (in Russian)
16. Kozłowski H., Kolkowska P., Watly J., et al. General aspects of metal toxicity. *Curr Med Chem*. 2014; 21 (33): 3721–40.
17. Sokolov A.V., Kostevich V.A., Romanico D.N., et al. Two-stage method for purification of ceruloplasmin based on its interaction with neomycin. *Biokhimiya [Biochemistry]*. 2012; 77 (6): 631–8. (in Russian)
18. Zatulovskaia Y.A., Ilyechova E.Y., Puchkova L.V. The features of copper metabolism in the rat liver during development. *PLoS One*. 2015; 10 (10): e0140797.
19. Tapryal N., Mukhopadhyay C., Das D., et al. Reactive oxygen species regulate ceruloplasmin by a novel mRNA decay mechanism involving its 3'-untranslated region: implications in neurodegenerative diseases. *J Biol Chem*. 2009; 284 (3): 1873–83.
20. Mazumder B., Sampath P., Fox P.L. Translational control of ceruloplasmin gene expression: beyond the IRE. *Biol Res*. 2006; 39 (1): 59–66.
21. Mostad E.J., Prohaska J.R. Glycosylphosphatidylinositol-linked ceruloplasmin is expressed in multiple rodent organs and is lower following dietary copper deficiency. *Exp Biol Med. (Maywood)*. 2011; 236 (3): 298–308.
22. Пучкова Л.В. The nutrition role of milk ceruloplasmin. *Voprosy pitaniia [Problems of Nutrition]*. 2015; 84 (4): 4–17. (in Russian)

Для корреспонденции

Сидорова Юлия Сергеевна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории пищевых биотехнологий и специализированных продуктов ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии»
 Адрес: 109240, Россия, г. Москва, Устьинский проезд, д. 2/14
 Телефон: (495) 698-53-71
 E-mail: sidorovaulia28@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-2168-2659>

Сидорова Ю.С., Петров Н.А., Зорин С.Н., Саркисян В.А., Мазо В.К., Кочеткова А.А.

Новый функциональный пищевой ингредиент – липидный модуль, источник астаксантина и плазмалогенов

New functional food
 ingredient – lipid module,
 source of astaxanthine
 and plasmalogenes

Sidorova Yu.S., Petrov N.A.,
 Zorin S.N., Sarkisyan V.A., Mazo V.K.,
 Kochetkova A.A.

ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии», Москва, Россия
 Federal Research Centre of Nutrition, Biotechnology and Food Safety,
 Moscow, Russia

Цель работы – изучение влияния модификации жирнокислотного состава рациона лабораторных животных в присутствии плазмалогенов (ПГ), астаксантина (АСТА) и их сочетания на адаптационный потенциал животных в условиях стрессового воздействия.

Материал и методы. Жирнокислотный состав рациона был изменен за счет использования липидного модуля, содержащего 88,7% высокоолеинового подсолнечного масла, 6,3% кокосового масла и 5% масла микроводорослей *Schizochytrium* sp. Эксперимент проведен с использованием 80 крыс-самцов линии Вистар с исходной массой тела 125 ± 5 г. Отобранные животные ($n=50$) в зависимости от показателей их поведения в тесте «Открытое поле» и «Приподнятый крестообразный лабиринт» были рандомизированно разделены на 5 групп. Животные контрольной 1-й группы не принимали участия в физиологических тестах – контрольная интактная группа животных. Животные контрольных 1-й и 2-й групп в течение 30 сут получали стандартный полусинтетический рацион. В рационе крыс опытной 3-й группы растительное масло (50% жира в рационе) было заменено на липидный модуль, обогащенный АСТА ($4,0 \pm 0,3$ мг/сут на 1 кг массы тела); в рационе крыс опытной 4-й группы – на липидный модуль, обогащенный ПГ ($79,0 \pm 2,0$ мг/сут на 1 кг массы тела); в рационе крыс опытной 5-й группы – на липидный модуль, обогащенный АСТА и ПГ (в тех же дозировках). Оценку тревожности и общей исследовательской активности животных проводили в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт». На 31-е сутки кормления животных подвергали тесту «Принудительное плавание» для оценки физической выносливости и работоспособности крыс в условиях повышенного уровня стресса.

Результаты и обсуждение. Введение в рацион животных липидного модуля, обогащенного ПГ и/или АСТА, имело выраженный гиполипидемический эффект, снижая в сыворотке крови концентрацию общего холестерина, на фоне сни-

Для цитирования: Сидорова Ю.С., Петров Н.А., Зорин С.Н., Саркисян В.А., Мазо В.К., Кочеткова А.А. Новый функциональный пищевой ингредиент – липидный модуль, источник астаксантина и плазмалогенов // *Вопросы питания*. 2019. Т. 88, № 1. С. 49–56. doi: 10.24411/0042-8833-2019-10005. **Статья поступила в редакцию** 18.12.2017. **Принята в печать** 27.12.2018.

For citation: Sidorova Yu.S., Petrov N.A., Zorin S.N., Sarkisyan V.A., Mazo V.K., Kochetkova A.A. New functional food ingredient – lipid module, source of astaxanthine and plasmalogenes. *Voprosy pitaniia* [Problems of Nutrition]. 2019; 88 (1): 49–56. doi: 10.24411/0042-8833-2019-10005. (in Russian) **Received** 18.12.2017. **Accepted for publication** 27.12.2018.

жения уровня липопротеинов низкой плотности. В клетках печени животных, получавших липидный модуль, обогащенный ПГ и/или АСТА, содержание полиненасыщенной жирной кислоты семейства ω -3 докозагексаеновой кислоты увеличилось более чем в 3 раза при одновременном снижении содержания ω -6 линолевой кислоты в 2 раза. Потребление животными липидного модуля, обогащенного АСТА, препятствовало повышению уровня кортикостерона в сыворотке крови животных после стрессорного воздействия (истощающая физическая нагрузка), снижая его до уровня у интактных животных, оказывая адаптогенный эффект. Животные 3-й группы, получавшие липидный модуль, обогащенный АСТА, достоверно меньше времени проводили в открытых рукавах лабиринта по сравнению с первым тестированием, что может говорить о повышении их тревожности. Введение в липидный модуль ПГ нивелировало данный эффект. В тесте «Принудительное плавание» с грузом не выявлено увеличения работоспособности и выносливости всех тестируемых групп.

Заключение. Особый интерес представляет дальнейшее изучение адаптогенного действия ПГ в сочетании с АСТА в составе липидного модуля при сравнении с аналогичным эффектом традиционных фосфолипидов.

Ключевые слова: липидный модуль, астаксантин, плазмалогены, адаптационный потенциал, стресс, липидный профиль

The **aim** of this work was to study the impact of modification of fatty acids composition of laboratory animals' diet in the presence of plasmalogenes (PG), astaxanthin (ASTA) and their combination on animals' adaptation potential in stress conditions.

Material and methods. The fatty acids composition of diet was altered with the use of lipid module, containing 88.7% of high oleic sunflower oil, 6.3% of coconut oil and 5% of micralagae *Schizochytrium* sp. oil. The experiment was conducted with the use of 80 male Wistar rats with initial body weight 125 ± 5 g. Selected animals ($n=50$) were divided into 5 groups according to their activity in tests «Open field» (OF) and «Elevated plus-maze» (EPM). The animals of control group 1st were not exposed to physiological tests – this was an intact control group. The animals of control groups 1st and 2nd were treated with standard half-synthetic diets for 30 days [381 kcal/100 g of dry food, 20.1% of casein on calories, 10% of fat (the mixture of lard and sunflower oil in 1:1 ratio)]. In the diet of 3^d group animals the sunflower oil (50% of fat in the diet) was substituted with lipid module, enriched with ASTA (4.0 ± 0.3 mg/day/kg b.w.); in the diet of group 4 animals – with lipid module, enriched with PG (79.0 ± 2.0 mg/day/kg b.w.); in the diet of group 5 animals – with lipid module, enriched with ASTA and PG (the same doses). The evaluation of anxiety level and total exploration activity was conducted in «elevated plus maze» test. On the 31st day of experiment, animals were exposed to forced swim test for evaluation of their physical endurance and capacity in the conditions of high stress.

Results and discussion. The introduction into the animal diet of lipid module, enriched with PG and/or ASTA had pronounced hypolipidemic effect, lowered total serum cholesterol against a background of decrease in low-density lipoproteins (LDL) level. The concentration of ω -3 polyunsaturated fatty acid (PUFA) – docosahexaenoic acid in liver cells of animals treated with lipid module enriched with PG and/or ASTA increased more the 3 times, while ω -6 linoleic acid decreased twice. The consumption of enriched with ASTA lipid module inhibited the increase in blood corticosterone level after stress (exhausting physical exercise) and lowered it to the control animals values, thus showing adaptogenic effect. The animals treated with lipid module enriched with ASTA (group 3) spent significantly less time in open arms of the maze in comparison with the first test, what may show the increase in anxiety level. The introduction of PG into lipid module neutralized this effect. The forced swim test with load showed no increase in working ability and endurance of animals of all tested groups.

Conclusion. The further study of adaptogenic action of PG in combination with ASTA in the composition of lipid module compared to the similar effect of traditional phospholipids is of special interest.

Keywords: lipid module, astaxanthin, plasmalogen, adaptation potential, stress, lipid profile

Недостаточное потребление рыбы и морепродуктов, сочетающееся с высоким потреблением растительных масел, приводит к несбалансированности соотношения полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК) ω -3/ПНЖК ω -6 и является фактором риска многих алиментарно-зависимых заболеваний. Функциональные

пищевые продукты с высоким содержанием длинноцепочечных ПНЖК семейства ω -3 [докозагексаеновой (ДГК) и эйкозапентаеновой] способны в определенной степени нивелировать избыток насыщенных жиров и ПНЖК семейства ω -6 в питании человека. ДГК (22:6 ω -3) необходима для нормального функционирования

мозга, является основной ПНЖК в клеточных мембранах нервных клеток, обеспечивает защиту нервной ткани от окислительного стресса, оказывает противовоспалительное действие при неврологических заболеваниях. При недостаточном поступлении ДГК с пищей ее концентрация в мозге уменьшается. Недостаток ДГК рассматривают в качестве одного из факторов в этиологии депрессивных расстройств [1, 2]. При этом основным депо ДГК в мембранах клеток является специфический класс фосфолипидов – плазмалогенов (ПГ), отличающихся наличием простой эфирной связи, сопряженной с непредельной связью в sn-1 положении. В организме человека ПГ выполняют ряд важных биологических функций в качестве антиоксидантов и сигнальных молекул, снижение их уровня в организме является биомаркером развития ряда нейродегенеративных заболеваний и заболеваний обмена веществ [3]. При этом в настоящее время появляются новые исследования, свидетельствующие о потенциальной терапевтической значимости использования ПГ [4, 5]. Поскольку молекула ДГК потенциально является мишенью перекисного окисления, очевидна целесообразность ее включения в состав специализированных пищевых продуктов в сочетании с антиоксидантами. В нашем исследовании в качестве такого природного антиоксиданта был выбран каротиноид астаксантин (АСТА) [6, 7]. Структурно молекула АСТА представляет собой 2 иононовых кольца, соединенных полиеновой цепью. На каждом кольце присутствуют гидроксильная и кетонная группы. Благодаря наличию сопряженных двойных связей в центре молекулы АСТА действует как антиоксидант. Эффекты АСТА могут усиливаться при употреблении с пищевыми маслами, богатыми ПНЖК семейства ω -3, например, такими, как рыбий жир, соевое, льняное, ореховое и миндальное масло. Включение АСТА в состав липидного модуля, помимо его антиоксидантных свойств, определяется множественностью проявлений биологической активности и многоплановым благоприятным влиянием на организм млекопитающих [8–12].

Цель исследования – изучение влияния модификации жирнокислотного состава рациона лабораторных животных в присутствии ПГ, АСТА и их сочетания на адаптационный потенциал животных в условиях стрессорного воздействия.

Материал и методы

Объектом исследований являлся липидный модуль, содержащий 88,7% высокоолеинового подсолнечного масла, 6,3% кокосового масла и 5% масла микроводорослей *Schizochytrium sp.* Липидный модуль обеспечивал содержание ДГК на уровне не менее 80% от общего содержания ПНЖК семейства ω -3, общее содержание ПНЖК на уровне 6–11%, содержание ω -6 жирных кислот на уровне 2,5–9% и ω -3 жирных кислот – 1,5–2% от общего содержания жирных кислот.

В рамках выполнения работ был использован коммерческий препарат АСТА (AstaSana, суспензия 10%, DSM, Франция). Фосфолипиды экстрагировали из белого вещества мозга телят (до первого года жизни) в системе растворителей гексан : изопропанол [13], с последующим осаждением всей липидной фракции в холодном ацетоне (4 °С). ПГ концентрировали как фракцию фосфатидилэтаноламина в этаноле согласно [14], с некоторыми модификациями: осажденную в ацетоне фракцию высушивали в вакууме, ресуспендировали в этаноле (соотношение 1:10 мас./об.) и диспергировали ультразвуком (30–60 с) до полного растворения. Обработанные ультразвуком образцы выдерживали в течение 1 ч в холодной бане (2–4 °С) и центрифугировали (8000g, 15 мин, 4 °С), супернатанты собирали и охлаждали до -27 °С в течение 2 ч с образованием липидного осадка (плазмалогенсодержащая фракция). Осадок центрифугировали (950g, 15 мин, 4 °С) и отбирали для исследований. Состав жирных кислот и жирных альдегидов (из ПГ) определяли методом газовой хроматографии [15].

Дизайн эксперимента. Эксперимент проведен с использованием 80 крыс-самцов линии Вистар с исходной массой тела 125 ± 5 г, полученных из питомника лабораторных животных (филиал «Столовая» ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий» ФМБА России). Исследования на животных выполнены в соответствии с приказом Минздравсоцразвития России от 01.04.2016 № 199н «Об утверждении Правил лабораторной практики» и требованиями ГОСТ Р 53434-2009 «Принципы надлежащей лабораторной практики».

Немаловажную роль в адаптации животных к стрессу вносят индивидуальные различия особей, что подтверждается результатами исследований [16, 17]. Один и тот же стрессорный фактор может приводить к возникновению различных ответных реакций у животных одной популяции [18]. И если не проводить предварительное разделение подопытных животных с учетом их индивидуальных различий, полученный в ходе эксперимента усредненный результат может оказаться недостоверным. В данном исследовании был применен экспериментальный подход, основанный на изначальном разделении крыс в зависимости от показателей их поведения в тесте «Открытое поле» (ОП) и «Приподнятый крестообразный лабиринт» (ПКЛ). В тесте ОП рассчитывали коэффициент активности (КА):

$$КА = GA / (ЛП + ЛПц),$$

где ГА – горизонтальная активность (количество пересеченных периферических и центральных квадратов), ЛП – латентный период первого перемещения и ЛПц – латентный период выхода в центр [19]. Тестирование на ПКЛ проводили до начала кормления животных экспериментальными рационами и на 25-й день эксперимента. Рассчитывали отношение времени пребывания в открытых (ОП) и закрытых рукавах (ЗР) лабиринта. При тестировании в обоих тестах перемещение крыс регистрировали с помощью системы видеонаблюдения «Smart 3.0.04» (Panlab Harvard Apparatus, Испания).

По результатам обоих тестов отбраковывали наиболее пассивных и тревожных животных как, предположительно, наиболее подверженных стрессу [19]. В дальнейшем эксперимент были отобраны 50 животных, которые были рандомизированы по 3 показателям (масса тела, КА и ОР/ЗР) в 5 групп ($n=10$).

Животные 1-й контрольной группы не принимали участия в физиологических тестах – контрольная интактная группа. Животные контрольных 1-й и 2-й групп в течение 30 сут получали изокалорийный и изоазотистый полусинтетический рацион [381 ккал/100 г сухого корма, 20,1% казеина по калорийности, 10% жира (смесь лярда и подсолнечного масла в массовом соотношении 1:1)]. В рационе крыс 3-й опытной группы растительное масло (50% жира в рационе) было заменено на липидный модуль, обогащенный АСТА. В рационе крыс 4-й опытной группы растительное масло было заменено на липидный модуль, обогащенный ПГ. В рационе крыс опытной 5-й группы растительное масло было заменено на липидный модуль, обогащенный АСТА и ПГ. На начало эксперимента масса тела животных контрольных 1-й и 2-й групп и опытных 3–5-й групп составила, соответственно, 166,5±3,5; 166,5±3,3; 167,0±3,3; 165,0±2,9 и 166,5±3,3 г и не различалась. Животные получали корм и воду *ad libitum*, через день проводили учет поедаемости корма. Массу тела животных измеряли еженедельно.

Отношение ПНЖК ω -6 к ω -3 в контрольном рационе составило 135:1. Соотношение ПНЖК ω -6/ ω -3 в рационе крыс опытных 3, 4, 5-й групп, получавших липидный модуль с различными биологически активными веществами, составило 5,2:1,0; при этом поступление ДГК составило 70,0±4 мг/сут на 1 кг массы тела. Поступление АСТА для опытных 3-й и 5-й групп составило 4,0±0,3 мг/сут на 1 кг массы тела. Поступление ПГ для опытных 4-й и 5-й групп составило 79,0±2,0 мг/сут на 1 кг массы тела. Значения получены расчетным путем с учетом поедаемости корма животными.

На 31-е сутки кормления животных подвергали тесту «Принудительное плавание». Для оценки физической выносливости и работоспособности крыс в условиях повышенного уровня стресса использовали модифицированную методику с применением грузов весом 10% от массы тела животного [20, 21].

Крысу с дополнительным грузом помещали в пластиковый цилиндр с водой. Крысы находились в цилиндрах до истощения, которым считался момент, когда животное полностью оставалось под водой в течение 10 с. Затем крысу быстро вынимали из воды и тщательно высушивали. Отмечали время от посадки животного в цилиндр до его истощения.

Через 24 ч предварительно анестезированных эфиром крыс (депривированных голодом в течение ночи) выводили из эксперимента путем декапитации и подвергали патологоанатомическому вскрытию для извлечения образцов печени. Собранную после декапитации животного кровь центрифугировали в течение 15 мин при 500g, сыворотку хранили при -20 °С.

Содержание кортикостерона в сыворотке крови определяли методом прямого конкурентного иммуноферментного анализа с использованием набора «Corticosterone EIA kit» (Immunodiagnostic System, Великобритания). В сыворотке крови на автоматическом биохимическом анализаторе «Konelab 20i» (Thermo Scientific, Финляндия) определяли содержание триглицеридов, холестерина (ХС), липопротеинов высокой плотности (ЛПВП). Содержание липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) рассчитывали по формуле:

$$\text{ЛПНП} = 3/4 (\text{ХС} - \text{ЛПВП}).$$

В печени крыс методом газожидкостной хроматографии определяли состав жирных кислот в соответствии с ГОСТ Р 31663-2012 с некоторыми модификациями [7].

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием пакета программ SPSS Statistics 20 (IBM, США), используя непараметрический ранговый критерий Манна–Уитни. Критический уровень значимости нулевой статистической гипотезы (p) принимали равным 0,05.

Результаты и обсуждение

Прирост массы тела крыс всех групп соответствовал скорости роста, характерной для животных данного вида и возраста. Прирост массы тела животных 1-й и 2-й конт-

Таблица 1. Содержание основных жирных кислот в печени животных, % от суммы жирных кислот

Кислота	Группа животных			
	2-я	3-я	4-я	5-я
Пальмитиновая	20,82±0,43	22,31±0,55*	20,18±0,39	16,24±0,45*
Олеиновая	17,60±1,50	37,21±2,29*	43,67±1,96*	36,09±2,62*
Вакценовая	2,23±0,20	2,90±0,26*	3,41±0,32*	3,36±0,43*
Линолевая	26,7±0,56	14,29±1,00*	12,55±0,87*	13,09±1,08*
γ -Линоленовая	0,47±0,04	0,17±0,03*	0,18±0,04*	0,14±0,02*
α -Линоленовая	0,25±0,01	0,35±0,03*	0,36±0,02*	0,31±0,02*
Докозагексаеновая	0,88±0,09	3,26±0,32*	3,06±0,38*	4,70±0,42*
ПНЖК ω -6/ ω -3	24,1:1,0	4,0:1,0	3,7:1,0	3,9:1,0

Примечание. * – статистически значимые различия по сравнению с показателем животных 2-й контрольной группы; полужирным шрифтом выделены изменения ПНЖК ω -6 и ω -3.

Таблица 2. Результаты тестирования «Приподнятый крестообразный лабиринт» на начало и конец эксперимента

Группа животных	Время пребывания, с			
	1-е тестирование		2-е тестирование	
	ОР	ЗР	ОР	ЗР
2-я	38,3±6,5	230,2±10,6	25,1±9,4	224,3±12,6
3-я	32,6±13,2	253,9±6,7	13,2±3,3*	258,4±8,2
4-я	32,1±4,5	240,4±10,1	23,4±4,6	242,7±10,8
5-я	31,0±5,9	244,2±7,6	20,9±6,4	247,5±12,1

Примечание. 1-е тестирование проведено до начала кормления экспериментальными рационами; 2-е тестирование проведено на 25-е сутки эксперимента; * – статистически значимые различия по сравнению с 1-м тестированием; ЗР – закрытый рукав; ОР – открытый рукав.

рольных групп и опытных 3–5-й групп достоверно между группами не различался и составил, соответственно, 91,5±4,3 и 78,2±6,7%, 90,5±5,9; 87,2±4,4 и 88,5±4,4%.

В табл. 1 представлены данные о жирнокислотном составе клеток печени животных.

Обогащение рациона ПНЖК, в частности ДГК, приводило к достоверному увеличению содержания ДГК и олеиновой мононенасыщенной жирной кислоты в печени крыс опытных групп при одновременном уменьшении содержания ПНЖК семейства ω -6 по сравнению с таковым у контрольных крыс 2-й группы. Все наблюдаемые изменения связаны с изменением жирнокислотного состава рациона за счет жировой основы липидного модуля.

В табл. 2 представлены результаты тестирования на приподнятом крестообразном лабиринте на начало эксперимента и после 25 сут кормления экспериментальными рационами. При вторичном тестировании поведение животных всех групп изменилось: животные мало перемещались из одного рукава лабиринта в другой, надолго оставаясь в закрытом рукаве лабиринта. Животные 3-й группы, получавшие липидный модуль, обогащенный АСТА, достоверно меньше времени проводили в открытых рукавах лабиринта по сравнению с первым тестированием, что может говорить о повышении тревожности животных данной группы. В наших предыдущих работах [6, 7] и в статьях других авторов [22, 23] ранее не было выявлено влияния АСТА на уровень тревожности крыс-самцов линии Вистар, что, возможно, было связано с отсутствием предварительного рандомизированного разделения животных по группам. Следует отметить, что введение в липидный модуль ПГ нивелировало данный эффект.

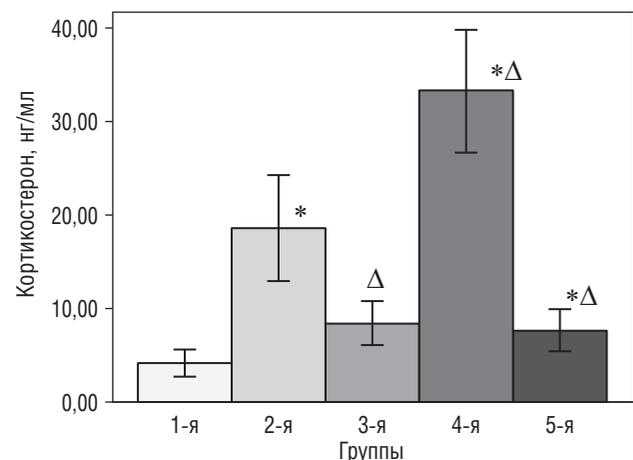
На 31-е сутки эксперимента в тесте «Принудительное плавание» до истощения максимальное среднее время плавания было зафиксировано у животных из 5-й группы, получавшей липидный модуль, обогащенный ПГ и АСТА, оно составило 271±54 с. Минимальное время плавания было у крыс из 4-й группы, получавшей липидный модуль, обогащенный ПГ, которое составило 150±12 с. Среднее время плавания для животных 2-й опытной группы составило 213±50 с, а для животных 3-й группы, получавших липидный модуль с АСТА, время составило 249±54 с. Разница между сравниваемыми группами не достоверна ввиду большого разброса данных.

В табл. 3 представлены результаты определения показателей липидного обмена.

Достоверных различий по показателям липидного профиля между интактными животными 1-й контрольной группы и стрессированными животными 2-й контрольной группы не выявлено, что подтверждает отсутствие влияния однократного стрессорного воздействия на липидный профиль сыворотки крови крыс-самцов линии Вистар. У животных всех опытных групп, получавших липидный модуль в различных модификациях, выявлено достоверное снижение концентрации общего ХС и ЛПНП по сравнению с уровнем у животных 2-й контрольной группы, что свидетельствует о гиполипидемическом действии липидного модуля как такового.

На рисунке приведены результаты определения концентрации кортикостерона в сыворотке крови животных после стрессорного воздействия принудительным плаванием до истощения.

Уровень основного стресс-маркера кортикостерона в сыворотке крови животных 2-й контрольной группы, подвергнутых стрессорному воздействию, был достоверно выше по сравнению с интактными животными 1-й контрольной группы. Полученный результат свидетельствует о том, что принудительное плавание до ис-



Уровень кортикостерона в сыворотке крови животных

Статистически значимые различия по сравнению с показателем животных: * – 1-й контрольной группы; Δ – 2-й контрольной группы.

Таблица 3. Биохимические показатели крови животных

Группа животных	Холестерин, ммоль/л	Триглицериды, ммоль/л	ЛПВП, ммоль/л	ЛПНП, ммоль/л
1-я	1,81±0,07	0,91±0,05	1,09±0,05	0,537±0,045
2-я	1,96±0,10	1,02±0,11	1,15±0,06	0,614±0,055
3-я	1,71±0,07*	1,65±0,40	1,11±0,05	0,455±0,040*
4-я	1,68±0,07*	1,41±0,15	1,09±0,05	0,447±0,048*
5-я	1,65±0,09*	1,43±0,2	1,02±0,05	0,469±0,044*

Примечание. * – статистически значимые различия по сравнению с показателем животных 2-й контрольной группы. Расшифровка аббревиатур дана в тексте.

тощения является эффективной моделью стрессорного воздействия. Потребление животными липидного модуля, обогащенного АСТА, препятствовало повышению уровня кортикостерона в сыворотке крови животных (различия с интактной группой недостоверны), различия статистически значимы по сравнению с уровнем у стрессированных животных из 2-й контрольной группы.

Глюкокортикостероиды являются основными стресс-медиаторами общего адаптационного синдрома, действие которого направлено на защиту организма млекопитающих от чрезмерной (истощающей) реакции на стрессорное воздействие. Существует гипотеза, что адаптогены выступают в роли мягкого прострессора, снижая избыточное возрастание стресс-медиаторов при последующем стрессорном воздействии [24, 25]. Вышесказанное позволяет сделать вывод о благоприятном адаптогенном потенциале тестируемого липидного модуля, обогащенного АСТА.

Потребление ПГ в комплексе с липидным модулем не только не препятствовало повышению уровня кортикостерона в сыворотке крови, а наоборот, увеличивало его содержание по сравнению с животными обеих контрольных групп. При этом сочетанное действие липидного модуля и АСТА, по всей видимости, нивелировало отрицательный эффект ПГ на стрессоустойчивость животных, препятствуя увеличению уровня кортикостерона в сыворотке крови животных 5-й группы, нормализуя его концентрацию до уровня интактного 1-го контроля.

Повышение уровня кортикостерона в сыворотке крови крыс опытной группы, потреблявших ПГ и липидный модуль, богатый ДГК, без АСТА, по-видимому, было связано с накоплением продуктов окисления липидов в организме животных, что являлось дополнительным фактором стресса. При этом нивелирование негативного данного эффекта могло быть связано с прямым антиоксидантным действием АСТА в составе липидного модуля.

Сведения об авторах

ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии» (Москва, Россия):

Сидорова Юлия Сергеевна (Sidorova Yulia S.) – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории пищевых биотехнологий и специализированных продуктов

E-mail: sidorovaulia28@mail.ru

<https://orcid.org/0000-0002-2168-2659>

Петров Никита Александрович (Petrov Nikita A.) – лаборант-исследователь лаборатории пищевых биотехнологий и специализированных продуктов

Заключение

Сочетанное действие липидного модуля, обогащенного ПГ и/или АСТА, имело выраженный гиполипидемический эффект, снижая в сыворотке крови концентрацию общего холестерина на фоне снижения содержания ЛПНП. В клетках печени животных, получавших липидный модуль, обогащенный ПГ и/или АСТА, содержание ДКГ (ПНЖК семейства ω-3) увеличивалось более чем в 3 раза при одновременном снижении содержания ω-6 линолевой кислоты в 2 раза. В тесте «Принудительное плавание» с грузом не выявлено увеличения работоспособности и выносливости всех тестируемых групп. Потребление животными липидного модуля, обогащенного АСТА, препятствовало повышению уровня кортикостерона в сыворотке крови животных после стрессорного воздействия (истощающая физическая нагрузка), снижая его до уровня интактных животных, оказывая ярко выраженный адаптогенный эффект.

Для дальнейшего использования в составе специализированных пищевых продуктов представляется перспективным использовать липидный модуль, обогащенный или только АСТА, или же смесью АСТА и ПГ. Особый интерес представляет дальнейшее изучение адаптогенного действия ПГ при сочетании с АСТА в составе липидного модуля при сравнении с аналогичным эффектом традиционных фосфолипидов, таких как соевый и подсолнечный лецитины.

Финансирование. Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 14-16-00055).

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

E-mail: petrov-nikita-y@mail.ru

<https://orcid.org/0000-0001-9755-6002>

Зорин Сергей Николаевич (Zorin Sergey N.) – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории пищевых биотехнологий и специализированных продуктов

E-mail: zorin@ion.ru

<https://orcid.org/0000-0003-2689-6098>

Саркисян Варужан Амбарцумович (Sarkisyan Varuzhan A.) – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории пищевых биотехнологий и специализированных продуктов

E-mail: sarkisyan.varuzhan@gmail.com

<https://orcid.org/0000-0002-5911-610X>

Мазо Владимир Кимович (Mazo Vladimir K.) – профессор, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории пищевых биотехнологий и специализированных продуктов

E-mail: mazo@ion.ru

<https://orcid.org/0000-0002-3237-7967>

Кочеткова Алла Алексеевна (Kochetkova Alla A.) – доктор технических наук, профессор, заведующая лабораторией пищевых биотехнологий и специализированных продуктов

E-mail: kochetkova@ion.ru

<https://orcid.org/0000-0001-9821-192X>

Литература

- Chouinard-Watkins R., Lacombe R.J.S., Bazinet R.P. Mechanisms regulating brain docosahexaenoic acid uptake: what is the recent evidence? // *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care.* 2017. Dec 4. doi: 10.1097/MCO.0000000000000440.
- Echeverría F., Valenzuela R., Catalina Hernandez-Rodas M., Valenzuela A. Docosahexaenoic acid (DHA), a fundamental fatty acid for the brain: new dietary sources. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids.* 2017. Vol. 124. P. 1–10. doi: 10.1016/j.plefa.2017.08.001.
- Brites P., Waterham H.R., Wanders R.J.A. Functions and biosynthesis of plasmalogens in health and disease // *Biochim. Biophys. Acta Mol. Cell Biol. Lipids.* 2004. Vol. 1636, N 2. P. 219–231.
- Hossain M.S., Mineno K., Katafuchi T. Neuronal orphan G-protein coupled receptor proteins mediate plasmalogens-induced activation of ERK and Akt signaling // *PLoS One.* 2016. Vol. 11, N 3. Article ID e0150846.
- Ifuku M. et al. Anti-inflammatory/anti-amyloidogenic effects of plasmalogens in lipopolysaccharide-induced neuroinflammation in adult mice // *J. Neuroinflamm.* 2012. Vol. 9, N 1. P. 197.
- Сидорова Ю.С., Саркисян В.А., Петров Н.А., Кочеткова А.А., Мазо В.К. Экспериментальная оценка эффективности липидного модуля, обогащенного докозагексаеновой кислотой и астаксантином // *Бюл. экспер. биол.* 2017. Т. 163, № 5. С. 652–656.
- Сидорова Ю.С., Зорин С.Н., Петров Н.А., Макаренко М.А., Саркисян В.А., Мазо В.К. и др. Физиолого-биохимическая оценка обогащения рациона крыс докозагексаеновой кислотой и астаксантином // *Вопр. питания.* 2015. Т. 84, № 5. С. 46–55.
- Barros M.P., Marin D.P., Bolin A.P. et al. Combined astaxanthin and fish oil supplementation improves glutathione-based redox balance in rat plasma and neutrophils // *Chem. Biol. Interact.* 2012. Vol. 197, N 1. P. 58–67. doi: 10.1016/j.cbi.2012.03.005.
- Zuluaga M., Gueguen V., Letourneur D., Pavon-Djavid G. Astaxanthin-antioxidant impact on excessive Reactive Oxygen Species generation induced by ischemia and reperfusion injury // *Chem. Biol. Interact.* 2017. Vol. 279. P. 145–158. doi: 10.1016/j.cbi.2017.11.012.
- Kumar R., Salve K.J., Kumarappan M. Evaluation of antioxidant, hypolipidemic, and antiatherogenic property of lycopene and astaxanthin in atherosclerosis-induced rats // *Pharmacognosy Res.* 2017. Vol. 9, N 2. P. 161–167. doi: 10.4103/0974-8490.204654.
- Shibaguchi T., Yamaguchi Y., Miyaji N., Yoshihara T., Naito H., Goto K. et al. Astaxanthin intake attenuates muscle atrophy caused by immobilization in rats // *Physiol. Rep.* 2016. Vol. 4, N 15. Article ID e12885. doi: 10.14814/phy2.12885.
- Deng Z.Y., Shan W.G., Wang S.F., Hu M.M., Chen Y. Effects of astaxanthin on blood coagulation, fibrinolysis and platelet aggregation in hyperlipidemic rats // *Pharm. Biol.* 2017. Vol. 55, N 1. P. 663–672.
- Hara A., Radin N.S. Lipid extraction of tissues with a low-toxicity solvent // *Anal. Biochem.* 1978. Vol. 90, N 1. P. 420–426.
- Wu Y., Wang T. Fractionation of crude soybean lecithin with aqueous ethanol // *J. Am. Oil Chem. Soc.* 2004. Vol. 81, N 7. P. 697–704.
- Ingrand S.S. et al. Quantification of long-chain aldehydes by gas chromatography coupled to mass spectrometry as a tool for simultaneous measurement of plasmalogens and their aldehydic breakdown products // *Anal. Biochem.* 2000. Vol. 280, N 1. P. 65–72.
- Бахмет А.А. Пептид вызывающий дельта-сон в динамике восстановления паховых лимфатических узлов у крыс с различной поведенческой активностью после стрессорного воздействия // *Акад. журн. западной Сибири.* 2015. Т. 1, № 56. С. 63–64.
- Судаков К.В. Индивидуальная устойчивость к эмоциональному стрессу. М.: Горизонт, 1998. 268 с.
- Юматов Е.А., Мещерякова О.А. Прогнозирование устойчивости к эмоциональному стрессу на основе индивидуально-го тестирования поведения // *Журн. высш. нервн. деят.* 1990. Т. 4, № 3. С. 575–579.
- Коплик Е.В. Метод определения критерия устойчивости крыс к эмоциональному стрессу // *Вестн. новых мед. технологий.* 2002. Т. 9, № 1. С. 16–18.
- Singh P.K., Chopra K., Kuhad A., Kaur I.P. Role of Lactobacillus acidophilus loaded floating beads in chronic fatigue syndrome: behavioral and biochemical evidences // *Neurogastroenterol. Motil.* 2012. Vol. 24, N 4. P. 366–e170. doi: 10.1111/j.1365-2982.2011.01861.
- Polotow T.G., Vardaris C.V., Mihaliuc A.R., Gonçalves M.S., Pereira B., Ganini D. et al. Astaxanthin supplementation delays physical exhaustion and prevents redox imbalances in plasma and soleus muscles of Wistar rats // *Nutrients.* 2014. Vol. 6, N 12. P. 5819–5838.
- Mehani R., Yadav V.K., Sankadia R. Anxiolytic potential of astaxanthin on experimental animal model // *Int. J. Basic Clin. Pharmacol.* 2016. Vol. 5, N 1. P. 131–134.
- Mattei R., Polotow T.G., Vardaris C.V., Guerra B.A., Leite J.R., Otton R. et al. Astaxanthin limits fish oil-related oxidative insult in the anterior forebrain of Wistar rats: putative anxiolytic effects // *Pharmacol. Biochem. Behav.* 2011. Vol. 99, N 3. P. 349–355.

24. Panossian A., Wikman G. Effect of adaptogens on the central nervous system // *Arq. Bras. Fitomed. Cient.* 2005. Vol. 3, N 1. P. 29–51.
25. Panossian A., Wikman G., Wagner H. Plant adaptogens III. Earlier and more recent aspects and concepts on their mode of action // *Phytomedicine.* 1999. Vol. 6, N 4. P. 287–300.

References

1. Chouinard-Watkins R., Lacombe R.J.S., Bazinet R.P. Mechanisms regulating brain docosahexaenoic acid uptake: what is the recent evidence? *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2017 Dec 4. doi: 10.1097/MCO.0000000000000440.
2. Echeverría F., Valenzuela R., Catalina Hernandez-Rodas M., Valenzuela A. Docosahexaenoic acid (DHA), a fundamental fatty acid for the brain: New dietary sources. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 2017; 124: 1–10. doi: 10.1016/j.plefa.2017.08.001
3. Brites P., Waterham H.R., Wanders R.J.A. Functions and biosynthesis of plasmalogens in health and disease. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids.* 2004; 1636 (2): 219–31.
4. Hossain M.S., Mineno K., Katafuchi T. Neuronal orphan G-protein coupled receptor proteins mediate plasmalogens-induced activation of ERK and Akt signaling. *PLoS One.* 2016; 11 (3): e0150846.
5. Ifuku M., et al. Anti-inflammatory/anti-amyloidogenic effects of plasmalogens in lipopolysaccharide-induced neuroinflammation in adult mice. *J Neuroinflamm.* 2012; 9 (1): 197.
6. Sidorova Yu.S., Sarkisyan V.A., Petrov N.A., Kochetkova A.A., Mazo V.K. The experimental evaluation of effectiveness of lipid module, enriched with docosahexaenoic acid and astaxanthin. *Byulleten' eksperimental'noi biologii i meditsiny [Bulletin of Experimental Biology and Medicine].* 2017; 163 (5): 652–6. (in Russian)
7. Sidorova Yu.S., Zorin S.N., Petrov N.A., Makarenko M.A., Sarkisyan V.A., Mazo V.K., et al. Physiological and biochemical evaluation of rats' diet enrichment with docosahexaenoic acid and astaxanthin. *Voprosy pitaniia [Problems of Nutrition].* 2015; 84 (5): 46–55. (in Russian)
8. Barros M.P., Marin D.P., Bolin A.P., et al. Combined astaxanthin and fish oil supplementation improves glutathione-based redox balance in rat plasma and neutrophils. *Chem Biol Interact.* 2012; 197 (1): 58–67. doi: 10.1016/j.cbi.2012.03.005.
9. Zuluaga M., Gueguen V., Letourneur D., Pavon-Djavid G. Astaxanthin-antioxidant impact on excessive Reactive Oxygen Species generation induced by ischemia and reperfusion injury. *Chem Biol Interact.* 2017; 279: 145–58. doi: 10.1016/j.cbi.2017.11.012.
10. Kumar R., Salwe K.J., Kumarappan M. Evaluation of antioxidant, hypolipidemic, and antiatherogenic property of lycopene and astaxanthin in atherosclerosis-induced rats. *Pharmacognosy Res.* 2017; 9 (2): 161–7. doi: 10.4103/0974-8490.204654.
11. Shibaguchi T., Yamaguchi Y., Miyaji N., Yoshihara T., Naito H., Goto K., et al. Astaxanthin intake attenuates muscle atrophy caused by immobilization in rats. *Physiol Rep.* 2016; 4 (15): e12885. doi: 10.14814/phy2.12885.
12. Deng Z.Y., Shan W.G., Wang S.F., Hu M.M., Chen Y. Effects of astaxanthin on blood coagulation, fibrinolysis and platelet aggregation in hyperlipidemic rats. *Pharm Biol.* 2017; 55 (1): 663–72.
13. Hara A., Radin N.S. Lipid extraction of tissues with a low-toxicity solvent. *Anal Biochem.* 1978; 90 (1): 420–6.
14. Wu Y., Wang T. Fractionation of crude soybean lecithin with aqueous ethanol. *J Am Oil Chem Soc.* 2004; 81 (7): 697–704.
15. Ingrand S.S., et al. Quantification of long-chain aldehydes by gas chromatography coupled to mass spectrometry as a tool for simultaneous measurement of plasmalogens and their aldehydic breakdown products. *Anal Biochem.* 2000; 280 (1): 65–72.
16. Bahmet A.A. Peptide causing delta sleep in the dynamics of restoration of inguinal lymph nodes in rats with different behavioral activity after stress. *Akademicheskii zhurnal Zapadnoy Sibiri [West Siberia Academic Journal].* 2015; 1 (56): 63–4. (in Russian)
17. Sudakov K.V. Individual resistance to emotional stress. Moscow: Gorizont, 1998: 268 p. (in Russian)
18. Yumatov E.A., Metscheryakova O.A. Predicting resistance to emotional stress based on individual behavior testing. *Zhurnal vysshey nervnoy deyatel'nosti im. I.P. Pavlova [Journal of Higher Nervous Activity named after I.P. Pavlov].* 1990; 4 (3): 575–9. (in Russian)
19. Koplik E.V. Method for determining the criterion for the resistance of rats to emotional stress. *Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologiy [Bulletin of New Medical Technologies].* 2002; 9 (1): 16–8. (in Russian)
20. Singh P.K., Chopra K., Kuhad A., Kaur I.P. Role of Lactobacillus acidophilus loaded floating beads in chronic fatigue syndrome: behavioral and biochemical evidences. *Neurogastroenterol Motil.* 2012; 24 (4): 366–e170. doi: 10.1111/j.1365-2982.2011.01861.
21. Polotow T.G., Vardaris C.V., Mihaliuc A.R., Gonçalves M.S., Pereira B., Ganini D., et al. Astaxanthin supplementation delays physical exhaustion and prevents redox imbalances in plasma and soleus muscles of Wistar rats. *Nutrients.* 2014; 6 (12): 5819–38.
22. Mehani R., Yadav V.K., Sankadia R. Anxiolytic potential of astaxanthin on experimental animal model. *Int J Basic Clin Pharmacol.* 2016; 5 (1): 131–4.
23. Mattei R., Polotow T.G., Vardaris C.V., Guerra B.A., Leite J.R., Otton R., et al. Astaxanthin limits fish oil-related oxidative insult in the anterior forebrain of Wistar rats: putative anxiolytic effects. *Pharmacol Biochem Behav.* 2011; 99 (3): 349–55.
24. Panossian A., Wikman G. Effect of adaptogens on the central nervous system. *Arq Bras Fitomed. Cient.* 2005; 3 (1): 29–51.
25. Panossian A., Wikman G., Wagner H. Plant adaptogens III. Earlier and more recent aspects and concepts on their mode of action. *Phytomedicine.* 1999; 6 (4): 287–300.

Для корреспонденции

Тышко Надежда Валерьевна – кандидат медицинских наук, заведующая лабораторией оценки безопасности биотехнологий и новых источников пищи
ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии»
Адрес: 109240, Россия, г. Москва, Устьинский проезд, д. 2/14
Телефон: (495) 698-53-64
E-mail: tnv@ion.ru
<https://orcid.org/0000-0002-8532-5327>

Тышко Н.В.¹, Садыкова Э.О.¹, Груздев Д.С.², Сухачева М.В.²

Мультиплексная полимеразная цепная реакция для количественного определения генно-инженерно-модифицированного картофеля линии EN92-527-1 в пищевой продукции

Multiplex PCR for detection and quantification of GM potato event EN92-527-1 in food

Tyshko N.V.¹, Sadykova E.O.¹, Grouzdev D.S.², Sukhacheva M.V.²

¹ ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии», Москва, Россия

² Институт Биоинженерии, ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, Москва, Россия

¹ Federal Research Centre of Nutrition, Biotechnology and Food Safety, Moscow, Russia

² Institute of Bioengineering, Federal Research Centre of Fundamentals of Biotechnology of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

Цель исследования – разработка протокола количественного определения генно-инженерно-модифицированного (ГМ) картофеля линии EN92-527-1 в формате дуплексной полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (ПЦР-РВ) по технологии TaqMan® PCR.

Материал и методы. Дуплексная система включала 2 вида специфических ДНК-праймеров и флуоресцентно-меченных зондов: первый – для выявления специфичной трансформационному событию EN92-527-1 последовательности ДНК, второй – для выявления таксон-специфичного гена картофеля *Stp23*. Параметры ПЦР выбирали путем эмпирического подбора концентраций праймеров и зондов, ионов Mg²⁺, дезоксирибонуклеотидов, стабилизирующего агента для полимеразы, температуры отжига праймеров и продолжительности инкубации для каждой стадии цикла.

Результатом этих исследований являлся оптимизированный состав реакционной смеси для идентификации EN92-527-1 и фрагмента гена *Stp23* в дуплексной системе: 2,5-кратный реакционный буфер для проведения ПЦР-РВ в присутствии флуоресцентного красителя ROX (carboxy-X-rhodamine), праймеры, специфичные для ГМ-компонента (EN92-f/EN92-r) и целевого таксона (GPF3/GPR3) в количестве 250/250 и 100/100 нМ, зонды – 200 и 200 нМ соответственно; бычий

Для цитирования: Тышко Н.В., Садыкова Э.О., Груздев Д.С., Сухачева М.В. Мультиплексная полимеразная цепная реакция для количественного определения генно-инженерно-модифицированного картофеля линии EN92-527-1 в пищевой продукции // *Вопр. питания*. 2019. Т. 88, № 1. С. 57–61. doi: 10.24411/0042-8833-2019-10006.

Статья поступила в редакцию 16.11.2018. **Принята в печать** 27.12.2018.

For citation: Tyshko N.V., Sadykova E.O., Grouzdev D.S., Sukhacheva M.V. Multiplex PCR for detection and quantification of GM potato event EN92-527-1 in food. *Voprosy pitaniia [Problems of Nutrition]*. 2019; 88 (1): 57–61. doi: 10.24411/0042-8833-2019-10006. (in Russian)

Received 16.11.2018. **Accepted for publication** 27.12.2018.

сывороточный альбумин – 0,04%; $MgCl_2$ – 3,5 мМ, дезоксинуклеозидтрифосфаты – 0,3 мМ, а также температурно-временной профиле реакции (начальная денатурация 95 °С – 5 мин, последующие 45 циклов: 95 °С – 20 с, 58 °С – 20 с, 62 °С – 40 с).

Заключение. Разработан метод количественного определения ДНК ГМ-картофеля линии EH92-527-1 в формате дуплексного ПЦР-анализа. Линейность, прецизионность, правильность и предел определения метода подтверждены в исследованиях *in vitro* и свидетельствуют о его надежности.

Ключевые слова: ГМ-картофель, методы контроля, ПЦР-РВ, дуплексная ПЦР, трансформационное событие EH92-527-1

Aim – the elaboration of the protocol for the quantitative detection of genetically modified (GM) potato event EH92-527-1 in the format of duplex real-time polymerase chain reaction (RT-PCR) with TaqMan® PCR technology.

Material and methods. The duplex system included two types of specific DNA primers and fluorescent probes: the 1st was for identifying of the event-specific EH92-527-1 DNA, the 2nd was for identifying of the taxon-specific potato gene *Stp23*. The selection of PCR parameters was carried out by empirical assortment of primers and probes, Mg^{2+} -ions, deoxyribonucleotides and polymerase stabilizing agent, primers annealing temperature and incubation time for the each cycle stage.

The results of this research was the optimization of the reaction mixture composition for EH92-527-1 event and *Stp23* gene fragment identification in the duplex system: 2.5× RT-PCR buffer in the presence of ROX, primers specific for the GM potato (EH92-f/EH92-r) and target taxon (GPF3/GPR3) in the amount of 250/250 and 100/100 nM, probes – 200 and 200 nM, respectively; bovine serum albumin – 0.04%; $MgCl_2$ – 3.5 mM, deoxynucleoside triphosphates – 0.3 mM, as well as the temperature-time reaction profile (initial denaturation at 95 °C – 5 minutes, the next 45 cycles: 95 °C – 20 seconds, 58 °C – 20 seconds, 62 °C – 40 seconds).

Conclusion. The method for the quantitative detection of genetically modified (GM) potato event EH92-527-1 in the format of duplex RT-PCR has been elaborated. The linearity, precision, accuracy and limit of the method definition are confirmed with *in vitro* studies, that results testify to the method's reliability.

Keywords: GM-potato, methods of control, RT-PCR, duplex PCR, transformation event EH92-527-1

Система контроля за оборотом генно-инженерно-модифицированных организмов растительного происхождения (ГМО) на продовольственном рынке, действующая в настоящее время в Российской Федерации, предусматривает использование метода полимеразной цепной реакции (ПЦР). Особенности законодательного регулирования ГМО (порог маркировки и порог отнесения к случайной или технически неустраняемой примеси составляет 0,9%) определяют необходимость применения количественных методов анализа, к которым относится ПЦР в режиме реального времени (ПЦР-РВ). Существующий перечень протоколов ПЦР-РВ, аттестованных (валидированных) и утвержденных в соответствии с международными стандартами в области методов контроля за ГМО, позволяет идентифицировать и проводить количественный анализ содержания кукурузы (27 линий), сои (17), риса (2), сахарной свеклы (1), а также картофеля (1) и прочих культур [1–3]. База данных Объединенного исследовательского центра Европейской комиссии (Joint Research Centre of the European Commission, JRC EC) [3] содержит 125 протоколов ПЦР, из них 68 – для событие-специфичного анализа, 22 – для конструктор-специфичного анализа, а также 35 – для элемент-специфичного анализа (по ситуации на декабрь 2018 г.).

Принимая во внимание, что все вышеупомянутые протоколы предусматривают применение реакционных смесей европейских производителей, их использование в рутинной практике российских испытательных лабораторий имеет целый ряд ограничений экономического и логистического характера. Методическое обеспечение контроля за ГМО в Российской Федерации предусматривает в том числе адаптацию существующих ПЦР-протоколов к отечественным реагентам и приборам, валидацию новых методов в соответствии с требованиями ГОСТ Р ИСО 5725-1-2002 [4] и МУК 4.2.3389-16 [5] и разработку методических указаний или государственных стандартов, утверждаемых в установленном порядке. К настоящему времени в Российской Федерации перечень методов идентификации и количественного определения событие-специфичной рекомбинантной ДНК включает 27 линий (трансформационных событий), а также методы скринингового анализа, основанные на определении конструктор-специфичной и элемент-специфичной ДНК. Все эти методы в различных комбинациях представлены более чем в 150 коммерческих тест-системах отечественного производства, позволяющих выявить присутствие более 80% от всех зарегистрированных в мире ГМО.

Следует отметить, что совершенствование методологии лабораторного контроля за ГМО на современном

Таблица 1. Нуклеотидные последовательности праймеров и зондов [11, 12]

Олигонуклеотид	Название	Последовательность (5'-3')
<i>EH92-527-1</i>		
Прямой праймер	EH92-f	GTG TCA AAA CAC AAT TTA CAG CA
Обратный праймер	EH92-r	TCC CTT AAT TCT CCG CTC ATG A
TaqMan-зонд	EH92-p	FAM-AGA TTG TCG TTT CCC GCC TTC AGT T-BHQ-1
<i>Stp23</i>		
Прямой праймер	GPF3	TTA TTA ATT GGA ATG CTA CGT ATG ATA
Обратный праймер	GPR3	CTC TCA TGT GTA ACA GTA AAT ATA CA
TaqMan-зонд	GP-p	R6G-AGA TTG TCG TTT CCC GCC TTC AGT T-BHQ-2

этапе развития подразумевает использование мультиплексирования ПЦР-РВ. В основе концепции мультиплексной ПЦР лежит возможность регистрации накопления специфичных продуктов амплификации по нескольким каналам детекции, так как ПЦР-РВ позволяет одновременно использовать несколько комплементарных пар красителей/гасителей с неперекрывающимися спектрами излучения. Применение мультиплексной ПЦР-РВ, предполагающей протекание двух и более реакций в одной пробирке, позволяет существенно сократить время проведения анализа, снизить расход реагентов и риск возникновения ошибок при пипетировании и т.п. [6, 7].

Цель данной работы – разработка протокола количественного определения ГМ-картофеля линии EH92-527-1 в формате двухкомпонентной (дуплексной) ПЦР-РВ по технологии TaqMan® PCR.

Материал и методы

В работе были использованы стандартные сертифицированные образцы ГМ-картофеля линии EH92-527-1 (кат. № ERM-BF421b) и образцы не ГМ-аналога (кат. № ERM-BF421a) производства JRC-IRMM (Institute for Reference Materials and Measurements), Бельгия. ERM-

BF421b произведен из лиофилизированных клубней картофеля, концентрация ГМО составляет 100%; ERM-BF421a – из традиционного картофеля сорта Kuras.

Для выделения ДНК применяли модифицированный метод щелочной экстракции по Бирнбойму–Доли и Wizard-технологии фирмы «Promega» (США) [8, 9]. Количество и качество ДНК определяли общепринятыми методами [10].

Для идентификации трансформационного события EH92-527-1 и фрагмента гена *Stp23* применяли флуоресцентно-меченные зонды и пары праймеров (табл. 1). Праймеры и зонды синтезированы НПК «Синтол» (РФ).

Для проведения ПЦР использовали амплификатор CFX96™ Real-Time PCR System (Bio-Rad, США). Продукты ПЦР анализировали путем их детекции в режиме реального времени. Полученные данные обрабатывали с помощью пакета CFX Manager™ Software, версия 1.6.

Результаты и обсуждение

Выбор оптимальных параметров ПЦР проводили на основании эмпирического подбора концентраций праймеров и зондов, ионов Mg²⁺, дезоксирибонуклеотидов,

Таблица 2. Состав амплификационной смеси

Компонент	Конечная концентрация	мм ³ / реакция
2,5-кратная реакционная смесь для проведения ПЦР-РВ в присутствии ROX*	1×	10
EH92-f (10 мкМ)	250 нМ	0,75
EH92-r (10 мкМ)	250 нМ	0,75
EH92-p (10 мкМ)	200 нМ	0,5
GPF3 (10 мкМ)	100 нМ	0,25
GPR3 (10 мкМ)	100 нМ	0,25
GP-p (10 мкМ)	200 нМ	0,5
MgCl ₂ (25 мМ)*	3,5 мМ	0,5
Дезоксинуклеозидтрифосфаты (dNTP) (2,5 мМ каждого)*	0,3 мМ	0,5
Бычий сывороточный альбумин (20 нг/см ³)	0,04%	0,5
Деионизированная вода	–	0,5
ДНК	–	10
Конечный объем		25 мм ³

Примечание. * – 2,5-кратная реакционная смесь (НПК «Синтол», Россия) для проведения ПЦР-РВ в присутствии флуоресцентного красителя ROX (carboxy-X-rhodamine) содержит 2,5 мМ MgCl₂ и 2,5 мМ каждого dNTP.

Таблица 3. Температурно-временной профиль реакции

Стадия	Процесс	t, °C	Время, с	Количество циклов	
I	Начальная денатурация	95	300	1	
II	Аmplификация	денатурация	95	20	45
		отжиг	58	20	
		элонгация	62	40	

стабилизирующего агента для полимеразы, температуры отжига праймеров и продолжительности инкубации для каждой стадии цикла.

Результаты исследований, включающие состав реакционной смеси и режим амплификации, представлены в табл. 2 и 3.

В соответствии с требованиями к валидации методов контроля за ГМО [5] экспериментально определены аналитические характеристики метода.

Наличие прямо пропорциональной зависимости аналитического сигнала от количества определяемого вещества в образце подтвердило линейность разработанной методики. В диапазоне рабочих концентраций от 0,1 до 5% угол наклона стандартной кривой лежал в интервале от -3,2 до -4,1, а коэффициент корреляции линейной регрессии (R^2) превышал 0,98. Значения систематической ошибки и относительного стандартного отклонения ($RSDr$) находились в допустимом интервале ($\pm 25\%$) для каждого стандартного образца внутри диапазона применения данного метода, что свидетельствует о правильности и прецизионности разработанного протокола.

Предел обнаружения составил 0,1%, или 56 копий геномной ДНК картофеля линии EN92-527-1 из расчета

на 100 нг суммарной ДНК, $RSDr \leq 25\%$. Предел количественного обнаружения – 0,3%, или 168 копий геномной ДНК картофеля линии EN92-527-1 из расчета на 100 нг суммарной ДНК, $RSDr \leq 25\%$.

Заключение

Таким образом, разработан метод количественного определения ДНК ГМ-картофеля линии EN92-527-1 в формате дуплексного ПЦР-анализа. Линейность, прецизионность, правильность и предел определения метода подтверждены в исследованиях *in vitro* и свидетельствуют о его надежности, что позволяет рекомендовать данный метод для использования в рамках надзора за обращением ГМ-картофеля в Российской Федерации.

Финансирование Научно-исследовательская работа по подготовке рукописи проведена за счет гранта Российского научного фонда (проект № 16-16-04123).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Сведения об авторах

Тышко Надежда Валерьевна (Tyshko Nadezhda V.) – кандидат медицинских наук, заведующая лабораторией оценки безопасности биотехнологий и новых источников пищи ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии» (Москва, Россия)
E-mail: tnv@ion.ru

<https://orcid.org/0000-0002-8532-5327>

Садыкова Эльвира Олеговна (Sadykova Elvira O.) – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории оценки безопасности биотехнологий и новых источников пищи ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии» (Москва, Россия)

E-mail: seo@ion.ru

<https://orcid.org/0000-0001-5446-5653>

Груздев Денис Сергеевич (Grouzdev Denis S.) – кандидат биологических наук, заведующий лабораторией молекулярной диагностики Института Биоинженерии, ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН (Москва, Россия)

E-mail: denisgrouzdev@gmail.com

<https://orcid.org/0000-0002-1358-5146>

Сухачева Марина Владимировна (Sukhacheva Marina V.) – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории молекулярной диагностики Института Биоинженерии ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН (Москва, Россия)

E-mail: msukhacheva@mail.ru

<https://orcid.org/0000-0003-4406-6581>

Литература

- Angers-Loustau A., Petrillo M., Bonfini L. et al. JRC GMO-Matrix: a web application to support Genetically Modified Organisms detection strategies // BMC Bioinformatics. 2014. Vol. 15, N 1. P. 417.

2. Bonfini L., van den Bulcke M.H., Mazzara M., Ben E. et al. GMOMETHODS: The European Union database of reference methods for GMO analysis // *J. AOAC Int.* 2012. Vol. 95, N 6. P. 1713–1719.
3. GMOMethods Online Database. URL: <http://gmo-crl.jrc.ec.europa.eu/gmomethods/> (date of access October 27, 2018).
4. ГОСТ Р ИСО 5725-1-2002. Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 1. Основные положения и определения М. : Стандартинформ, 2009. 24 с.
5. Валидация методов, предназначенных для выявления и идентификации генно-инженерно-модифицированных организмов в пищевых продуктах и продовольственном сырье : методические указания (МУК 4.2.3389-16). М. : Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2016. 19 с.
6. Аляпкина Ю.С., Моисеева М.В., Ксенофонтова О.В., Алексеев Я.И. Разработка и валидация набора для мультиплексного ПЦР-РВ анализа регуляторных элементов (промотора *SsuAra* и терминатора *E9*) для обнаружения генетически модифицированных (ГМ) линий рапса, сои, картофеля и других растений // *Изв. Тимирязевской с.-х. акад.* 2018. № 3. С. 5–16.
7. Тышко Н.В., Садыкова Э.О., Сухачева М.В., Батурин А.К. Молекулярно-генетические исследования генно-инженерно-модифицированного картофеля: трансформационное событие PH05-026-0048 // *Вопр. питания.* 2018. Т. 87, № 4. С. 25–31.
8. Булыгина Е.С., Колганова Т.В., Сухачева М.В. и др. Выделение ДНК из различных пищевых продуктов с помощью модифицированного щелочного метода // *Биотехнология.* 2009. № 2. С. 83–90.
9. ГОСТ Р ИСО 21571-2014. Продукты пищевые. Методы анализа для обнаружения генетически модифицированных организмов и полученных из них продуктов. Экстракция нуклеиновых кислот. М. : Стандартинформ, 2016. 41 с.
10. ГОСТ Р 53244-2008 (ИСО 21570:2005). Продукты пищевые. Методы анализа для обнаружения генетически модифицированных организмов и полученных из них продуктов. Методы, основанные на количественном определении нуклеиновых кислот. М. : Стандартинформ, 2009. 60 с.
11. Event-Specific Method for the Quantification of Amylopectin Potato Event EH92-527-1 Using Real-time PCR. Community Reference Laboratory for GM Food and Feed. URL: <http://gmo-crl.jrc.ec.europa.eu/summaries/EH92-527-1-%20Validation%20Report.pdf> (дата обращения: 27.10.2018).
12. Кочиева Е.З., Сухачева М.В., Слугина М.А. и др. Способ количественного определения геномной ДНК картофеля в растительном сырье и в продуктах, получаемых на его основе, в том числе при количественной идентификации ГМО, с использованием высокоспецифичного ДНК-маркера. Пат. РФ № 2658352 от 20.06.2018.

References

1. Angers-Loustau A., Petrillo M., Bonfini L., et al. JRC GMO-Matrix: a web application to support Genetically Modified Organisms detection strategies. *BMC Bioinformatics.* 2014; 15 (1): 417.
2. Bonfini L., van den Bulcke, M. H., Mazzara M., Ben E., et al. GMOMETHODS: The European Union database of reference methods for GMO analysis. *J AOAC Int.* 2012; 95 (6): 1713–9.
3. GMOMethods Online Database. URL: <http://gmo-crl.jrc.ec.europa.eu/gmomethods/> (date of access October 27, 2018).
4. GOST R ISO 5725-1-2002 Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results. Part 1. General principles and definitions. Moscow: Standartinform, 2009: 24 p. (in Russian)
5. Methodical Guidelines 4.2.3389-16. Validation of methods for detection and identification of genetically modified organisms in food products and food raw materials. Moscow: Federal Center of Hygiene and Epidemiology of Federal Office for Inspectorate in Field of Consumers and Human Well-Being Protection, 2016: 19 p. (in Russian)
6. Alyapkina Yu.S., Moiseyeva M.V., Ksenofontova O.V., Alekseyev Ya.I. Development and validation of multiplex real-time PCR test system for analyzing regulator elements (*SsuAra* promoter and *E9* terminator) to detect genetically-modified strains of rape, soybeans, potatoes and other plants. *Izvestiya Timiryazevskoy sel'skokhozyaystvennoy akademii [Bulletin of the Timiryazev Agricultural Academy]*. 2018; (3): 5–16. (in Russian)
7. Tyshko N.V., Sadykova E.O., Sukhacheva M.V., Baturin A.K. Molecular and genetic studies of genetically engineered potato: transformation event PH05-026-0048. *Voprosy pitaniia [Problems of Nutrition]*. 2018; 87 (4): 25–31. (in Russian)
8. Bulygina E.S., Kolganova T.V., Sukhacheva M.V., et al. DNA extraction from different food products using the modified alkaline method. *Biotechnologiya [Biotechnology]*. 2009; (2) 83–90. (in Russian)
9. GOST R ISO 21571-2014. Methods of analysis for the detection of genetically modified organisms and derived products. Nucleic acid extraction. Moscow: Standartinform, 2016: 41 p. (in Russian)
10. GOST R 53244-2008 [ISO 21570:2005]. Foodstuffs. Methods of analysis for the detection of genetically modified organisms and derived products. Quantitative nucleic acid based methods. Moscow: Standartinform, 2009: 60 c. (in Russian)
11. Event-specific Method for the Quantification of Amylopectin Potato Event EH92-527-1 Using Real-time PCR. Community Reference Laboratory for GM Food and Feed. URL: <http://gmo-crl.jrc.ec.europa.eu/summaries/EH92-527-1-%20Validation%20Report.pdf> (date of access October 27, 2018).
12. Kochieva E.Z., Sukhacheva M.V., Slugina M.A., et al. Method for quantitative determination of potato genomic DNA in plant raw materials and products derived from it, including the quantitative identification of GMO, using a highly specific DNA marker. RU Patent No. 2658352 of 06/20/2018. (in Russian)

Для корреспонденции

Штина Ирина Евгеньевна – кандидат медицинских наук, заведующая лабораторией комплексных проблем здоровья детей с клинической группой медико-профилактических технологий управления рисками ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения» Роспотребнадзора
 Адрес: 614045, Россия, г. Пермь, ул. Монастырская, д. 82
 Телефон: (342) 237-25-34
 E-mail: shtina_irina@mail.ru
<http://orcid.org/0000-0002-5017-8232>

Штина И.Е.¹, Валина С.Л.¹, Ямбулатов А.М.², Устинова О.Ю.^{1, 3}

Особенности основных видов обмена у учащихся средних общеобразовательных учреждений в зависимости от организации учебного процесса и общественного питания

Peculiarities the main types of metabolism of students of middle educational institutions depending on the organization of the educational process and public catering

Shtina I.E.¹, Valina S.L.¹, Yambulatov A.M.², Ustinova O.Yu.^{1, 3}

- ¹ ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения» Роспотребнадзора, Пермь, Россия
- ² Управление Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Пермскому краю, Пермь, Россия
- ³ ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», Пермь, Россия
- ¹ Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies, Perm, Russia
- ² Administration of the Federal Service on Customers' Rights Protection and Human Well-Being Surveillance in Permskiy kraj, Perm, Russia
- ³ Perm State National University, Perm, Russia

Учитывая существенный вклад факторов внутришкольной среды в формирование здоровья школьников, целью исследования являлось изучение особенностей основных видов обмена у учащихся средних общеобразовательных учреждений в зависимости от организации учебного процесса и общественного питания.

Материал и методы. Группу наблюдения составили 137 учащихся средней общеобразовательной школы с углубленным изучением предметов физико-математического цикла в возрасте $12,9 \pm 1,3$ года; группу сравнения – 131 учащийся средней общеобразовательной школы в возрасте $12,7 \pm 1,2$ года. Для проведения социологического исследования была разработана специальная анкета, позволяющая оценить социально-экономические характеристики семей обследованных школьников, регулярность и длительность занятий спортом, время,

Для цитирования: Штина И.Е., Валина С.Л., Ямбулатов А.М., Устинова О.Ю. Особенности основных видов обмена у учащихся средних общеобразовательных учреждений в зависимости от организации учебного процесса и общественного питания // *Вопросы питания*. 2019. Т. 88, № 1. С. 62–70. doi: 10.24411/0042-8833-2019-10007.

Статья поступила в редакцию 17.07.2018. **Принята в печать** 27.12.2018.

For citation: Shtina I.E., Valina S.L., Yambulatov A.M., Ustinova O.Yu. Peculiarities the main types of metabolism of students of middle educational institutions depending on the organization of the educational process and public catering. *Voprosy pitaniia* [Problems of Nutrition]. 2019; 88 (1): 62–70. doi: 10.24411/0042-8833-2019-10007. (in Russian)

Received 17.07.2018. **Accepted for publication** 27.12.2018.

затраченное на обязательное и дополнительное образование, домашнее питание детей и т.д. Оценка школьного питания проведена по меню-раскладкам (14-дневное примерное меню) и с помощью индивидуального весового метода. Проведены антропометрические измерения. Показатели жирового [концентрация общего холестерина, триглицеридов, липопротеинов высокой (ЛПВП) и низкой плотности (ЛПНП), аполипопротеина А1 (АпоА1), АпоВ и АпоВ/АпоА1], белкового (общий белок, альбумин), углеводного (глюкоза) и минерального (кальций, фосфор, магний, железо) обмена, концентрацию в сыворотке крови дофамина, лептина и кортизола определяли биохимическими и иммуноферментными методами.

Результаты и обсуждение. В школе с углубленным изучением отдельных предметов в ходе оценки соответствия образовательного режима требованиям СанПиН 2.4.2.2821-10 выявлены нарушения гигиенических требований к составлению расписания уроков, превышение объема недельной нагрузки, большая суммарная учебная нагрузка, рассчитанная по шкале трудности предметов. Учащиеся профилированной школы больше времени затрачивают на образовательную школьную и внешкольную деятельность на фоне снижения двигательной активности. До 87,0% детей в домашних условиях питаются нерегулярно, всухомятку, употребляют фастфуд и снековую продукцию. В образовательном учреждении с углубленным изучением предметов, несмотря на возможность выбора блюда, фактически потребленные в школе рационы не удовлетворяют усредненной потребности в пищевых веществах и энергии во время завтрака (25% от суточной потребности), по содержанию макронутриентов и энергии – на 20%, кальция и витамина В₁ – на 45–55%, фосфора – на 39%, магния – на 18%. В школе физико-математического профиля доля детей с избыточной массой тела в 2,8 раза выше, чем в массовой школе (19,0 против 6,0%, OR=3,5, DI=1,4–9,6; p=0,01). Выявлена тенденция к повышению атерогенности структуры липидного спектра за счет более высоких показателей в крови ЛПНП и снижения уровня АпоА1 и ЛПВП (p=0,004–0,02). Установленные особенности основных видов обмена у учащихся школы с углубленным изучением отдельных предметов сопровождаются относительно высокими концентрациями кортизола, лептина и дофамина (p=0,0001–0,03), свидетельствующими о напряжении нейроэндокринной регуляции.

Заключение. Интенсификация процесса обучения в профилированных школах в сочетании с низким уровнем двигательной активности, нерациональным питанием и нарушениями пищевого поведения до 3,5 раза повышает риск формирования у школьников избытка массы тела на фоне напряжения эндокринной регуляции.

Ключевые слова: основные виды обмена, учащиеся, профилированные школы, образовательный процесс, организация питания, макронутриенты

Taking into account the fact that factors of intra-school environment are of great importance when forming health of pupils, this study aimed to investigate the main kinds of metabolism among pupils of secondary educational institutions depending on the organization of educational process and food services.

Material and methods. The observing group comprised of 137 students of Secondary School focusing on physico-mathematical sciences at the age of 12.9±1.3 years; the comparison group consisted of 131 students of Secondary School at the age of 12.7±1.2 years. To conduct a sociological study, a special questionnaire was developed, allowing to assess the socio-economic characteristics of the families of the surveyed pupils, the regularity and duration of sport activity, the time spent on compulsory and additional education, home nutrition, etc. The assessment of school meals was carried out using the menu-layouts (14-day approximate menu) and by individual weight method. Anthropometric measurements were conducted. Indicators of fat [total cholesterol, triglycerides, HDL, LDL, apolipoprotein A1 (ApoA1), ApoB and ApoB/ApoA1], protein (total protein, albumin), carbohydrate (glucose) and mineral metabolism (calcium, phosphorus, magnesium, iron) and blood serum concentration of dopamine, leptin and cortisol were determined by biochemical and ELISA methods.

Results and discussion. When assessing the compliance of the educational regime with the requirements of Sanitary Regulations and Standards 2.4.2.2821-10 at school affording intensive study of various subjects the violations of hygienic requirements for scheduling lessons, the exceedance of weekly load, a large total workload calculated on the subject difficult scale were revealed. It was found out that students of school affording intensive study spend more time on school and out-of-school education while motor activity was significantly reduced. Up to 87.0% of children ate at home irregularly, dry, consumed fast food and snacks. Despite the possibility of choosing a dish the rations actually consumed at school affording intensive study didn't meet the average need for nutrients and energy during breakfast (25% of the established daily need), in terms of the content of macronutrients and energy by 20%, calcium and vitamin B₁ by 45–55%, phosphorus by 39%, magnesium by 18%. At school focusing on physico-mathematical sciences the proportion of overweight children was 2.8-fold higher than in general school (19.0 vs 6.0%, OR=3.5, DI=1.4–9.6; p=0.01). The trend towards increased atherogenic structure of the lipid spectrum because of higher blood levels of LDL and lower levels of ApoA1 and HDL (p=0.004–0.02) has been found out. The established features of the main types of metabolism among pupils of school affording intensive study of various subjects have been associated with relatively high concentrations of cortisol, leptin and dopamine (p=0.0001–0.03) that indicated tension of neuroendocrine regulation.

Conclusion. Intensification of the learning process in profiled schools in combination with a low level of physical activity, inadequate nutrition and eating disorders up to 3.5 times increases the risk of overweight in schoolchildren against the background of endocrine regulation stress.

Keywords: the main types of metabolism, students, school with advanced study, educational process, public catering, nutrients

Согласно данным современных исследователей, общий вклад факторов школьной среды в изменчивость показателей состояния здоровья учащихся составляет 20–40%. Школьный возраст отличается высокой интенсивностью роста и формирования сис-

тем жизнеобеспечения детского организма на фоне повышенной чувствительности к воздействию средовых факторов [1, 2]. Условия обучения, тип учебного заведения вносят существенный вклад в формирование здоровья учащихся. Данные многоцентровых иссле-

дований свидетельствуют о том, что для школьников, обучающихся в инновационных общеобразовательных учреждениях, характерно прогрессивное снижение показателей здоровья. Установлено, что повышенная истощаемость нервных процессов в условиях длительного влияния стрессорных факторов образовательного процесса является одной из причин развития обменных нарушений и формирования соматической патологии у учащихся школ нового типа – гимназий, лицеев, колледжей [1, 3–6].

На пике учебных нагрузок нервная система детей испытывает повышенную потребность в нейротропных витаминах (группы В), минеральных веществах (магний, железо, цинк, кальций), витаминоподобных веществах (ω -3 полиненасыщенные жирные кислоты, лецитин, карнитин и др.), общей энергетической поддержке [1, 7]. Данные гигиенических исследований свидетельствуют о том, что 50% учащихся основной школы и старших классов питаются не чаще 3 раз в день, при этом одной из главных причин нерегулярности питания являются высокие учебные нагрузки. У 69% подростков отмечается нарушение пищевого поведения с преобладанием экстернального типа, когда над внутренними преобладают внешние побуждения к приему пищи, например, рекламные образы. При высокой стрессодоступности и пониженной стрессоустойчивости прием пищи играет роль своеобразного защитного механизма от стресса, но такая форма защиты патологична и приводит к ожирению. В условиях нерегулярного, неполноценного и несбалансированного по основным компонентам питания при повышенных учебных нагрузках быстро наступает истощение нервной системы. По мнению ведущих ученых, решение вопроса обеспечения регулярного, рационального и здорового питания, формирование правильного пищевого поведения обучающихся в образовательных организациях является одним из основных путей сохранения и укрепления здоровья подрастающего поколения [1, 7–9].

Еще одним следствием высокой занятости школьников является уменьшение их общей физической активности с развитием гиподинамии, вследствие чего снижается уровень психической активности и стрессоустойчивости, нарушаются регуляция цикла «сон–бодрствование», вегетативная реактивность, адекватное функционирование эндокринной, сердечно-сосудистой, гастроинтестинальной и других систем [1, 10].

Стресс, низкая двигательная активность и нарушение пищевого поведения являются основными пусковыми факторами развития ожирения в связи с формированием дисбаланса нейроэндокринной регуляции. В настоящее время постоянно увеличивается доля детей с избыточной массой тела, которая, по критериям Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), коррелирует с риском развития артериальной гипертензии, гиперинсулинемии, инсулинорезистентности и дислипидемии [1, 11]. С 2005 г. в Российской Федерации число детей с установленным впервые в жизни ожирением выросло в 1,4 раза: с 260 до 363,3 на 100 тыс. детского населения [12, 13].

В условиях высокой занятости, низкой физической активности, нерегулярного и несбалансированного питания у учащихся формируются метаболические сдвиги на уровне клеточных мембран, связанные прежде всего с нарушениями липидного обмена и обусловленные напряжением компенсаторных механизмов, направленных на поддержание гомеостаза [14].

Цель исследования – изучить особенности состояния основных видов обмена у учащихся средних общеобразовательных учреждений в зависимости от организации учебного процесса и общественного питания.

Материал и методы

С целью оценки влияния организации образовательного процесса и общественного питания на состояние основных видов обмена были обследованы учащиеся 5–9-го классов (II уровень образования) средней общеобразовательной школы с углубленным изучением предметов физико-математического цикла (СОШ ФМЦ) и средней общеобразовательной школы (СОШ). Группу наблюдения составили 137 учащихся СОШ ФМЦ (76% – мальчики и 24% – девочки), в группу сравнения вошел 131 учащийся СОШ (74 и 26% соответственно, $p > 0,05$). Средний возраст детей группы наблюдения составил $12,9 \pm 1,3$ года, группы сравнения – $12,7 \pm 1,2$ года ($p = 0,2$).

В ходе исследования выполнена сравнительная гигиеническая оценка режимов образовательного процесса в СОШ ФМЦ и СОШ на предмет их соответствия требованиям СанПиН 2.4.2.2821-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к условиям и организации обучения в общеобразовательных учреждениях».

Для проведения социологического исследования была разработана специальная анкета, позволяющая оценить социально-экономические характеристики семей обследованных школьников, регулярность и длительность занятий спортом, время, затраченное на обязательное и дополнительное образование, домашнее питание детей и т.д. Обработка результатов исследования реализована в программе SPSS 15.0 для Windows (IBM, США) с помощью методов описательной статистики с количественной оценкой зависимости между переменными.

Гигиеническая оценка школьного питания учащихся проведена по меню-раскладкам, составленным на основании 14-дневного примерного меню, и с помощью индивидуального весового метода. Методика заключалась во взвешивании блюд на раздаче и определении среднего веса порций, предлагаемых учащимся (по 10 измерениям). После окончания приема пищи взвешивали остатки индивидуальных порций, рассчитывали и регистрировали уровень потребления изделий в среднем ребенком. Взвешивание проведено на товарных электронных весах с точностью до 5 г. Анализ пищевой и энергетической ценности фактически потребляемого рациона выполнен исходя из данных таблиц химического состава [15], сравнение проведено с нормами физиологических потребностей (НФП) в энергии и пище-

вых веществах [16] с учетом того, что на долю завтрака в школе приходится 25% суточной потребности. Исследовано соотношение основных пищевых веществ в рационе школьного питания, а также проведена оценка меню на соответствие требованиям СанПиНа 2.4.5.2409-08 «Санитарно-эпидемиологические требования к организации питания обучающихся в общеобразовательных учреждениях, учреждениях начального и среднего профессионального образования».

Антропометрические измерения школьников (рост, масса тела) проводили с использованием стандартного антропометрического инструментария. Индекс массы тела оценивали в соответствии с международными стандартами, рекомендованными ВОЗ (SDS-шкала) [17].

С целью сравнительного анализа состояния обмена веществ у учащихся исследуемых школ изучали показатели жирового [концентрация общего холестерина, триглицеридов, липопротеинов высокой (ЛПВП) и низкой плотности (ЛПНП), аполипопротеина А1 (АпоА1), АпоВ и АпоВ/АпоА1], белкового (общий белок, альбумин), углеводного (глюкоза) и минерального (кальций, фосфор, магний, железо) обмена. Исследование показателей выполнено унифицированными биохимическими и иммуноферментными методами с помощью автоматического биохимического «Keylab» (BPC+BioSed, Италия) и иммуноферментного «Infinite F50» (Tecan, Австрия) анализаторов. Для количественного определения методом иммуноферментного анализа дофамина в сыворотке крови использовали тест-систему Dopamine ELISA (LaborDiagnostika, Германия); для определения лептина в сыворотке и плазме крови – тест-систему (DRG International, Inc., Германия); кортизола – тест-систему (DBC, Канада). Интегральный показатель антиоксидантной активности определяли в плазме крови по величине торможения перекисного окисления липидов в модельной системе желточных липопротеидов, для количественного определения малонового диальдегида использован колориметрический метод с тиобарбитуровой кислотой [18–22].

Клинико-лабораторное обследование проводили с соблюдением этических принципов, изложенных в Хельсинкской декларации (1983 г.), Национального стандарта РФ ГОСТ-Р 52379-2005 «Надлежащая клиническая практика» (ICH E6 GCP) и требований Этического комитета ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения» Роспотребнадзора (протокол № 12 от 03.02.2017). От родителей и законных представителей обследованных детей было получено предварительное письменное информированное согласие на добровольное участие в обследовании.

Статистическую обработку полученного материала проводили с помощью стандартных методов статистики и специальных программных продуктов с приложениями MS-Office. Учитывая нормальное распределение данных, для количественных признаков были вычислены средние значения величин (M) и ошибка среднеарифметической величины (m). Для оценки достоверности

различий использовали t -критерий Стьюдента ($t > 2$). Риск развития нарушений обмена веществ установлен на основе расчета показателя отношения шансов (OR). Критериями наличия достоверной связи являлись $OR \geq 1$ и нижняя граница $DI > 1$ [23].

Результаты и обсуждение

Гигиеническая оценка образовательного процесса учащихся СОШ ФМЦ выявила превышение допустимой недельной учебной нагрузки относительно требований СанПиН 2.4.2.2821-10, объем которой составил 38 ч при регламентируемых 36 ч для 6-дневной рабочей недели; в СОШ объем нагрузки соответствовал регламентированному 32 ч для 5-дневной рабочей недели. Расписание учащихся СОШ ФМЦ оценено по шкале трудности предметов как нерациональное, так как наивысший балл приходился на среду и пятницу (по 41 баллу), что не соответствует гигиеническим требованиям СанПиН 2.4.2.2821-10, в то время как у учащихся СОШ образовательный процесс был организован в соответствии с нормативным документом. Суммарная нагрузка СОШ ФМЦ по количеству баллов за неделю в 1,4 раза превышала нагрузку СОШ (301 балл против 222 баллов, $p < 0,001$).

По результатам социологического опроса родителей школьников проанализирован социально-экономический портрет семей. Ситуация, когда ребенок проживает в полной семье, наблюдалась в 72,2% случаев среди опрошенных в группе наблюдения и в 65,9% случаев – в группе сравнения ($p > 0,05$); семьи, в которых школьник проживает только с мамой, составили 23,6 и 20,0% соответственно ($p > 0,05$). Почти половина семей (44% в группе наблюдения и 49% в группе сравнения) имела низкий доход (до 15 тыс. руб. на 1 члена семьи в месяц); у 39 и 35% семей соответственно доход составлял от 15 до 30 тыс. руб. в месяц на человека. По данному параметру различие между выборками также статистически незначимо ($p > 0,05$).

При анкетировании родителей учащихся установлены достоверно большие временные затраты на спортивную деятельность у детей группы сравнения ($p = 0,0001$). Число школьников, регулярно (4–5 раз в неделю) занимающихся спортом, в группе наблюдения было в 1,7 раза меньше относительно группы сравнения (51 против 90%, $p = 0,001$). Более 9 ч в неделю на тренировки тратили 19% учащихся группы наблюдения и 54% учащихся группы сравнения ($p = 0,003$), каждый 3-й ребенок в обеих школах занимался спортом 6–8 ч в неделю (32 и 29% соответственно, $p = 0,7$), менее 5 ч – 49 и 17% учащихся соответственно ($p = 0,006$).

Количество учащихся в СОШ ФМЦ, затрачивающих более 40 ч в неделю на обязательную образовательную деятельность, было в 3 раза больше, чем в СОШ (19,0 и 6,5% соответственно, $p = 0,1$), от 31 до 40 ч – 46,0 и 45,2% соответственно ($p = 0,9$), около 30 ч в неделю на образовательный процесс тратят 35,2% учащихся СОШ ФМЦ и 48,4% учащихся СОШ ($p = 0,045$) (коэффициент сопряженности – 0,39, связь умеренная, $p = 0,000$).

При сравнительном анализе дополнительной внешкольной образовательной нагрузки установлено, что для учеников СОШ ФМЦ характерна более высокая занятость: 27,0% детей посещают 2–3 учреждения дополнительного образования (против 16,0% в СОШ, коэффициент сопряженности – 0,34, связь умеренная, $p=0,0001$).

При исследовании режима питания детей в домашних условиях путем раздаточного анкетирования родителей было установлено, что нерегулярный прием пищи свойственен 12,5% учащихся СОШ ФМЦ и 11,2% учащихся СОШ ($p>0,05$). У 39,4% учащихся СОШ ФМЦ и 42,4% СОШ кратность приема пищи составила 4–5 раз в день, 48,1 и 46,4% детей соответственно, употребляли пищу 3 раза в день ($p>0,05$). Периодическое питание всухомятку обозначили 100% родителей учащихся СОШ и 84,8% – СОШ ФМЦ ($p=0,01$). Среди респондентов СОШ ФМЦ 86,7% отметили прием пищи детьми на ночь (менее чем за 2 ч до сна), в то время как в СОШ такое пищевое поведение характерно для 100% семей. Только 20% детей (24,3% в СОШ ФМЦ и 16,5% в СОШ) не употребляли фастфуд, продукты снековой группы (чипсы, сухарики, семечки) и газированные напитки; в 51,4% семей учащихся СОШ ФМЦ и 58,8% СОШ зачастую использовали продукты быстрого приготовления ($p>0,05$).

Питание учащихся в исследуемых общеобразовательных учреждениях организовано в школьных столовых полного цикла. При сравнительной оценке организации питания установлено, что охват горячим питанием обучающихся на II уровне образования в СОШ ФМЦ составил 75,0%, в СОШ – 76,1% ($p=0,9$). Прием пищи организован в 3 перемены (после 2, 3, 4-го уроков) в 1-ю смену и в 2 перемены (после 1-го, 2-го уроков) во 2-ю смену. В обследованных образовательных учреждениях школьники питались однократно – завтрак или обед. Отпуск горячего питания учащимся обеих школ проводится по классам на переменах продолжительностью 20, 15 и 10 мин, что не соответствует требованиям п. 7.2 СанПиН 2.4.5.2409-08. Фактический рацион питания в исследуемых школах соответствовал утвержденному примерному меню, что отвечает требованиям санитарного законодательства (п. 6.22 СанПиН 2.4.5.2409-08). В то же время в СОШ ФМЦ нарушено требование п. 6.6 в части разработки суточного рациона, дифференцированного по возрастным группам обучающихся (7–11 и 12–18 лет). В СОШ ФМЦ учащимся предлагалось 3 варианта завтрака или 1 вариант обеда в отличие от СОШ, где завтрак и обед были представлены в 1 варианте. Завтрак, предлагаемый в СОШ ФМЦ, во всех вариантах содержал закуску (сыр, порционные фрукты или овощи, колбасные изделия, салаты из свежих овощей), горячее блюдо и напиток, при этом 2 вида завтрака дополнительно содержали кондитерские и хлебобулочные изделия. Обед состоял из закуска, второго и третьего блюда. Завтрак в школе СОШ преимущественно состоял из горячего блюда и горячего напитка. Обед включал первое (суп), второе (основное горячее блюдо из мяса, рыбы или птицы) и напиток. В составе обеда

и зачастую завтрака отсутствовала закуска, что является нарушением п. 6.18, п. 6.19 СанПиН 2.4.5.2409-08. Весовая оценка готовых блюд и изделий на раздаче в обоих образовательных учреждениях не показала значимых отличий от документарных данных (в СОШ ФМЦ средняя разница – $\pm 7,4\%$, в СОШ – $\pm 10,8\%$). Соотношение основных компонентов пищи (белки, жиры, углеводы), указанных в школьных рационах, в целом согласовывалось с рекомендуемым уровнем (1:1:4) и составляло 1,2:1,0:4,1 в СОШ ФМЦ и 1:1,2:3,9 – в СОШ.

При изучении с помощью весового метода индивидуального потребления порций завтраков было установлено, что истинное потребление пищи, а следовательно, и ее энергетическая ценность, и химический состав существенно отличались от регламентированных СанПиН 2.4.5.2409-08 и указанных в меню: в СОШ ФМЦ – на 27–53%, в СОШ – на 21–62%. Результаты исследования показали, что выявленные особенности питания в школе формируют у учащихся недостаток макроэлементов и энергии (20% в СОШ ФМЦ против 24% в СОШ, $p=0,55$). В то же время было установлено, что фактическое потребление рациона учащимися зависит от пищевых предпочтений детей и существенно повышается (на 12–27%) при расширении ассортимента блюд.

Одним из необходимых условий рационального питания является содержание в пищевом рационе достаточного количества витаминов и минеральных веществ. При изучении содержания витаминов в составе рационов школьного питания установлено, что среднее расчетное потребление витаминов у учащихся II уровня образования СОШ ФМЦ достоверно в 2,3 раза превышало показатель учащихся СОШ (108% от НФП во время завтрака в школе против 48% соответственно, $p<0,001$); однако и в СОШ ФМЦ потребление витамина B_1 составило не более 45% от НФП (в рационах СОШ – 36%, $p=0,19$).

В рационах учащихся исследуемых школ установлены достоверные различия по содержанию макроэлементов (в СОШ ФМЦ среднее содержание макроэлементов меньше НФП на 15%, а в СОШ – на 46%, $p<0,001$). Так, рационы школьников, посещающих СОШ ФМЦ, обеспечены кальцием на 55%, а в СОШ – только на 42% ($p=0,07$). Данное обстоятельство обусловлено главным образом недостаточным включением в рационы питания школьников обоих образовательных учреждений молока и молочных продуктов. Фактический уровень потребления фосфора учащимися СОШ ФМЦ (61%) несколько превышал аналогичный показатель у обучающихся в СОШ (53%, $p=0,25$) за счет более частого присутствия в рационах зерновых продуктов. Содержание магния в рационах питания учащихся СОШ ФМЦ составляло 82% от НФП, в СОШ – 90% ($p=0,10$). Расчетное количество железа в рационах школьников группы наблюдения удовлетворяло НФП на 107%, а в группе сравнения – только на 75% ($p<0,001$).

Результаты исследования показали, что школьные рационы СОШ ФМЦ вносят более существенный вклад по сравнению с СОШ в формирование суточного набора

продуктов ежедневного потребления: хлеба ржаного (14,1 против 0,0%, $p<0,001$), картофеля (35,5 против 12,1%, $p<0,001$), овощей (27,5 против 6,7%, $p<0,001$), фруктов (39,8 против 10,0%, $p<0,001$), соков (41,6 против 14,9%, $p<0,001$), мяса (20,5 против 14,7%, $p=0,28$), рыбы (8,2 против 0,0%, $p<0,001$), колбасных изделий (69,0 против 14,6%, $p<0,001$), молока (7,9 против 1,8%, $p=0,04$), однако за счет включения сахаристых и мучных блюд в 2 варианта завтраков увеличился и вклад в формирование суточного потребления кондитерских изделий (27,6 против 4,4%, $p<0,001$).

При оценке индекса массы тела учащихся выявлено, что в СОШ ФМЦ у детей достоверно в 2,8 раза чаще регистрируется избыток массы тела (19,0 против 6,0% – в группе сравнения, $p=0,001$). Относительный риск формирования избытка массы тела у учащихся профильной школы в 3,5 раза выше, чем в группе сравнения ($OR=3,5$, $DI=1,4–9,6$; $p=0,01$).

Сравнительный анализ среднегрупповых биохимических показателей учащихся исследуемых школ показал отсутствие существенных различий большинства из них с уровнем физиологической нормы. В результате исследования состояния липидного обмена было установлено, что концентрация АпоА1, главного белкового компонента ЛПВП, осуществляющего обратный транспорт холестерина в печени, у учащихся профилированной школы была ниже относительно уровня учащихся СОШ ($p=0,005$) (см. таблицу). Одновременно более низкая концентрация АпоА1 сопровождалась сниженным на 12,6% по сравнению с группой сравнения уровнем ЛПВП ($p=0,21$).

Содержание в крови аполипопротеина В (АпоВ), главного белкового компонента атерогенных липопротеи-

нов, осуществляющего прямой транспорт холестерина к периферическим тканям, у детей статистически значимо не различалось. В то же время концентрация в крови атерогенной фракции липидов (ЛПНП) у учащихся СОШ ФМЦ была в 1,3 раза достоверно выше показателя детей группы сравнения (см. таблицу). Средние уровни общего холестерина и триглицеридов в крови детей исследуемых школ были близки по значению ($p=0,4–0,5$), однако у 43% детей из группы наблюдения содержание холестерина превышало среднегрупповое значение в группе сравнения.

Изучение состояния углеводного и белкового обмена показало, что в обеих группах среднегрупповые значения концентрации глюкозы, общего белка и альбуминов не отличались от физиологической нормы.

Оценка состояния минерального статуса выявила, что уровень железа в сыворотке крови у 11,0% учащихся школы с углубленным изучением предметов был ниже физиологических значений, в 65,0% случаев – ниже аналогичного показателя группы сравнения, где в 100% случаев содержание железа в сыворотке крови соответствовало норме ($p\leq 0,05$). Средняя концентрация железа у детей группы наблюдения была в 1,2 раза ниже таковой у учащихся из группы сравнения (см. таблицу). Анализ фосфорно-кальциевого обмена выявил у детей группы наблюдения достоверно более низкие концентрации кальция на фоне более высоких значений фосфора, при этом доля детей с низким содержанием кальция в группе наблюдения составила 86 против 38% в группе сравнения ($OR=9,7$, $DI=5,0–20,0$; $p=0,01$) [20].

Кроме того, у учащихся профилированной школы среднее содержание лептина, являющегося ключевым регуляторным медиатором между жировой тканью

Биохимические показатели крови у учащихся исследуемых групп ($M\pm m$)

Показатель	Группа наблюдения	Группа сравнения	p
Кортизол, нмоль/см ³	290,2±36,3	241,1±24,4	0,03
АпоА1, г/дм ³	1,51±0,02	1,55±0,02	0,005
АпоВ, г/дм ³	0,65±0,05	0,62±0,07	0,5
АпоВ/АпоА1	0,43±0,03	0,39±0,04	0,1
Холестерин общий, ммоль/дм ³	4,04±0,27	3,88±0,29	0,4
Триглицериды, ммоль/дм ³	0,71±0,16	0,77±0,12	0,5
ЛПВП, ммоль/дм ³	1,53±0,10	1,75±0,16	0,02
ЛПНП, ммоль/дм ³	2,26±0,21	1,77±0,26	0,004
Лептин, нг/см ³	5,81±2,46	2,79±1,38	0,03
Дофамин, пг/см ³	48,62±2,96	38,99±3,64	0,0001
Общий белок, г/дм ³	73,4±1,1	69,8±1,3	0,0001
Альбумины, г/дм ³	43,5±0,4	42,6±0,7	0,02
Глюкоза, ммоль/дм ³	4,49±0,11	4,88±0,17	0,0002
Железо, мкмоль/дм ³	13,62±1,70	16,41±1,75	0,02
Магний, ммоль/дм ³	0,89±0,03	0,87±0,03	0,3
Кальций ионизированный, ммоль/дм ³	1,16±0,01	1,21±0,01	0,000
Фосфор, ммоль/дм ³	1,63±0,06	1,52±0,06	0,01
Антиоксидантная активность плазмы крови, %	40,40±4,58	39,08±4,38	0,6
Малоновый диальдегид, мкмоль/см ³	2,80±0,37	2,98±0,44	0,5

Расшифровка аббревиатур дана в тексте.

и гипоталамо-гипофизарной системой, было достоверно в 2,0 раза выше показателя группы сравнения. Содержание кортизола и дофамина в крови детей группы наблюдения также в 1,2–1,3 раза превышало показатели детей группы сравнения ($p=0,0001-0,03$) (см. таблицу). Результаты исследования подтверждают данные литературы о том, что лептин, кроме очевидной роли в регуляции пищевого поведения, массы тела и энергообмена, выступает в качестве эндокринного медиатора [24–26].

Выводы

1. У учащихся школы с углубленным изучением предметов физико-математического цикла на фоне высокой недельной и суммарной учебной нагрузки, нерационально составленного расписания уроков выявлены большие временные затраты на образовательную школьную и внешкольную деятельность, снижение двигательной активности, нерегулярный прием пищи, нарушения пищевого поведения.

2. Содержание лептина в крови учащихся профилированных учебных заведений до 2 раз превышает показатель обучающихся в типовых школах и сочетается с более высоким (в 1,3 раза) уровнем ЛПНП, низким

содержанием в крови кальция у 86% и сывороточного железа у 11% детей.

3. Интенсификация процесса обучения в профилированных школах в сочетании с низким уровнем двигательной активности, нерациональным питанием и нарушениями пищевого поведения до 3,5 раза повышает риск формирования у школьников избытка массы тела на фоне напряжения эндокринной регуляции.

4. Фактическое потребление в школе учащимися порций, энергетическая ценность и содержание нутриентов в пище на 27–53% ниже данных, указанных в меню.

5. Расширение ассортимента и возможность выбора блюд завтрака повышает фактическое потребление порций учащимися до 27%, витаминов – в 2,3 раза, кальция – в 1,3 раза, фосфора – в 1,2 раза, железа – в 1,4 раза.

6. При разработке новых подходов к организации рационального питания учащихся профилированных школ необходимо учитывать особенности образовательного процесса, режима дня учащихся и состояние основных видов обмена.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Сведения об авторах

Штина Ирина Евгеньевна (Shtina Irina E.) – кандидат медицинских наук, заведующая лабораторией комплексных проблем здоровья детей с клинической группой медико-профилактических технологий управления рисками ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения» Роспотребнадзора (Пермь, Россия)

E-mail: shtina_irina@mail.ru

<http://orcid.org/0000-0002-5017-8232>

Валина Светлана Леонидовна (Valina Svetlana L.) – кандидат медицинских наук, заведующая отделом гигиены детей и подростков ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения» Роспотребнадзора (Пермь, Россия)

E-mail: doc.valina@yandex.ru

<https://orcid.org/0000-0003-1719-1598>

Ямбулатов Александр Михайлович (Yambulatoev Alexander M.) – ведущий специалист-эксперт отдела надзора по гигиене питания Управления Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Пермскому краю (Пермь, Россия)

E-mail: urpn@59.rospotrebnadzor.ru

<http://orcid.org/0000-0002-4098-5583>

Устинова Ольга Юрьевна (Ustinova Olga Yu.) – доктор медицинских наук, профессор, заместитель директора по клинической работе ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения» Роспотребнадзора (Пермь, Россия)

E-mail: ustinova@fcrisk.ru

<http://orcid.org/0000-0002-9916-5491>

Литература

1. Каркашадзе Г.А., Намазова-Баранова Л.С., Захарова И.Н., Макарова С.Г., Маслова О.И. Синдром высоких учебных нагрузок у детей школьного и подросткового возраста // Педиатр. фармакология. 2017. Т. 14, № 1. С. 7–23.
2. Грицинская В.Л., Никитина И.Л. Современные аспекты оценки уровня физического развития школьников мегаполиса // Мед. совет. 2017. № 19. С. 40–43.
3. Акарачкова Е.С., Блинов Д.В., Котова О.В., Травникова Е.В., Царева Е.В. Стресс и тревожность у детей: причины и методы коррекции // Фарматека. 2018. № 1. С. 28–35.
4. Duckworth A.L., Kim B., Tsukayama E. Life stress impairs self-control in early adolescence // Front. Psychol. 2012. Vol. 3. P. 608.
5. Зайцева Н.В., Устинова О.Ю., Лужецкий К.П. и др. Риск-ассоциированные нарушения здоровья учащихся начальных

- классов школьных образовательных организаций с повышенным уровнем интенсивности и напряженности учебного процесса // Анализ риска здоровью. 2017. № 1. С. 66–83.
6. Суворова А.В., Якубова И.Ш., Черныкина Т.С. Динамика показателей состояния здоровья детей и подростков Санкт-Петербурга за 20-летний период // Гиг. и сан. 2017. № 4. С. 332–338.
 7. Кучма В.Р. 2018–2027 годы – десятилетие детства в России: цели, задачи и ожидаемые результаты в сфере здоровьесбережения обучающихся // Вопр. школьной и университетской медицины и здоровья. 2017. № 3. С. 4–14.
 8. Мартинчик А.Н., Батуринов А.К., Кешабыант Э.Э. и др. Анализ фактического питания детей и подростков России в возрасте от 3 до 19 лет // Вопр. питания. 2017. Т. 86, № 4. С. 50–60.
 9. Тутельян В.А., Конь И.Я. Руководство по детскому питанию. М., 2004. 661 с.
 10. Сетко Н.П., Булычева Е.В., Валова А.Я. Вегетативный баланс и вариабельность сердечного ритма у учащихся общеобразовательных учреждений в условиях многокомпонентного воздействия факторов окружающей среды // Гиг. и сан. 2018. Т. 97, № 3. С. 234–238.
 11. Ходжиева М.В., Скворцова В.А., Боровик Т.Э., Намазова-Баранова Л.С., Маргиева Т.В., Нетребенко О.К. и др. Современные взгляды на развитие избыточной массы тела и ожирения у детей. Часть I // Педиатр. фармакология. 2015. Т. 12, № 5. С. 573–578.
 12. Здравоохранение в России. 2017 : статистический сборник. М. : Росстат, 2017. 170 с.
 13. Мартынова И.Н., Винярская И. В., Терлецкая Р.Н., Постникова Е.В., Фролова Г.С. Вопросы истинной заболеваемости и распространенности ожирения среди детей и подростков // Рос. педиатр. журн. 2016. Т. 19, № 1. С. 23–28.
 14. Плотникова О.А., Шарафетдинов Х.Х. Диетическая коррекция нарушений липидного обмена при метаболическом синдроме // РМЖ. 2007. Т. 15, № 9. С. 697–704.
 15. Тутельян В.А. Химический состав и калорийность российских продуктов питания: справочник М. : ДеЛи плюс, 2012. 284 с.
 16. Нормы физиологических потребностей в энергии и пищевых веществах для различных групп населения РФ. МР 2.3.1.2432-08.
 17. Стандартные показатели ВОЗ физического развития детей и подростков в возрасте 5–19 лет. URL: http://www.whois.com/growthref/who2007_bmi_for_age/en/ (дата обращения: 03.05.2018)
 18. Меньшиков В.В. Лабораторные методы исследования в клинике. М. : Медицина, 1987. 368 с.
 19. Клебанов Г.И., Бабенкова И.В., Теселкин Ю.О. и др. Оценка антиокислительной активности плазмы крови с применением желточных липопротеидов // Лаб. дело. 1988. № 5. С. 59–62.
 20. Тиц Н.У. Клиническая оценка лабораторных тестов. М. : Медицина, 1986. 480 с.
 21. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты // Современные методы в биохимии / под ред. В.Н. Орехович. М. : Медицина, 1977. С. 66–68.
 22. Данилова Л.А. Анализы крови, мочи и других биологических жидкостей в различные возрастные периоды. СПб. : СпецЛит, 2014. 111 с.
 23. Гланц С. Медико-биологическая статистика. М. : Практика, 1998. 459 с.
 24. Баранов С.Н., Киселева М.М. Регуляция экспрессии гормона лептина // Интерактивная наука. 2016. Т. 11, № 1. С. 31–32.
 25. Боева Л.Н. Догадин С.А., Екимова М.В. Роль адипокинов в нейроэндокринной регуляции энергетического обмена // Сибир. мед. обозр. 2010. № 3. С. 3–7.
 26. Van Gaal L.F., Wauters M.A., Mertens I.L. et al. Clinical endocrinology of human leptin // Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord. 1999. Vol. 23, suppl. 1. P. 29–36.

References

1. Karkashadze G.A., Namazova-Baranova L.S., Zaharova I.N., Makarova S.G., Maslova O.I. Syndrome of high academic loads in school-aged children and adolescents. *Pediatricheskaya farmakologiya [Pediatric Pharmacology]*. 2017; 14 (1): 7–23. (in Russian)
2. Gricinskaya V.L., Nikitina I.L. Modern aspects of evaluation of physical development of schoolchildren in the megapolis. *Meditinskiy sovet [Medical Council]*. 2017; (19): 40–3. (in Russian)
3. Akarachkova E.S., Blinov D.V., Kotova O.V., Travnikova E.V., Careva E.V. Stress and anxiety in children: causes and methods of correction. *Farmateka [Pharmateca]*. 2018; (1): 28–35. (in Russian)
4. Duckworth A.L., Kim B., Tsukayama E. Life stress impairs self-control in early adolescence. *Front Psychol*. 2012; 3: 608.
5. Zaytseva N.V., Ustinova O.Yu., Luzheckiy K.P., et al. Risk-associated health disorders occurring in junior schoolchildren who attend schools with higher stress and intensity of educational process. *Analiz riska zdorov'yu [Health Risks Analysis]*. 2017; (1): 66–83. (in Russian)
6. Suvorova A.V., Jakubova I.Sh., Chernyakina T.S. Dynamics of indices of the state of health of children and adolescents in the city of St Petersburg for 20 years. *Gigiena i sanitariya [Hygiene and Sanitation]*. 2017; (4): 332–8. (in Russian)
7. Kuchma V.R. 2018–2027 years – a decade of childhood in Russia: goals, objectives and expected results in the sphere of health saving of students. *Voprosy shkol'noy i universitetskoy mediciny i zdorov'ya [Problems of School and University Medicine and Health]*. 2017; (3): 4–14. (in Russian)
8. Martinchik A.N., Baturin A.K., Keshabyants E.E., Fatyanova L.N., Semenova Ya.A., Bazarova L.B., et al. Dietary intake analysis of Russian children 3–19 years old. *Voprosy pitaniia [Problems of Nutrition]*. 2017; 86 (4): 50–60. (in Russian)
9. Tutel'yan V.A., Kon' I.Ya. Guide to baby food. Moscow, 2004: 661 p. (in Russian)
10. Setko N.P., Bulycheva E.V., Valova A.Ya. Vegetative balance and variability of heart rhythm in students of general educational institutions in conditions of the multicomponent influence of factors of the environment. *Gigiena i sanitariya [Hygiene and Sanitation]*. 2018; 97 (3): 234–8. (in Russian)
11. Hodzhieva M.V., Skvorcova V.A., Borovik T.Ye., Namazova-Baranova L.S., et al. Contemporary views on development of excess body weight and obesity in children. Part I. *Pediatricheskaya farmakologiya [Pediatric Pharmacology]*. 2015; 12 (5): 573–8. (in Russian)
12. Health in Russia. 2017: Statistical compendium. Moscow: Rosstat, 2017: 170 p. (in Russian)
13. Martynova I.N., Vinyarskaya I.V., Terletskaya R.N., Postnikova E.V., Frolova G.S. Questions of true incidence and prevalence of obesity in children and adolescents. *Rossiyskiy pediatricheskii zhurnal [Russian Journal of Pediatrics]*. 2016; 19 (1): 23–8. (in Russian)
14. Plotnikova O.A., Sharafetdinov H.H. Dietary correction of lipid metabolism disorders in metabolic syndrome. *Russkiy meditsinskiy zhurnal [Russian Medical Journal]*. 2007; 15 (9): 697–704. (in Russian)
15. Tutel'yan V.A. Chemical composition and caloric content of Russian food products: reference Moscow: DeLi pl'us, 2012: 284 p. (in Russian)
16. Norms of physiological needs in energy and nutrients for different groups of the population of the Russian Federation. MR 2.3.1.2432-08. (in Russian)
17. Growth reference 5–19 years. URL: http://www.whois.com/growthref/who2007_bmi_for_age/en/ (date of appeal 03.05.2018).

18. Men'shikov V.V. Laboratory methods of research in the clinic. Moscow: Meditsina, 1987: 368 p. (in Russian)
19. Klebanov G.I., Babenkova I.V., Teselkin Yu.O. et al. Evaluation of antioxidant activity of blood plasma with the use of egg yolk lipoproteins. *Laboratornoe delo [Laboratory Work]*. 1988; (5): 59–62. (in Russian)
20. Tic N.U. Clinical evaluation of laboratory tests. Moscow: Meditsina, 1986: 480 p. (in Russian)
21. Stal'naya I.D., Garishvili T.G. Method for the determination of malondialdehyde using thiobarbituric acid. In: V.N. Orekhovich (ed.). *Modern Methods in Biochemistry*. Moscow: Meditsina, 1977: 66–8. (in Russian)
22. Danilova L.A. Analyses of blood, urine and other biological fluids in different age periods. Saint Petersburg: SpetsLit, 2014: 111 p. (in Russian)
23. Glanc S. Medical and biological statistics. Moscow: Praktika, 1998: 459 p. (in Russian)
24. Baranov S.N., Kiseleva M.M. The regulation of expression of the hormone leptin. // *Interaktivnaya nauka [Interactive Science]*. 2016; 11 (1): 31–2. (in Russian)
25. Boeva L.N., Dogadin S.A., Ekimova M.V. The role of adipokines in neuroregulation of energy metabolism. *Sibirskoe meditsinskoe obozrenie [Siberian Medical Review]*. 2010; (3): 3–7. (in Russian)
26. Van Gaal L.F., Wauters M.A., Mertens I.L. et al. Clinical endocrinology of human leptin. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 1999; 23 (1): 29–36.

Для корреспонденции

Куликова Алина Сергеевна – аспирант кафедры технологии продуктов питания ФГБОУ ВО «Калининградский государственный технический университет»
Адрес: 236022, Россия, г. Калининград, Советский пр., д. 1
Телефон: (4012) 99-53-70
E-mail: alina36@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0002-4510-5848>

Куликова А.С., Титова И.М.

Анализ пищевой и энергетической ценности меню некоторых муниципальных дошкольных образовательных учреждений Калининградского региона

Analysis of food and energy value of the menu of some municipal pre-school educational institutions of the Kaliningrad Region

Kulikova A.S., Titova I.M.

ФГБОУ ВО «Калининградский государственный технический университет», Калининград, Россия
Kaliningrad State Technical University, Kaliningrad, Russia

Оценка рационов питания детей позволяет предвидеть возможность возникновения различных нарушений развития, в том числе заболеваний, связанных с метаболическим синдромом. В раннем возрасте не только закладываются пищевые привычки, но и создается фундамент будущего физического и психического здоровья. Недостаточное внимание к соблюдению физиологических норм питания может привести к существенным экономическим потерям при переходе данного поколения в статус экономически активного населения.

Цель – анализ рационов питания детей в муниципальных дошкольных образовательных учреждениях (МДОУ) Калининграда.

Материал и методы. Исследовали питание детей в возрасте 4–7 лет на основе 10-дневного меню 3 МДОУ Калининграда полного дня. Определено фактическое потребление блюд весовым методом 9 групп детей (в среднем по 30 человек). Содержание нутриентов оценивали на соответствие требованиям физиологических норм.

Результаты и обсуждение. Путем оценки массива данных по компонентам, определяющим пищевую ценность представленных рационов, определены основные маркерные показатели соответствия рационов питания физиологическим нормам, такие как содержание белка животного происхождения, полиненасыщенных жирных кислот, соотношение минеральных веществ: натрия и калия, кальция, магния и фосфора. Содержание белка в рационе превышало физиологическую потребность на 10–14%, при этом преобладал белок растительного происхождения; выявлен незначительный дефицит полиненасыщенных жирных кислот вследствие недостаточного потребления рыбы; потребление углеводов находилось в пределах нормы. Существенно превышено содержание в рационах натрия (в среднем 1800 мг/сут) за счет частого включения блюд с компонен-

Для цитирования: Куликова А.С., Титова И.М. Анализ пищевой и энергетической ценности меню некоторых муниципальных дошкольных образовательных учреждений Калининградского региона // *Вопр. питания*. 2019. Т. 88, № 1. С. 71–76. doi: 10.24411/0042-8833-2019-10008.

Статья поступила в редакцию 11.04.2018. **Принята в печать** 27.12.2018.

For citation: Kulikova A.S., Titova I.M. Analysis of food and energy value of the menu of some municipal pre-school educational institutions of the Kaliningrad Region. *Voprosy pitaniia [Problems of Nutrition]*. 2019; 88 (1): 71–6. doi: 10.24411/0042-8833-2019-10008. (in Russian)

Received 11.04.2018. **Accepted for publication** 27.12.2018.

тами с высокой соленостью и скрытой солью. Несмотря на включение в рацион блюд из творога, содержание кальция в среднем на 18% было ниже рекомендуемого уровня. Потребление витамина А составляло около 50% от физиологической нормы. Установлено в целом соответствие физиологическим нормам исследуемых меню в МДОУ.

Заключение. Рекомендовано обеспечить разнообразие меню путем введения в рационы белка животного происхождения за счет использования кисломолочных продуктов и блюд из рыбы. Рекомендовано в целях снижения ценовой нагрузки при формировании меню использовать местные виды водных биологических ресурсов. Обоснованы предложения по совершенствованию меню, позволяющие значительно сократить потребление натрия изменением рецептур некоторых салатов, исключением использования соленых и квашеных овощей.

Ключевые слова: питание, дошкольные образовательные учреждения, рацион, меню, нутриенты, минеральные вещества

Evaluation of nutrition allows one to foresee the possibility of occurrence of various developmental disorders of children, including diseases associated with the metabolic syndrome. At an early age, not only eating habits are laid, but the foundation for future physical and mental health is created. Lack of attention to compliance with the physiological norms of nutrition can lead to significant economic losses upon the transition of this generation to the status of the economically active population.

Aim – an analysis of children's diets in municipal pre-school educational institutions (kindergarten) in Kaliningrad.

Material and methods. We investigated the nutrition of children aged 4–7 years based on a 10-day menu of three full-time kindergarten in Kaliningrad. The actual consumption of meals by the weight method of 9 groups of children (an average of 30 people) was also determined. The content of nutrients was assessed for compliance with the physiological requirements.

Results and discussion. By assessing the array of data on the nutritional value of the diet presented, the main marker indicators of diet compliance with physiological needs were determined, such as animal protein content, PUFA level, the ratio of mineral substances: sodium and potassium, calcium, magnesium and phosphorus. The protein content in the diet exceeded the physiological need by 10–14%, while the plant protein prevailed. There was a slight deficit of polyunsaturated fatty acids due to inadequate consumption of fish; carbohydrate intake was within normal limits. The sodium content in the rations significantly exceeded norm (on average, 1800 mg per day), due to the frequent inclusion of dishes with components with high salinity and hidden salt. Despite the inclusion of cottage cheese in the ration, the average calcium content was 18% lower than the recommended level. Vitamin A consumption was about 50% of the physiological norm. It was established, in general, that the studied menu were brought into compliance with the physiological norms.

Conclusion. It is recommended to provide a variety of menus by introducing animal protein into the rations through the use of fermented dairy products and fish dishes. It is recommended to use local species of aquatic biological resources in order to reduce the price load in the formation of the menu. Suggestions for improving the menu allowing to significantly reduce sodium consumption by changing the formulations of some salads except for the use of salted and pickled vegetables are justified.

Keywords: nutrition, preschool educational institutions, diet menu, nutrients, minerals

По данным Управления Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Калининградской области, на 01.01.2017 число детей, охваченных дошкольным образованием в Калининградской области от 3 до 7 лет, находится на уровне 48 825 человек, что составляет 60% от общего количества детей соответствующего возраста (80 830 человек), проживающих на территории области. Число детей, нуждающихся в устройстве в дошкольные организации, составляет 23 501 человек [1].

Согласно СанПиН 2.4.1.3049-13, дошкольные образовательные учреждения могут функционировать в ре-

жиме кратковременного пребывания (до 5 ч в день), сокращенного дня (8–10-часового пребывания), полного дня (10,5–12-часового пребывания), продленного дня (13–14-часового пребывания) и круглосуточного пребывания детей. Муниципальные детские сады Калининграда в основном работают в режиме полного дня, детские сады области – в режиме сокращенного дня.

Питание в дошкольных образовательных учреждениях устанавливается в соответствии с примерным меню, рассчитанным на 10 дней и соответствующим физиологическим потребностям в энергии и пищевых веществах. Для учреждений полного дня предусматривается

5-разовое питание: завтрак, второй завтрак, обед, полдник, ужин. Таким образом, полностью обеспечивается питание ребенка в течение дня.

Статистика заболеваемости детского населения отмечает продолжающийся рост детского ожирения – в 1,4 раза (в 2015 г. по сравнению с 2014 г.) [1]. Проблема ожирения связана с питанием, в котором преобладает высококалорийная пища с высоким содержанием жира, сахара и соли, а также с недостатком витаминов в рационе детей и взрослых. По данным исследования Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), к 2022 г. от ожирения будут страдать больше детей и подростков, чем от пониженной массы тела [2].

Цель исследования – анализ меню муниципальных дошкольных образовательных учреждений (МДОУ) на соответствие в части обеспечения физиологических норм потребления пищевых компонентов с учетом региональной специфики.

Для реализации поставленной цели были решены следующие задачи:

- 1) мониторинг дневного рациона питания в осенне-зимний период 3 МДОУ;
- 2) определение маркерных показателей соответствия рационов питания нормам питания;
- 3) разработка рекомендаций по совершенствованию рационов в целях максимального достижения соответствия физиологическим нормам.

Материал и методы

Для исследования было взято 10-дневное циклическое меню 3 МДОУ Калининграда, работающих в режиме полного дня. Представленные рационы анализировали по содержанию основных нутриентов (белки, жиры, углеводы), минеральных веществ, витамина А и энергетической ценности [3]. Полученные результаты оценивали на соответствие нормам физиологической потребности детей в возрасте 4–7 лет [4].

Фактический уровень потребления блюд меню полного дня 9 групп детей (в среднем по 30 человек) в возрасте 4–7 лет определяли расчетно-весовым методом (после определения массы блюд, не съеденных детьми).

Расчеты производили с помощью стандартного пакета статистических функций Microsoft Excel, 2010.

Результаты и обсуждение

Содержание основных нутриентов, минеральных веществ и энергетической ценности изучаемых рационов групп полного дня по принятому циклическому меню отражены в таблице.

Отмечено незначительное превышение нормативных значений по содержанию белка – 11–15% от нормы. В рассматриваемых рационах доля животных белков составила менее 50%, что согласуется с данными других авторов, которые отмечали у детей «недостаточное

потребление полноценных белков, особенно животного происхождения (до 60,6%), жиров (до 77,1%)» [5]. Потребление жиров и углеводов соответствовало норме (отклонения не превышали 11%).

Данные FAO/ВОЗ указывают, что в качестве профилактики ожирения общее потребление жиров не должно превышать 30% от всей поступающей энергии, и большей частью они должны быть представлены ненасыщенными жирными кислотами [6]. Основными источниками ненасыщенных жиров являются растительные масла, океаническая и морская рыба. Рыбные блюда предлагались 3–5 раз в 2-недельном меню рационов МДОУ. Рыбу готовили в виде супов, тефтелей, шницелей, а также соленой сельди порционной или в салате. Как пишет Е.О. Гузик, у детей дошкольного возраста при режиме 9–10,5 ч отмечено самое низкое потребление рыбы (в среднем 70,3% от нормы) [7]. При этом рыба является ценным продуктом из-за значительного содержания полиненасыщенных жирных кислот (ω -3), а также незаменимых аминокислот, витамина D и минеральных веществ [8].

Меню детских дошкольных учреждений имеет сезонность, в осенне-зимний период некоторые фрукты и свежие овощи в рационе заменяют, отмечается частое включение салатов с квашеной капустой и солеными огурцами (от 6 до 9 раз в 2-недельном меню). Это значительно увеличивает потребление с рационом натрия. Проведенные исследования потребления добавленной соли детьми 3–7 лет в других регионах свидетельствуют о значительном превышении рекомендуемых величин. В данной возрастной группе «около 50% детей потребляют соли больше, чем рекомендовано ВОЗ для взрослого населения» [9]. При пересчете на нормы потребления для данной возрастной группы превышение составляет в среднем 2,7 раза.

Согласно рекомендациям ВОЗ потребление натрия следует снизить до 2 г/сут (5 г соли в день) в целях профилактики сердечно-сосудистых заболеваний, инсульта и ишемической болезни сердца у взрослых и контроля кровяного давления у детей [10].

В связи с тем что хлебулочные изделия и часто используемые в качестве компонента гарнира соленые овощи содержат скрытую соль, рекомендуется при приготовлении супов и вторых блюд снизить закладку соли.

Поскольку функционирование калия в организме тесно связано с натрием, баланс калий–натрий может быть даже более приоритетным, чем достижение рекомендуемых норм потребления. Оптимальным считается молярное соотношение натрия к калию примерно 1:1, при этом «по мере роста потребления натрия повышенное потребление калия может быть даже более выгодным, поскольку в дополнение к другим преимуществам он может смягчить отрицательные эффекты повышенного потребления натрия на кровяное давление» [11]. В соответствии с данными, приведенными в таблице, ни в одном из рационов МДОУ рекомендуемое соотношение натрия и калия не выдерживается, только в 1 рационе (МДОУ № 2) оно более близко к оп-

Содержание основных нутриентов в ежедневном рационе 3 муниципальных дошкольных образовательных учреждений (МДОУ) Калининграда

Показатель		Пищевые вещества								Энергетическая ценность, ккал	
		белок, г	жиры, г	углеводы, г	натрий, мг	калий, мг	кальций, мг	магний, мг	фосфор, мг		А, мкг рет. экв.
Норма физиологической потребности [4]		54	60	261	700	600	900	200	800	500	1800
Массовая доля нутриентов в соответствии с меню-раскладкой	МДОУ № 1	60	61	255	2019	2734	728	282	1064	241	1736
	МДОУ № 2	60	56	231	1680	2643	741	288	1110	264	1653
	МДОУ № 3	62	59	245	2024	2881	724	306	1024	755	1743
	в среднем по МДОУ	61	59	244	1908	2753	731	292	1066	420	1732
Массовая доля нутриентов с учетом фактического потребления		55	54	240	1800	2650	680	270	760	400	1700

тимальному. Решением данной проблемы может стать увеличение доли ежедневного потребления свежих овощей и фруктов.

Несмотря на регулярное включение в меню блюд из творога, содержание кальция в рационах всех МДОУ не достигало рекомендуемой нормы (было снижено на 18–20%). Кисломолочные продукты в виде йогурта, кефира или ацидолакта (2–3 раза в 10-дневном меню), кипяченое молоко (3–4 раза), чай с молоком (4–5 раз), молочные супы или каши (ежедневно) не обеспечивали рекомендуемую норму потребления данного макроэлемента. Традиционным способом увеличения потребления кальция является включение большего количества молочных и кисломолочных блюд. Однако это может приводить к однообразию рациона. С другой стороны, дети получают кисломолочные продукты вне МДОУ, поэтому для разнообразия блюд, включаемых в рацион в качестве источников кальция, рекомендуется увеличение доли рыбных продуктов в меню, а также более разнообразное использование бобовых, приготовленных с соблюдением технологии, позволяющей снижать содержание фитиновой кислоты.

Содержание магния в рационе полностью покрывало норму физиологической потребности, фосфора – также превышало ее на 28–39%.

Анализ содержания витамина А в меню показал несбалансированность. Среднее значение потребления данного витамина не входит в границы нормируемого отклонения: по МДОУ № 1 и МДОУ № 2 норма уменьшена на 52 и 47% соответственно. Среднее значение по МДОУ № 3 увеличено на 51% за счет ввода продукта с высоким содержанием витамина А на 7-й день меню.

Незначительное отклонение энергетической ценности (-5%) от рекомендуемой нормы несущественно. Дети потребляют основную часть суточного рациона именно в дошкольных учреждениях. Дома, как правило, получают перекусы в виде хлебобулочных изделий, сладостей. Это приводит к увеличению общей калорийности суточного рациона. Кроме того, исследователи указывают на избыточное потребление простых

углеводов вне МДОУ, на повышенное потребление макаронных изделий, круп [12, 13]. В ряде европейских стран, где проблема ожирения детей появилась раньше, исследовательские центры рекомендуют снижать энергетическую ценность суточного рациона до 1400–1500 ккал для возрастной группы 3–7 лет [14, 15].

Сравнивая данные фактического потребления, отличающиеся от расчетных на 2–9% с рекомендуемым потреблением (см. таблицу), можно сделать следующие выводы:

1) потребление белка находится в пределах нормы. Дети получали необходимое количество белка за счет мясных и молочных блюд. Отмечается отклонение по жирам – снижение на 10% от рекомендуемой нормы. Отказ от предлагаемых рыбных и некоторых творожных блюд влечет за собой снижение поступления незаменимых жирных кислот. Изменение ассортимента рыбных блюд с учетом вкусовых предпочтений детей позволит сбалансировать этот недостаток;

2) превышение фактического потребления натрия от возрастной физиологической потребности составляет 157%. В организм натрия поступает в виде поваренной соли, а также с пищевыми продуктами, включая продукты животного происхождения. Как было отмечено выше, в осенне-зимний период снижается количество включаемых блюд из свежих овощей и фруктов, добавляются салаты с квашеной капустой и солеными огурцами. Большое количество скрытой соли дошкольники получают из хлеба и сыра – около 80% суточной нормы. Регулярное потребление мясных блюд также отражается на увеличенном количестве натрия;

3) отмечается снижение фактического потребления кальция на 24%. Дети неохотно едят творожные запеканки, снижено потребление кисломолочных напитков.

Заключение

Показано, что исследуемые меню в МДОУ в целом соответствуют нормам. Администрация детских учреждений пытается внедрять сбалансированные рационы

питания в условиях ограниченного финансирования (на 2017 г. бюджет питания составил 102,8 руб. в день на 1 ребенка).

Определены маркерные показатели соответствия рационов питания физиологическим нормам по содержанию белка животного происхождения, полиненасыщенных жирных кислот, соотношение натрия и калия, кальция, магния и фосфора в рационах питания дошкольных учреждений.

Рекомендовано разнообразить меню за счет введения кисломолочных блюд, рыбы. Для оптимизации затрат при введении в рацион блюд из рыбы предла-

гается использовать местные виды водных биологических ресурсов – лещ, треска (*Abramis brama*, *Gadus morhua*).

Значительное превышение уровня фактического потребления натрия происходит за счет скрытой соли (хлеб и хлебобулочные изделия) и салатов (квашеная капуста, с солеными огурцами). Замена салатов позволит снизить уровень потребляемого натрия на 20% от существующего потребления.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Сведения об авторах

Куликова Алина Сергеевна (*Kulikova Alina S.*) – аспирант кафедры технологии продуктов питания ФГБОУ ВО «Калининградский государственный технический университет» (Калининград, Россия)

E-mail: alina36@yandex.ru

<https://orcid.org/0000-0002-4510-5848>

Титова Инна Марковна (*Titova Inna M.*) – кандидат технических наук, доцент, заведующая кафедрой технологии продуктов питания ФГБОУ ВО «Калининградский государственный технический университет» (Калининград, Россия)

E-mail: inna.titova@klgtu.ru

<https://orcid.org/0000-0001-5698-3315>

Литература

1. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Калининградской области в 2016 году : Государственный доклад Управления Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Калининградской области. Калининград, 2017. [Электронный ресурс]. URL: <http://39.rosпотребнадзор.ru/content/gosudarstvennyy-doklad-o-sostoyanii-sanitarno-epidemiologicheskogo-blagopoluchiya-0> (дата обращения: 01.02.2018)
2. Worldwide trends in body-mass index, underweight, overweight, and obesity from 1975 to 2016: a pooled analysis of 2416 population-based measurement studies in 128·9 million children, adolescents, and adults // *Lancet*. 2017. Vol. 309, N 309. P. 2627–2642. [Электронный ресурс] URL: [http://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736\(17\)32129-3/fulltext?elsca=tlpr](http://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(17)32129-3/fulltext?elsca=tlpr) (дата обращения: 20.03.2018)
3. Сборник технических нормативов. Сборник рецептур блюд и кулинарных изделий для питания детей в дошкольных организациях / под ред. М.П. Могильного, В.А. Тутельяна. М. : ДеЛи принт, 2001. 584 с.
4. Методические рекомендации Роспотребнадзора МР 2.3.1.2432-08 от 18.12.2008 «Нормы физиологических потребностей в энергии и пищевых веществах для различных групп населения Российской Федерации».
5. Кузина А.В., Лобачева О.Г., Климова Е.В. Оценка фактического питания детей, посещающих детские образовательные учреждения г. Орла // *Научные записки ОрелГИЭТ*. 2017. № 2. С. 47–52.
6. Fats and fatty acids in human nutrition. Report of an expert consultation. Food Agricultural Organization of the United Nations. 2010; 91: 180.
7. Гузик Е.О. Пути коррекции питания детей в учреждениях дошкольного образования // *Вопросы школьной и университетской медицины и здоровья*. 2017. №2. С. 16–24.
8. Fischer S., Gleit M. Gesundheitliche aspekte eines regelmdigen konsums von fisch und omega-3-fettsduren // *Ernaehrungs Umschau*. 2015. N 9. P. 140–150.
9. Мартинчик А.Н., Батулин А.К., Кешабянц Э.Э., Фатьянова Л.Н., Семенова Я.А., Базарова Л.Б., Устинова Ю.В. Анализ фактического питания детей и подростков России в возрасте от 3 до 19 лет // *Вопр. питания*. 2017. Т. 86. № 4. С. 50–60.
10. WHO. Guideline: Sodium intake for adults and children. Geneva : World Health Organization, 2012. 44 p.
11. WHO. Guideline: Potassium intake for adults and children. Geneva : World Health Organization, 2012. 48 p.
12. Важенина А.А., Петров В.А., Иванова И.Л. Особенности домашних рационов выходного дня у дошкольников – воспитанников дошкольных образовательных организаций // *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2016. № 3. С. 45–48.
13. Мажаева Т.В., Чугунова О.В., Гращенко Д.В. Некоторые аспекты структуры и организации питания детей в ряде регионов России // *Вопр. питания*. 2016. № 6. С. 95–102.
14. Charzewska J., Chwojnowska Z., Wajszczuk B. Normy na energie i skladniki odzywczе oraz ich rola w rozwoju dzieci w wieku przedzskpolnym // *Rekomendacje dla realizatorow zywienia z zakresu zasad prawidlowego zywienia dzieci w przedszkolach*. Warszawa, 2011. P. 31–52.
15. Ute A., Clausen K., Kersting M. Die ernaehrung gesunder kinder und jugendlicher nach dem konzept der optimierten mishkost // *Ernaehrungs Umschau*, 2008. N 3. P. 168–175.

References

1. On the state of sanitary and epidemiological well-being of the population in the Kaliningrad region in 2016. State report of the Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Welfare in the Kaliningrad Region. Kaliningrad, 2017. <http://39.rosпотребнадзор.ru/content/gosudarstvennyy-doklad-o-sostoyanii-sanitarno-epidemiologicheskogo-blagopoluchiya-0> (date of access February 11, 2019). (in Russian)

2. Worldwide trends in body-mass index, underweight, overweight, and obesity from 1975 to 2016: a pooled analysis of 2416 population-based measurement studies in 128·9 million children, adolescents, and adults. *Lancet*. 2017. Vol. 309, N.309, P.2627-2642. URL.: [http://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736\(17\)32129-3/fulltext?elsca1=tlpr](http://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(17)32129-3/fulltext?elsca1=tlpr) (date of access January 9, 2019).
3. Collection of technical standards. Collection of recipes of dishes and culinary products for children in preschool organizations. Edited by M.P. Mogilnyy, V.A. Tutelyan. Moscow: DeLi print; 2001: 584 p. (in Russian)
4. Methodical recommendations Rospotrebnadzor MR 2.3.1.2432-08 dated 18.12.2008 "Norms of physiological needs in energy and nutrients for different groups of the population of the Russian Federation". (in Russian)
5. Kuzina A.V., Lobacheva O.G., Klimova E.V. Evaluation of the actual nutrition of children attending children's educational institutions of the city of Orel. *Nauchnye zapiski Orel GIEHT [OrelGIET Scientific Notes]*. 2017; (2): 47–52. (in Russian)
6. Fats and fatty acids in human nutrition: report of an expert consultation. Rome: Food and Agricultural Organization of the United Nations; 2010; 91: 180.
7. Guzik E.O. Ways to correct the nutrition of children in preschool education institutions. // *Voprosy shkol'noj i universitetskoj mediciny i zdorov'ya [Questions of School and University Medicine and Health]*. 2017; (2): 16–24. (in Russian)
8. Fischer S., Gleit M. Health aspects of regular consumption of fish and omega-3 fatty acids. *Nutritionreview* 2015; (9): 140–50. (German)
9. Martinchik A.N., Baturin A.K., Keshabyants E.E., Fatyanova L.N., Semenova Ya.A., Bazarova L.B., UstinovaYu.V. Analysis of the actual nutrition of children and adolescents in Russia aged from 3 to 19 years. *Voprosy pitaniia [Problems of Nutrition]*. 2017; 86 (4): 50–60. (in Russian)
10. WHO. Guideline: Sodium intake for adults and children. Geneva: World Health Organization (WHO). 2012; 44.
11. WHO. Guideline: Potassium intake for adults and children. Geneva: World Health Organization (WHO). 2012; 48.
12. VazheninaA.A., Petrov V.A., IvanovaI.L. Features of homemade rations of the day off for preschoolers – pupils of preschool educational organizations. *Tikhookeanskiy meditsinskiy zhurnal [Pacific Medical Journal]* 2016; (3): 45-48.(in Russian)
13. Mazhaeva T.V., Chugunova O.V., Grashchenkov D.V. Some aspects of the structure and organization of nutrition of children in some regions of Russia. *Voprosy pitaniia [Problems of Nutrition]*. 2016; (6): 95-102. (in Russian)
14. Charzewska J., Chwojnowska Z., Wajszczuk B. Standards for energy and nutrients and their role in the development of pre-school children. In: *Recommendations for nutrition providers regarding the principles of proper nutrition children in kindergartens*. Warszawa, 2011: 31–52. (in Polish)
15. Ute A., Clausen K., Kersting M. The nutrition of healthy children and adolescents according to the concept of optimized mishkost. *Ernaehrungs Umschau [Diet Umschau]*, 2008; 3: 168–75. (German)

Для корреспонденции

Гуревич Константин Георгиевич – доктор медицинских наук, профессор РАН, заведующий кафедрой ЮНЕСКО «Здоровый образ жизни – залог успешного развития» ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» Минздрава России
 Адрес: 127473, Россия, г. Москва, ул. Делегатская д. 20, стр. 1
 Телефон: (495) 681-88-31
 E-mail: kgurevich@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-7603-6064>

Гуревич К.Г.¹, Никонов Е.Л.², Заборова В.А.³, Шелехова Т.Ю.³, Зольникова О.Ю.³

Применение пробиотиков в составе комплексной терапии дисбиотических нарушений при некоторых заболеваниях кишечника

Probiotic using as a part of complex therapy of disbiotic violations at some intestinal diseases

Gurevich K.G.¹, Nikonov E.L.², Zaborova V.A.³, Shelekhova T.Yu.³, Zolnikova O.Yu.³

¹ ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва, Россия

² Департамент здравоохранения г. Москвы, Москва, Россия

³ ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский университет), Москва, Россия

¹ A.I. Yevdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow, Russia

² Moscow Department of Healthcare, Moscow, Russia

³ I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia

Заболевания кишечника относятся к числу наиболее распространенных, в связи с чем их профилактика и лечение представляют собой приоритетную задачу практического здравоохранения. В настоящее время получено множество неоспоримых доказательств того, что микробиота кишечника играет ключевую роль в патогенезе многих заболеваний.

Для цитирования: Гуревич К.Г., Никонов Е.Л., Заборова В.А., Шелехова Т.Ю., Зольникова О.Ю. Применение пробиотиков в составе комплексной терапии дисбиотических нарушений при некоторых заболеваниях кишечника // *Вопр. питания*. 2019. Т. 88, № 1. С. 77–84. doi: 10.24411/0042-8833-2019-10009.

Статья поступила в редакцию 02.07.2018. **Принята в печать** 27.12.2018.

For citation: Gurevich K.G., Nikonov E.L., Zaborova V.A., Shelekhova T.Yu., Zolnikova O.Yu. Probiotic using as a part of complex therapy of disbiotic violations at some intestinal diseases. *Voprosy pitaniia* [Problems of Nutrition]. 2019; 88 (1): 77–84. doi: 10.24411/0042-8833-2019-10009. (in Russian)

Received 02.07.2018. **Accepted for publication** 27.12.2018.

Цель работы – анализ имеющихся данных о роли микрофлоры и эффективности назначения пробиотических культур для лечения синдрома раздраженного кишечника, некротического энтероколита, болезни Крона.

На основании имеющихся в литературе сведений обсуждены основные аспекты биологических свойств пробиотических бактерий, в первую очередь в контексте их регулирующего влияния на воспалительную иммунную реакцию. Рассматривается вопрос штаммоспецифического эффекта пробиотиков. В статье представлены основные положения, касающиеся пересадки фекальной микробиоты, перспективы и трудности реализации этой методики.

Заключение. Несмотря на широкое использование про- и пребиотиков в клинике для лечения заболеваний желудочно-кишечного тракта, сохраняется много вопросов, связанных с подбором конкретных штаммов для каждого пациента, дозировки и длительности терапии для достижения устойчивой ремиссии.

Ключевые слова: пробиотики, микробиом человека, микробиота кишечника

Diseases of intestines are among the most widespread in this connection their effective prevention and treatment represents a priority problem of practical health care. Nowadays the set of the indisputable evidence that the microbiota of intestines played a key role in pathogenesis of many diseases has been obtained.

Aim – the analysis of the available data on a role of microflora and efficiency of probiotic cultures for treatment of irritable bowel syndrome, the necrotic enterocolitis, Krone's disease.

Based on the data, which is available in literature, the main aspects of biological properties of probiotic bacteria, first in the context of their regulating influence on inflammatory immune reaction have been discussed. The question of strain-specific effect of probiotics has been considered. The basic provisions concerning change of a fecal microbiota, prospect and difficulty of realization of this technique have been presented in the article.

Conclusion. Despite of wide use of pro- and prebiotics in clinic for treatment of diseases of digestive tract, a large number of the questions connected with selection of concrete strains for each patient, a dosage and duration of therapy for achievement of steady remission still remains.

Keywords: probiotics, microbiome of the person, intestines microbiota

В последние годы изучение кишечного микробиома и его роли в поддержании здоровья привело к серьезным изменениям во взглядах на физиологию человека и развитие многих заболеваний. Целостность эпителиального барьера кишечника является необходимым условием для сохранения гомеостаза, при котором, с одной стороны, осуществляется транспорт пищевых веществ, а с другой – защита от токсических соединений и чужеродных биологических агентов. Доказано, что нарушение целостности эпителиального барьера является одним из основных патогенетических факторов, связанных с целым рядом заболеваний желудочно-кишечного тракта, ожирением и сахарным диабетом. Гипотеза о том, что специфические пробиотические бактериальные штаммы могут влиять на функциональную целостность эпителиального барьера кишечника, стимулирует проведение исследований *in vitro*, на моделях, на животных и в клинических испытаниях для оценки того, могут ли пробиотики возвращать заболевший организм обратно в состояние здоровья [1].

Получено множество доказательств того, что микробиота участвует в патогенезе функциональных нарушений кишечника. Есть много оснований полагать, что нарушения качественного и количественного состава нормальной кишечной флоры приводят к расстройствам взаимодействия оси «головной мозг–кишечник–микробиота».

Звеньями данного расстройства являются повышение кишечной проницаемости, модуляция иммунной системы стенки кишечника, развитие субклинического воспаления, изменение моторной функции и развитие висцеральной гиперчувствительности.

Исходя из этого сложились представления о терапевтических преимуществах и перспективах стратегий модификации микробиоты при функциональных нарушениях кишечника, главным образом при синдроме раздраженного кишечника (СРК). С помощью метода секвенирования 16S rRNA продемонстрировано, что у пациентов с СРК уменьшается разнообразие микробной популяции, изменяется доля конкретных бактериальных групп и степень вариативности состава микробиоты [1, 2]. Исследователи отмечают уменьшение количества лактобактерий при варианте течения СРК с диареей и увеличение количества вейлонелл при варианте СРК, сопровождающемся запорами. Оба типа СРК протекают на фоне общего снижения количества бифидобактерий [2].

У многих пациентов с СРК прослеживается четкая взаимосвязь симптомов заболевания с характером потребляемой ими пищи, 2/3 пациентов сообщают о необходимости ограничения тех или иных продуктов из их рациона. На протяжении многих лет были опробованы различные диетические подходы для лечения симптомов СРК.

В последние годы было показано, что пища воздействует на кишечник, модулируя клинические прояв-

ния заболевания в первую очередь за счет изменения состава микробных сообществ кишечника [1]. Таким образом, диетические рекомендации, способные изменить микробиоту кишечника, могут рассматриваться в качестве терапевтического инструмента для облегчения симптомов СРК [3]. Рандомизированные исследования доказали эффективность диет с низким содержанием углеводов, относящихся к группе FODMAP. Такие диеты включают короткоцепочечные полимеры (полисахариды) из мономеров фруктозы (фруктаны) и галактозы (галактаны), дисахариды (лактоза, мальтоза), моносахариды (фруктоза, галактоза) и сахароспирты (сорбит, маннит, ксилит и мальтит).

Это связано с тем, что FODMAP – углеводы, не всасываемые в тонкой кишке, ферментируются в толстой кишке и вызывают увеличение продукции газов. Их избыток приводит к увеличению просвета кишечника, что вызывает вздутие живота. Показано, что такие углеводы вызывают развитие нестабильности микробного состава и уменьшают микробное разнообразие у пациентов с жалобами на метеоризм, тогда как при аналогичной диете микрофлора здоровых была стабильной [4].

Метаногенные археи являются основными бактериями, поглощающими водород в толстой кишке человека. У ряда пациентов с СРК обнаружены более низкие количества метаногенных архей, что может быть одной из причин изменения моторики кишечника [5].

Возможности использования пробиотиков при СРК основаны на представлениях о том, что у пациентов с данным заболеванием обнаружены более низкие концентрации и микробное разнообразие *Bifidobacterium*, чем у здоровых людей. Диета с низким содержанием ферментируемых флорой углеводов положительно влияет на бифидобактерии. Кроме того, отмечено изменение содержания *Akkermansia muciniphila* [6].

Бактерии родов *Lactobacillus* и *Bifidobacterium* являются типичными компонентами коммерческих пробиотических продуктов, используемых для лечения СРК. Реже используются пробиотики на основе *Escherichia* или *Saccharomyces*. Основной вывод, который можно сделать на основе имеющихся клинических исследований: эффективность одного штамма микроорганизма нельзя экстраполировать на другой штамм данного микроорганизма.

Доказательная база клинической эффективности пробиотиков представлена в систематических обзорах и метаанализах рандомизированных контролируемых исследований. Так, А.С. Ford и соавт. (2014) проанализировали 43 рандомизированных клинических исследования по эффективности применения пробиотиков для лечения СРК. Было показано, что, несмотря на большой разброс имеющихся результатов, в целом пробиотики эффективны для купирования основных клинических симптомов заболевания [7]. Метаанализ 24 клинических исследований показал, что моноштаммовые пробиотические культуры менее эффективны по сравнению с мультиштаммовыми пробиотиками; содержащие

только один штамм микроорганизмов неэффективны для уменьшения симптома абдоминальной боли. Наиболее эффективными с точки зрения влияния на симптомы СРК являются сочетания 2–3 штаммов, в первую очередь содержащие *L. plantarum*, *B. infantis*, *L. paracasei*, *L. acidophilus*, *B. lactis*, *S. thermophilus* и *L. Bulgaricus* [8]. Другие систематические обзоры также свидетельствуют в пользу эффективности пробиотиков у больных с СРК [9, 10]. Еще в одном систематическом обзоре проанализировано 18 рандомизированных клинических исследований при СРК и показано, что пробиотики эффективны для уменьшения симптомов боли в животе [9]. Сообщается об увеличении частоты дефекаций у лиц с запорами на фоне приема пробиотиков [10].

Несмотря на то что клинические исследования доказали значительное сокращение числа случаев тяжелого некротического энтероколита и смертности у недоношенных детей при терапии пробиотиками, эксперты затрудняются рекомендовать рутинное использование конкретного пробиотического препарата в клинической практике и ждут новых испытаний безопасности и эффективности [11]. Большинство исследований пробиотиков у недоношенных детей сконцентрированы на изучении воздействия на колонизацию кишечника на основании анализа фекалий. Выявлено, что различные пробиотические штаммы или синбиотики могут снижать уровни потенциальных патогенных бактерий и дрожжей в фекальной микробиоте, что может способствовать уменьшению заболеваемости и тяжести некротического энтероколита [12]. Отмечено, что назначение пробиотического штамма *Bifidobacterium lactis* восстанавливает колонизационную резистентность кишечника, в том числе за счет увеличения синтеза цитозольных и мембранных белков плотных межклеточных контактов, что в свою очередь приводит к уменьшению проницаемости кишки при некротическом энтероколите [13]. Имеется большое число исследований на животных, которые подтверждают роль пробиотиков в формировании барьерной функции незрелого кишечного тракта. В экспериментальных моделях некоторые пробиотические штаммы снижали частоту и/или тяжесть некротического энтероколита за счет модуляции различных компонентов кишечного барьера. Сообщается о благоприятном воздействии пробиотиков на разнообразие кишечной микрофлоры и ее основных метаболитов, в том числе короткоцепочечных жирных кислот, а также транслокации в другие органы нормофлоры [14].

В эксперименте показано, что у недоношенных поросят, которых кормили пробиотической смесью, содержащей *L. paracasei*, *B. animalis* и *Streptococcus thermophilus*, наблюдалось ускорение развития некротического энтероколита. Это было связано с нарушенной парацеллюлярной проницаемостью и с увеличением экспрессии провоспалительных цитокинов и уменьшением разнообразия кишечной микробиоты [15]. Группой исследователей под руководством К. Guenther описаны случаи развития сепсиса у недоношенных детей [16] и пациентов со сниженным иммунитетом на фоне введения

пробиотиков [17]. Не ясно, в какой степени исследования на поросятах могут быть аппроксимированы на человека. Однако приведенные результаты исследований подчеркивают необходимость дальнейшего изучения безопасности пробиотических препаратов, особенно у новорожденных. Тем не менее результаты метаанализа, проведенного S.C. Sawh и соавт. (2016), показывают, что в целом целесообразно назначать пробиотики недоношенным детям для профилактики и лечения некротического энтероколита. В первую очередь имеются доказательства эффективности штаммов *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* и *Saccharomyces* [18].

Имеются довольно веские доказательства того, что иммунный ответ при болезни Крона направлен против микробиоты кишечника, тогда как в патогенезе язвенного энтероколита роль микробиоты спорна [19]. Между тем результаты метаанализа показывают, что использование пробиотиков для терапии активной болезни Крона или для поддержания ремиссии заболевания было неэффективно. Однако были получены более многообещающие результаты использования пробиотиков в терапевтических целях для индукции ремиссии, а также для поддержания ремиссии язвенного энтероколита [20].

Проведенный метаанализ 15 рандомизированных контролируемых клинических исследований по влиянию пробиотиков на состояние здоровья взрослых показал, что пробиотики влияют на среднее время прохождения пищевого комка через кишечник [21]. Наиболее выражены эффекты были у пожилых и у женщин, а также у пациентов, страдающих запорами. Из использованных бактериальных штаммов наибольшей эффективностью обладали *B. lactis*.

Следует отметить, что проведено большое число исследований пробиотиков на основе *Bifidobacterium* для решения многих проблем со здоровьем. По всей видимости, популярность бифидобактерий как объекта исследования связана с их способностью влиять на баланс Th1/Th2-хелперов, что рассматривается как ключевой момент регуляции активности иммунной системы. Так, *B. bifidum*, *B. dentium* и *B. longum* способны стимулировать системный и кишечный иммунитет. Доказано, что бифидобактерии могут оказывать положительное влияние на здоровье; в то же время следует подчеркнуть, что простое увеличение уровня бифидобактерий в фекалиях не может рассматриваться как критерий здоровья. Однако, учитывая сильную взаимосвязь числа бифидобактерий со здоровьем, данный показатель может рассматриваться как биомаркер ряда заболеваний в будущем. Более того, развиваются исследования по использованию бифидобактерий в качестве средств для доставки противоопухолевых агентов [22].

В систематическом обзоре N.B. Kristensen и соавт. (2016) проанализировано 7 рандомизированных клинических исследований, посвященных применению пробиотиков для нормализации нормофлоры кишечника у здоровых взрослых. Авторы приходят к выводу, что нет убедительных данных о влиянии пробиотиков на фекальную микрофлору. Авторы сравнивают эффекты

пробиотиков с плацебо. Между тем они обращают внимание на большой разброс пациентов по возрасту, разнообразие использованных препаратов пробиотиков (в том числе исходных бактериальных штаммов и числа КОЕ в единице препарата, длительности терапии), различия в оцениваемых конечных точках, длительности наблюдения и т.д. Возможно, при использовании стандартизированных процедур удастся получить другие результаты [23].

В комментариях к данному обзору M.E. Sanders отмечает: к сожалению, поскольку состав здоровой микробиоты остается неизвестным, в клинических исследованиях нет надежных филогенетических показателей. Вместо того чтобы сосредоточиться на конкретных филогенетических изменениях в составе микрофлоры, более плодотворным подходом могло бы быть определение возможности пробиотиков способствовать стабильности состава микробиоты. Хотя эта концепция не нова, на удивление мало исследователей рассматривали способность пробиотиков стабилизировать состав микробиоты кишечника. Иными словами, необходимы дополнительные исследования, чтобы определить, могут ли пробиотики способствовать сохранению гомеостаза кишечной микробиоты и тем самым минимизировать далеко идущие последствия нарушений микробиоты. Подобные исследования могут помочь разрешить противоречие между очевидными преимуществами пробиотиков для здоровья и отсутствием доказательства их воздействия на состав микробиоты [24].

Необходимо отметить, что на фармакологическом рынке РФ представлены как лекарственные препараты, так и биологически активные добавки к пище (БАД) (см. таблицу). На долю последних приходится более 80% продаж в ценовом эквиваленте, что связано с особенностями российского законодательства (БАД регистрировать проще, чем лекарственные препараты). Рынок про- и пребиотиков является одним из наиболее быстро растущих: объемы продаж без учета инфляции за 10 лет в среднем выросли в 5 раз, причем в первую очередь растет продажа БАД. Порядка 75% продаж составляют препараты импортного производства, причем отечественные компании постепенно сдают свои позиции. ТОП-10 возглавляют линекс (Sandoz/Novartis), бифиформ (Ferrosan/Pfizer) и хилак форте (Ratiopharm/Teva). Из отечественных производителей лидером является аципол («Фармстандарт»), который приближается к зарубежным лидерам рынка [25].

Помимо использования про- и пребиотиков для лечения заболеваний желудочно-кишечного тракта, активно развиваются технологии пересадки микробиоты. Следует отметить, что первое известное применение материала фекалий для лечения заболеваний кишечника было выполнено китайским врачом Ге Хонгом (Ge Hong) в IV в. нашей эры. Смесь под названием «желтый суп» была применена у пациента с тяжелой диареей. В течение последующих столетий нет никаких записей об использовании фекального материала в лечебных целях. Начиная с XVII в. фекальный материал применялся

Примеры пробиотиков на фармакологическом рынке РФ

Действующее вещество	Торговое название
<i>Лекарственные средства для нормализации микрофлоры кишечника</i>	
Бифидобактерии бифидум + Кишечные палочки (<i>Bifidobacterium bifidum + Escherichia coli</i>)	Бификол; Бификол сухой
Бифидобактерии бифидум + Лизоцим (<i>Bifidobacterium bifidum + Lysocimum</i>)	Бифилиз; Бифилиз (ВИГЭЛ)
Бифидобактерии лонгум + Энтерококкус фециум (<i>Bifidobacterium longum + Enterococcus faecium</i>)	Бифиформ
<i>БАД – пробиотики и пребиотики</i>	
Бифидобактерии бифидум + Лактобактерии плантарум (<i>Bifidobacterium bifidum + Lactobacillus plantarum</i>)	Флорин форте
Лактобактерии ацидофильные + Грибки кефирные (<i>Lactobacillus acidophilus + Saccharomyces</i>)	Аципол
Лактулоза + Лигнин гидролизный* (<i>Lactulosum + Ligninum hydrolysatum</i>)	Лактофильтрум
<i>Bifidobacterium adolescentis</i> ; бифидогенные факторы и продукты метаболизма бифидобактерий	Биовестин
<i>Bifidobacterium adolescentis</i> ; <i>Lactobacillus plantarum</i> ; бифидогенные факторы и продукты метаболизма бифидо- и лактобактерий	Биовестин-лакто
Биологически активные метаболиты бесклеточной культуральной жидкости бактерий <i>B. subtilis</i> штамм 3 (содержащей в том числе витамин E)	Бактистатин
Бифидобактерии	Бифидумбактерин-1000; Бифидумбактерин для детей; Бифидумбактерин для взрослых; Бифидумбактерин с черносливом
Витамин С + симбиотический комплекс (фруктоолигосахариды, <i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Bifidobacterium bifidum</i> , <i>Bifidobacterium infantis</i>)	Ацидофилис-бифидум плюс; витамин С Кид'с формула
Живые лактобактерии <i>Lactobacillus reuteri</i> <i>Protectis</i>	Рела Лайф
Живые лиофилизированные культуры пробиотических молочнокислых бактерий: <i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Lactobacillus rhamnosus</i> , <i>Streptococcus thermophilus</i> , <i>Lactobacillus delbrueckii</i> ssp. <i>Bulgaricus</i>	Йогулакт; Йогулакт 55+; Йогулакт форте
Инактивированная дрожжевая культура <i>Saccharomyces cerevisiae</i> + пищевые волокна, витамины, аминокислоты, макро- и микроэлементы	Эубикор
Инактивированные бактерии пробиотического штамма <i>Lactobacillus reuteri</i>	Хелинорм
Комплекс бифидобактерий <i>B. adolescentis</i> , <i>B. bifidum</i> , <i>B. longum</i> + пектин, витамины	Бифистим
Лиофилизированный порошок бифидобактерий, пробиотические микроорганизмы <i>Bifidobacterium animalis</i>	Линекс; линекс для детей
Перуанская астра, сухие бактерии следующих штаммов: <i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Bifidobacterium bifidum</i> , <i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>Bifidobacterium longum</i>	Бактериобаланс
Бифидобактерии + Лактобактерии (<i>Bifidobacterium + Lactobacillus</i>)	Бифилакт-БИЛС
Пробиотические микроорганизмы: <i>Bifidobacterium bifidum</i> ; <i>Bifidobacterium lactis</i> ; <i>Lactobacillus acidophilus</i> ; <i>Lactobacillus paracasei</i> ; <i>Lactobacillus plantarum</i> ; <i>Lactobacillus rhamnosus</i> ; <i>Lactobacillus salivarius</i>	РиоФлора; РиоФлора Баланс Нео; РиоФлора Иммуно
Пробиотические штаммы лактобацилл: <i>Lactobacillus rhamnosus</i> и <i>Lactobacillus reuteri</i>	Вагилак
Смесь культур пробиотических и молочнокислых микроорганизмов: <i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Lactobacillus casei</i> , <i>Bifidobacterium bifidum</i> , <i>Bifidobacterium lactis</i> , <i>Lactococcus lactis</i> , <i>Lactobacillus salivarius</i>	Симбиолакт Комп; Симбиолакт Плюс
Сухой экстракт микроорганизмов <i>Halobacterium halobium</i>	Баксин

в ветеринарии как орально, так и ректально. Во время Второй мировой войны теплый верблюжий стул использовался немецкими солдатами для лечения бактериальной дизентерии. В 1958 г. была впервые выполнена трансплантация кишечной микрофлоры от человека к человеку [26].

Современная технология трансплантации заключается в том, что микрофлора от здорового донора переносится непосредственно в кишечник пациента *per os* или ректально. В 2016 г. было достигнуто европейское соглашение о пересадке кишечной микрофлоры в клинической

практике [27]. Признано, что трансплантация фекальной микрофлоры является важным вариантом лечения инфекции *Clostridium difficile*. Также пересадка может играть определенную роль и в терапии других нарушений, связанных с изменением микрофлоры кишечника, и ожирения. В настоящее время активно ведется работа для определения показаний, противопоказаний и возможных рисков при проведении фекальной трансплантации.

В обзоре Н.Н. Choi, Y.S. Cho (2016) отмечено, что пересадка микрофлоры имеет доказанную эффективность для лечения инфекции *Clostridium difficile* [28]. Польза

применения метода при СРК сомнительна. Но это в первую очередь связано с отсутствием исследований с длительным периодом наблюдения, использующих соизмеримые конечные точки. Имеются предварительные исследования, в которых показана перспективность пересадки микробиоты кишечника для лечения функциональных запоров и поносов. Однако нужны репрезентативные клинические исследования, чтобы окончательно ответить на вопрос об эффективности метода. Также есть сообщения о том, что пересадка микробиоты может оказать положительное воздействие при болезни Паркинсона, фибромиалгии, синдроме хронической усталости, миоклонической дистонии, рассеянном склерозе, ожирении, резистентности к инсулину и регрессивном аутизме у детей. Если говорить о побочных эффектах процедуры, то авторы отмечают, что обычно в литературе сообщалось о немедленных побочных эффектах после пересадки микробиоты, включая дискомфорт в животе, вздутие живота, метеоризм, диарею, запоры, рвоту и лихорадку. Большинство этих симптомов исчезает в течение 2 дней после трансплантации. Однако очень мало информации о долгосрочных иммунологических эффектах пересадки, включая возможное начало скрытых инфекций. Кроме того, пока не изучено, могут ли в исходе процедуры возникать заболевания или состояния, связанные с изменениями микробиоты кишечника, включая ожирение, диабет, атеросклероз, рак толстой кишки, неалкогольную жировую болезнь печени, ишемическую болезнь сердца, астму и аутизм [28].

Еще один вопрос, который связан с пересадкой микробиоты и обычно остается за пределами рассмотрения, – это критерии оценки здоровья доноров. Поскольку до настоящего времени не известны характеристики нор-

мофлоры, это очень важная проблема. Самое сложное, что мы не можем быть уверены в том, что нормальная микрофлора от здорового донора окажется таковой для реципиента. Напомним, что количественный и качественный состав микрофлоры в том числе определяется иммунной системой хозяина и факторами внешней среды. Нельзя исключить, что часть превитой донорской микробиоты не сможет продолжить свою жизнедеятельность в организме реципиента в силу его иммунной реактивности или характера питания. В этом случае из-за дефицита нормофлоры можно ожидать размножения патогенных микроорганизмов.

Таким образом, можно констатировать, что открыта эпоха использования про- и пребиотиков в клинике для лечения заболеваний желудочно-кишечного тракта [29]. Существуют заболевания, при которых эффективность применения пробиотиков доказана. Несмотря на это сохраняется большое количество вопросов, связанных с подбором конкретных штаммов для каждого пациента, дозировки и длительности терапии для достижения устойчивой ремиссии. Поскольку количественная и качественная характеристика микробиоты кишечника строго индивидуализирована, без изменения образа жизни человека ее коррекция невозможна. Возможно, с появлением новых клинических исследований будут даны ответы на вопросы, связанные с безопасностью и эффективностью применения про- и пребиотиков. Между тем имеющиеся сведения подчеркивают безусловную перспективность дальнейших изысканий. Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Сведения об авторах

Гуревич Константин Георгиевич (Gurevich Konstantin G.) – доктор медицинских наук, профессор РАН, заведующий кафедрой ЮНЕСКО «Здоровый образ жизни – залог успешного развития» ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» Минздрава России (Москва, Россия)

E-mail: kgurevich@mail.ru

<https://orcid.org/0000-0002-7603-6064>

Никонов Евгений Леонидович (Nikonov Evgeniy L.) – доктор медицинских наук, профессор, начальник управления делами и координации деятельности, руководитель проектного офиса, заместитель председателя экспертного совета по науке Департамента здравоохранения г. Москвы (Москва, Россия)

E-mail: dr.e.nikonov@gmail.com

<https://orcid.org/0000-0003-3021-6534>

Заборова Виктория Александровна (Zaborova Viktoriya A.) – доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры спортивной медицины и медицинской реабилитации лечебного факультета ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский университет) (Москва, Россия)

E-mail: vaz111v@gmail.com

<https://orcid.org/0000-0001-5044-1152>

Шелехова Татьяна Юрьевна (Shelekhova Tatiyana Yu.) – кандидат медицинских наук, ассистент кафедры спортивной медицины и медицинской реабилитации лечебного факультета ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский университет) (Москва, Россия)

E-mail: tat1251@rambler.ru

<https://orcid.org/0000-0003-2596-0983>

Зольникова Оксана Юрьевна (Zolnikova Oksana Yu.) – кандидат медицинских наук, доцент кафедры пропедевтики внутренних болезней лечебного факультета ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский университет) (Москва, Россия)

E-mail: ks.med@mail.ru

<https://orcid.org/0000-0002-6701-789>

Литература

- Bron P.A., Kleerebezem M., Brummer R. et al. Can probiotics modulate human disease by impacting intestinal barrier function? // *Br. J. Nutr.* 2017. Vol. 117, N 1. P. 93–107.
- Lee H.J., Choi J.K., Ryu H.S. et al. Therapeutic modulation of gut microbiota in functional bowel disorders // *J. Neurogastroenterol. Motil.* 2017. Vol. 23, N 1. P. 9–19.
- Gibson P.R., Varney J., Malakar S., Muir J.G. Food components and irritable bowel syndrome // *Gastroenterology.* 2015. Vol. 148. P. 1158–1174.
- Böhn L., Störsrud S., Liljebo T. et al. Diet low in FODMAPs reduces symptoms of irritable bowel syndrome as well as traditional dietary advice: a randomized controlled trial // *Gastroenterology.* 2015. Vol. 149. P. 1399–1407.
- Triantafyllou K., Chang C., Pimentel M. Methanogens, methane and gastrointestinal motility // *J. Neurogastroenterol. Motil.* 2014. Vol. 20. P. 31–40.
- Staudacher H.M., Lomer M.C., Anderson J.L. et al. Fermentable carbohydrate restriction reduces luminal bifidobacteria and gastrointestinal symptoms in patients with irritable bowel syndrome // *J. Nutr.* 2012. Vol. 142. P. 1510–1518.
- Ford A.C., Quigley E.M., Lacy B.E. et al. Efficacy of prebiotics, probiotics, and synbiotics in irritable bowel syndrome and chronic idiopathic constipation: systematic review and meta-analysis // *Am. J. Gastroenterol.* 2014. Vol. 109. P. 1547–1561.
- Ducrotté P., Sawant P., Jayanthi V. Clinical trial: *Lactobacillus plantarum* 299v (DSM 9843) improves symptoms of irritable bowel syndrome // *World J. Gastroenterol.* 2012. Vol. 18. P. 4012–4018.
- Hungin A.P., Mulligan C., Pot B. et al. Systematic review: probiotics in the management of lower gastrointestinal symptoms in clinical practice – an evidence-based international guide // *Aliment. Pharmacol. Ther.* 2013. Vol. 38. P. 864–886.
- Riezzo G., Orlando A., D'Attoma B. et al. Randomised clinical trial: efficacy of *Lactobacillus paracasei*-enriched artichokes in the treatment of patients with functional constipation – a double-blind, controlled, crossover study // *Aliment. Pharmacol. Ther.* 2012. Vol. 35. P. 441–450.
- Anand R.J., Leaphart C.L., Mollen K.P. et al. The role of the intestinal barrier in the pathogenesis of necrotizing enterocolitis // *Pediatr. Surg. Int.* 2007. Vol. 27. P. 124–133.
- Indrio F., Riezzo G., Raimondi F. et al. The effects of probiotics on feeding tolerance, bowel habits, and gastrointestinal motility in preterm newborns // *J. Pediatr.* 2008. Vol. 152. P. 801–806.
- Stratiki Z., Costalos C., Sevastiadou S. et al. The effect of a bifidobacter supplemented bovine milk on intestinal permeability of preterm infants // *Early Hum. Dev.* 2007. Vol. 83, N 9. P. 575–579.
- Lee D.J., Drongowski R.A., Coran A.G. et al. Evaluation of probiotic treatment in a neonatal animal model // *Pediatr. Surg. Int.* 2000. Vol. 16. P. 237–242.
- Cilieborg M.S., Thymann T., Siggers R. et al. The incidence of necrotizing enterocolitis is increased following probiotic administration to preterm pigs // *J. Nutr.* 2011. Vol. 141. P. 223–230.
- Guenther K., Straube E., Pfister W. et al. Severe sepsis after probiotic treatment with *Escherichia coli* NISSLE 1917 // *Pediatr. Infect. Dis. J.* 2010. Vol. 29. P. 188–189.
- Land M.H., Rouster-Stevens K., Woods C.R. et al. *Lactobacillus* sepsis associated with probiotic therapy // *Pediatrics.* 2005. Vol. 115. P. 178–181.
- Sawh S.C., Jansen S., Reynaert C.J., Jones P.M. Prevention of necrotizing enterocolitis with probiotics: a systematic review and meta-analysis // *Peer J.* 2016. Vol. 4. P. e2429.
- MacDonald T.T., Monteleone I., Fantini M.C. et al. Regulation of homeostasis and inflammation in the intestine // *Gastroenterology.* 2011. Vol. 140. P. 1768–1775.
- Ghouri Y.A., Richards D.M., Rahimi E.F. et al. Systematic review of randomized controlled trials of probiotics, prebiotics, and synbiotics in inflammatory bowel disease // *Clin. Exp. Gastroenterol.* 2014. Vol. 7. P. 473.
- Miller L.E., Zimmermann A.K., Ouwehand A.C. Contemporary meta-analysis of short-term probiotic consumption on gastrointestinal transit // *World J. Gastroenterol.* 2016. Vol. 22, N 21. P. 5122–5131.
- Arbolea S., Watkins C., Stanton C., Ross R.P. Gut bifidobacteria populations in human health and aging // *Front. Microbiol.* 2016. Vol. 7. P. 1204.
- Kristensen N.B., Bryrup T., Allin K.H. et al. Alterations in fecal microbiota composition by probiotic supplementation in healthy adults: a systematic review of randomized controlled trials // *Genome Med.* 2016. Vol. 8. P. 52.
- Sanders M.E. Probiotics and microbiota composition // *BMC Med.* 2016. Vol. 14. P. 82.
- Догузова В.А. Обзор розничного рынка средств от дисбактериоза // *Фармацевт. вестн.* 2013. № 24. С. 4–6.
- Evrensel A., Ceylan M.E. Fecal microbiota transplantation and its usage in neuropsychiatric disorders // *Clin. Psychopharmacol. Neurosci.* 2016. Vol. 14, N 3. P. 231–237.
- The European FMT Working Group. European consensus conference on faecal microbiota transplantation in clinical practice // *Gut.* 2016. Vol. 66, N 4. P. 44–46.
- Choi H.H., Cho Y.S. Fecal microbiota transplantation: current applications, effectiveness, and future perspectives // *Clin. Endosc.* 2016. Vol. 49, N 3. P. 257–265.
- Маркова Ю.М., Шевелева С.А. Пробиотики как функциональные пищевые продукты: производство и подходы к оценке эффективности // *Вопр. питания.* 2014. Т. 83, № 4. С. 5–14.

References

- Bron P.A., Kleerebezem M., Brummer R., et al. Can probiotics modulate human disease by impacting intestinal barrier function? *Br J Nutr.* 2017; 117 (1): 93–107.
- Lee H.J., Choi J.K., Ryu H.S., et al. Therapeutic modulation of gut microbiota in functional bowel disorders. *J Neurogastroenterol Motil.* 2017; 23 (1): 9–19.
- Gibson P.R., Varney J., Malakar S., Muir J.G. Food components and irritable bowel syndrome. *Gastroenterology.* 2015; 148: 1158–74.
- Böhn L., Störsrud S., Liljebo T., et al. Diet low in FODMAPs reduces symptoms of irritable bowel syndrome as well as traditional dietary advice: a randomized controlled trial. *Gastroenterology.* 2015; 149: 1399–407.
- Triantafyllou K., Chang C., Pimentel M. Methanogens, methane and gastrointestinal motility. *J Neurogastroenterol Motil.* 2014; 20: 31–40.
- Staudacher H.M., Lomer M.C., Anderson J.L., et al. Fermentable carbohydrate restriction reduces luminal bifidobacteria and gastro-

- intestinal symptoms in patients with irritable bowel syndrome. *J Nutr.* 2012; 142: 1510–8.
7. Ford A.C., Quigley E.M., Lacy B.E., et al. Efficacy of prebiotics, probiotics, and synbiotics in irritable bowel syndrome and chronic idiopathic constipation: systematic review and meta-analysis. *Am J Gastroenterol.* 2014; 109: 1547–61.
 8. Ducrotté P., Sawant P., Jayanthi V. Clinical trial: *Lactobacillus plantarum* 299v (DSM 9843) improves symptoms of irritable bowel syndrome. *World J Gastroenterol.* 2012; 18: 4012–8.
 9. Hungin A.P., Mulligan C., Pot B., et al. Systematic review: probiotics in the management of lower gastrointestinal symptoms in clinical practice – an evidence-based international guide. *Aliment Pharmacol Ther.* 2013; 38: 864–86.
 10. Riezzo G., Orlando A., D'Attoma B., et al. Randomised clinical trial: efficacy of *Lactobacillus paracasei*-enriched artichokes in the treatment of patients with functional constipation – a double-blind, controlled, crossover study. *Aliment Pharmacol Ther.* 2012; 35: 441–50.
 11. Anand R.J., Leaphart C.L., Mollen K.P., et al. The role of the intestinal barrier in the pathogenesis of necrotizing enterocolitis. *Pediatr Surg Int.* 2007; 27: 124–33.
 12. Indrio F., Riezzo G., Raimondi F., et al. The effects of probiotics on feeding tolerance, bowel habits, and gastrointestinal motility in preterm newborns. *J Pediatr.* 2008; 152: 801–6.
 13. Stratiki Z., Costalos C., Sevastiadou S., et al. The effect of a bifidobacter supplemented bovine milk on intestinal permeability of preterm infants. *Early Hum Dev.* 2007; 83 (9): 575–9.
 14. Lee D.J., Drongowski R.A., Coran A.G., et al. Evaluation of probiotic treatment in a neonatal animal model. *Pediatr Surg Int.* 2000; 16: 237–42.
 15. Cilieborg M.S., Thymann T., Siggers R., et al. The incidence of necrotizing enterocolitis is increased following probiotic administration to preterm pigs. *J Nutr.* 2011; 141: 223–30.
 16. Guenther K., Straube E., Pfister W., et al. Severe sepsis after probiotic treatment with *Escherichia coli* NISSLE 1917. *Pediatr Infect Dis J.* 2010; 29: 188–9.
 17. Land M.H., Rouster-Stevens K., Woods C.R., et al. *Lactobacillus* sepsis associated with probiotic therapy. *Pediatrics.* 2005; 115: 178–81.
 18. Sawh S.C., Jansen S., Reynaert C.J., Jones P.M. Prevention of necrotizing enterocolitis with probiotics: a systematic review and meta-analysis. *Peer J.* 2016; 4: e2429.
 19. MacDonald T.T., Monteleone I, Fantini M.C., et al. Regulation of homeostasis and inflammation in the intestine. *Gastroenterology.* 2011; 140: 1768–75.
 20. Ghouri Y.A., Richards D.M., Rahimi E.F., et al. Systematic review of randomized controlled trials of probiotics, prebiotics, and synbiotics in inflammatory bowel disease. *Clin Exp Gastroenterol.* 2014; 7: 473.
 21. Miller L.E., Zimmermann A.K., Ouwehand A.C. Contemporary meta-analysis of short-term probiotic consumption on gastrointestinal transit. *World J. Gastroenterol.* 2016; 22 (21): 5122–31.
 22. Arbolea S., Watkins C., Stanton C., R. Ross R.P. Gut bifidobacteria populations in human health and aging. *Front Microbiol.* 2016; 7: 1204.
 23. Kristensen N.B., Bryrup T., Allin K.H., et al. Alterations in fecal microbiota composition by probiotic supplementation in healthy adults: a systematic review of randomized controlled trials. *Genome Med.* 2016; 8: 52.
 24. Sanders M.E. Probiotics and microbiota composition. *BMC Med.* 2016; 14: 82.
 25. Doguzova V.A. Review of the retail market of means from dysbacteriosis. *Farmatsevticheskiy vestnik [Pharmaceutical Bulletin].* 2013; (24): 4–6. (in Russian)
 26. Evrensel A., Ceylan M.E. Fecal microbiota transplantation and its usage in neuropsychiatric disorders. *Clin Psychopharmacol Neurosci.* 2016; 14 (3): 231–7.
 27. The European FMT Working Group. European consensus conference on faecal microbiota transplantation in clinical practice. *Gut.* 2016; 66 (4): 44–6.
 28. Choi H.H., Cho Y.S. Fecal microbiota transplantation: current applications, effectiveness, and future perspectives. *Clin Endosc.* 2016; 49 (3): 257–65.
 29. Markova Yu.M., Shevelyova S.A. Probiotics as functional foodstuff: production and approaches to efficiency assessment. *Voprosy pitaniia [Problems of Nutrition].* 2014; 83 (4): 5–14. (in Russian)

Для корреспонденции

Сидорова Юлия Сергеевна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории пищевых биотехнологий и специализированных продуктов ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии»
 Адрес: 109240, Россия, г. Москва, Устьинский проезд, д. 2/14
 Телефон: (495) 698-53-71
 E-mail: sidorovaulia28@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-2168-2659>

Зорин С.Н.¹, Сидорова Ю.С.¹, Лобанова Ю.Н.², Мазо В.К.¹

Органический источник ванадия. Получение и физико-химическая характеристика

Organic source of vanadium. preparation and physical-chemical characteristic

Zorin S.N.¹, Sidorova Yu.S.¹, Lobanova Yu.N.², Mazo V.K.¹

- ¹ ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии», Москва, Россия
² Медицинский институт ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», Москва, Россия
¹ Federal Research Centre of Nutrition, Biotechnology and Food Safety, Moscow, Russia
² Medical Institute of Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russia

Антидиабетические свойства соединений ванадия известны уже более 100 лет, однако только в последние 20 лет проведены исследования по конкретному терапевтическому использованию соединений ванадия. При этом органические соединения ванадия более безопасны по сравнению с неорганическими солями этого микроэлемента. Соответственно перспективной представляется разработка метода получения органического источника ванадия, обладающего высокой биодоступностью.

Целью данной работы было получение и физико-химическая характеристика комплекса четырехвалентного ванадия с ферментативным гидролизатом изолята соевого белка (ФГИБС), полученного по одностадийной схеме ферментации в полупромышленных масштабах.

Материал и методы. Реакцию комплексообразования проводили при комнатной температуре: к 10% водному раствору ФГИБС добавляли при перемешивании 25% раствор соли ванадия ($VOSO_4 \cdot xH_2O$) в соотношении по сухим веществам 10:1. Реакцию вели в течение 1 ч при постоянном перемешивании с поддержанием pH реакционной смеси 7,0–7,1 1,0 М NaOH. Содержание ванадия определяли в сухом продукте методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой. Хроматограммы ФГИБС и комплекса ванадия с ФГИБС (V–ФГИБС) получали методом эксклюзионной жидкостной хроматографии высокого давления, которые затем интегрировали весовым методом в диапазоне от свободного до полного объема хроматографической колонки.

Результаты и обсуждение. Полученный в лабораторных условиях комплекс V–ФГИБС хорошо растворялся в воде и содержал 15,8 мг ванадия на 1 г сухого продукта. Анализ молекулярно-массового распределения пептидных фракций исходного ФГИБС и комплекса V–ФГИБС показал, что более 87% ванадия комп-

Для цитирования: Зорин С.Н., Сидорова Ю.С., Лобанова Ю.Н., Мазо В.К. Органический источник ванадия. Получение и физико-химическая характеристика // *Вопросы питания*. 2019. Т. 88, № 1. С. 85–90. doi: 10.24411/0042-8833-2019-10010.

Статья поступила в редакцию 07.08.2018. Принята в печать 27.12.2018.

For citation: Zorin S.N., Sidorova Yu.S., Lobanova Yu.N., Mazo V.K. Organic source of vanadium. preparation and physical-chemical characteristic. *Voprosy pitaniia [Problems of Nutrition]*. 2019; 88 (1): 85–90. doi: 10.24411/0042-8833-2019-10010. (in Russian)

Received 07.08.2018. Accepted for publication 27.12.2018.

лекса находилось в составе пептидных фракций с молекулярными массами более 4,1 кДа, в том числе более 75% ванадия содержалось во фракциях с молекулярными массами от 14,6 до 4,1 кДа.

Заключение. Предметом дальнейшего исследования авторов будет экспериментальная оценка *in vivo* биодоступности и влияния на углеводный и липидный обмен у лабораторных животных с моделируемым ожирением полученного нами нового источника органической формы ванадия-комплекса.

Ключевые слова: ванадий, неорганические соли ванадия, органический источник ванадия, ферментативный гидролизат, антидиабетические эффекты

Antidiabetic properties of vanadium are known more than 100 years, however the researches of specific therapeutic usage of vanadium were conducted only in the last two decades. Along with, the organic vanadium compounds are more harmless in comparison with inorganic vanadium salts. Thus, the development of method of obtaining the organic source of vanadium with high bioavailability is prospective field.

Aim of the work was to obtain and provide the physical-chemical characterization of vanadium complex with enzymatic hydrolysate of soy protein isolate (SPI), obtained by one-stage enzymatic hydrolysis.

Material and methods. *The complex was obtained at room temperature: 10% water solution of SPI was mixed with 25% solution of vanadium salt ($\text{VO}_2\text{SO}_4 \cdot x\text{H}_2\text{O}$) in ratio 10:1 (in dry matter). The reaction was kept during 1 h at constant mixing with pH kept at 7.0–7.1 with 1.0 M NaOH. The concentration of vanadium was determined in dry product by means of inductively coupled plasma mass-spectrometry. The chromatograms of SPI and V–SPI were obtained by means of size-exclusion high-pressure liquid chromatography, and then were integrated by weight method in the range of free till full column volume.*

Results and discussion. *The obtained complex of vanadium with SPI enzymatic hydrolysate (V–SPI) was water-soluble and contained 15.8 mg of vanadium per gram of product dry weight. Analysis of the molecular weight distribution of the peptide fractions of the original SPI enzymatic hydrolysate and the V–SPI complex showed that more than 87% of the vanadium complex was in peptide fractions with molecular weights more than 4.1 kD, including more than 75% of vanadium contained in fractions with molecular weights from 14.6 to 4.1 kD.*

Conclusion. *The experimental evaluation in vivo will be the next stage of this research. The complex bioavailability and its effects on carbohydrate and lipid metabolism of Wistar rats with obesity will be evaluated.*

Keywords: vanadium, inorganic vanadium salts, organic vanadium source, enzymatic hydrolyzate, antidiabetic effects

Выяснение физиологической роли микроэлементов, эссенциальность которых для организма человека в настоящее время не установлена, является важной и актуальной задачей для развития нутрициологии. Это положение в полной мере относится к группе так называемых условно эссенциальных микроэлементов, включающей, в частности, ванадий – переходный металл пятой группы четвертого периода в Периодической таблице химических элементов Д.И. Менделеева. В организм человека ванадий поступает с пищей и водой [1, 2]. Содержание ванадия в различных продуктах составляет 10^{-9} – $10^{-7}\%$. Среднее суточное потребление ванадия оценивается в настоящее время в основном как 10–20 мкг.

Специфическая физиологическая функция ванадия не выявлена, однако получено много экспериментальных данных о способности этого элемента участвовать в модуляции активности ряда ферментов, способности тормозить синтез жирных кислот, подавлять синтез холестерина, снижать уровень коферментов А и Q, сти-

мулировать утилизацию глюкозы, усиливать перекисное окисление липидов, влиять на процессы возбуждения в головном мозге. Особый интерес вызывает возможность использования ванадия в комплексной терапии сахарного диабета [3], поскольку соединения ванадия в настоящее время рассматриваются как возможные средства, позволяющие уменьшать инсулинорезистентность, не повышая дозу инсулина при сахарном диабете 1 типа, а также увеличивать чувствительность тканей к инсулину и усиливать его эффекты при сахарном диабете 2 типа. Подробно обсуждая инсулиномиметические свойства различных ванадийсодержащих соединений, авторы обзорной работы [4] констатируют, что ванадий является «потенциальным перспективным средством лечения сахарного диабета», отмечая при этом, что биологически активные добавки к пище, содержащие этот микроэлемент, в России не производятся. Неорганические соли ванадия характеризуются низкой биодоступностью вследствие слабой абсорбции в желудочно-кишечном тракте [5]. Для органических форм ва-

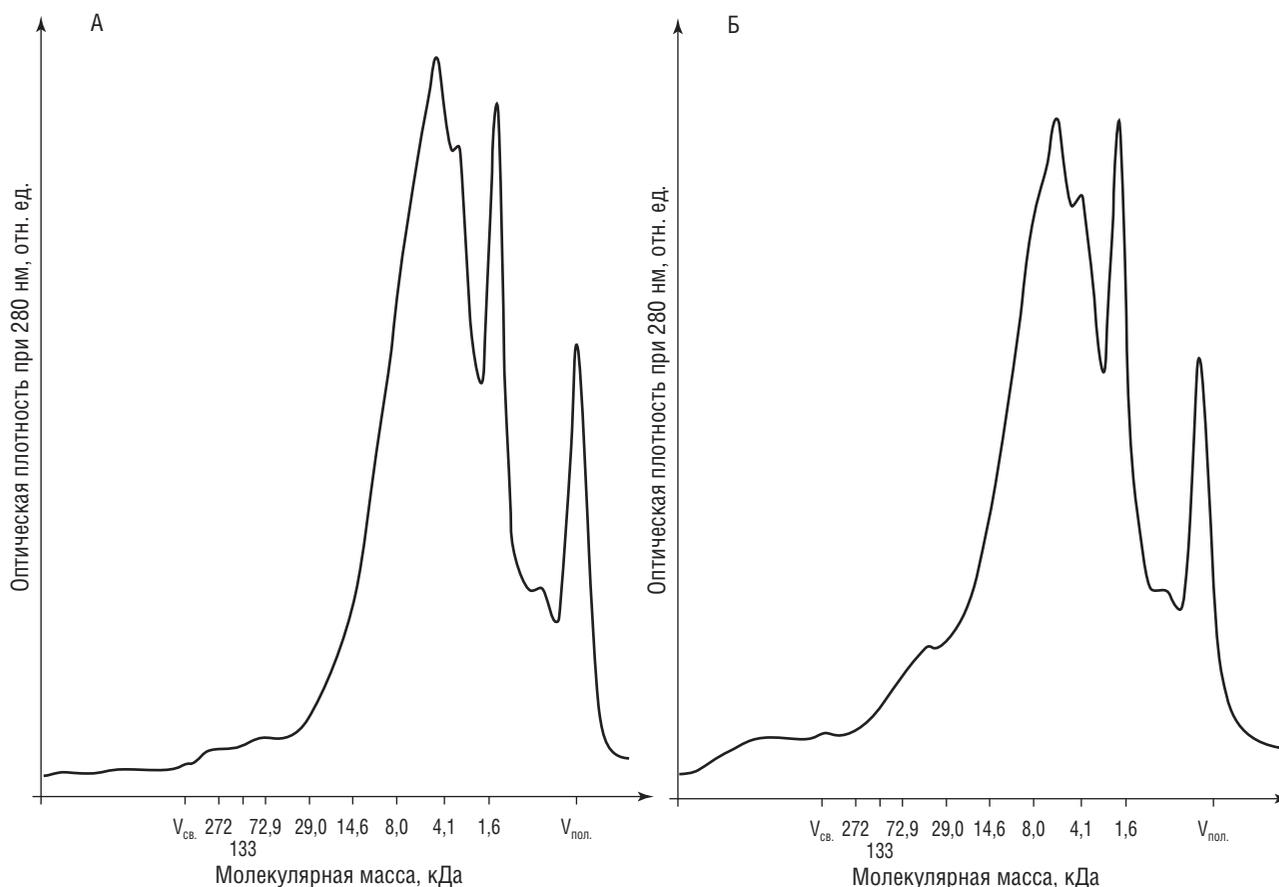


Рис. 1. Эксклюзионные хроматограммы исходного ферментативного гидролизата изолята соевого белка (А) и комплекса ванадий – ферментативный гидролизат изолята соевого белка (Б)

надия всасывание, по-видимому, может увеличиваться весьма значительно. При этом, как отмечается в работах [6–8], органические соединения ванадия более безопасны по сравнению с неорганическими солями этого микроэлемента.

Соответственно, перспективной представляется разработка метода получения органического источника ванадия, обладающего высокой биодоступностью, относительно простым способом получения, с высоким содержанием микроэлемента и удовлетворительными органолептическими и физико-химическими свойствами. Влияние потребления органической формы этого микроэлемента на углеводный и липидный обмен может быть протестировано в доклиническом исследовании *in vivo*.

В ряде наших предыдущих исследований [9–13] были разработаны методы получения и исследованы биодоступность, острая токсичность и иммуномодулирующие свойства комплексов некоторых эссенциальных микроэлементов (относящихся к элементам с незаполненной *d*-электронной оболочкой) с ферментативными гидролизатами пищевых белков (белки коровьего молока, куриного яйца, сои, мяса мидий).

Целью данной работы стало получение и физико-химическая характеристика комплекса ванадия (IV) с ферментативным гидролизатом изолята соевого белка (ФГИБС), полученного по одностадийной схеме в полупромышленных масштабах.

Материал и методы

Для получения органической формы ванадия использованы ФГИБС «Supro XT 220D IP» (Solae, США), полученный и охарактеризованный нами ранее в работе [14], и соль четырехвалентного ванадия $VOSO_4 \cdot xH_2O$ (SIGMA-ALDRICH, США) с содержанием ванадия 22,8%.

Реакцию комплексообразования проводили по методике, описанной в наших предыдущих работах [12, 15]. К 10% водному раствору ФГИБС добавляли при перемешивании 25% раствор соли ванадия в соотношении по сухим веществам ФГИБС/ $VOSO_4 \cdot xH_2O$, равном 10:1. Реакцию вели в течение 1 ч при комнатной температуре и перемешивании с поддержанием pH реакционной смеси 7,0–7,1 1,0 М NaOH.

По окончании реакции комплекс ванадия с ФГИБС (V–ФГИБС) осветляли центрифугированием и лиофильно высушивали (установка для лиофильной сушки ЛС-500, ГК «ПРОИНТЕХ», Россия).

Содержание ванадия определяли в сухом продукте методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой. Пробоподготовку проводили с использованием микроволнового разложения: 0,05 г образца помещали в тefлоновый контейнер и добавляли 1 мл концентрированной азотной кислоты. Разложение проводили в микроволновой печи Berghof speedwave four (Berghof,

Австрия) в течение 20 мин при температуре 170–180 °С. После разложения образец разводили деионизированной водой чистой 18 мОм до конечного объема 15 см³. Анализ образца проводили, используя прибор NexION 300D (PerkinElmer Inc., США), оснащенный газонаполняемой ячейкой системы DRC для удаления интерференций и семипортовым дозирующим клапаном FAST, а также автодозатором ESI SC DX4 (Elemental Scientific Inc., США).

Хроматограммы ФГИБС и комплекса V–ФГИБС, представленные на рис. 1, получены методом эксклюзионной жидкостной хроматографии высокого давления (колонка «Супероза 12», 1,6×50 см) согласно [16].

В качестве элюента использовали 0,2 М NaCl с добавлением азидата натрия при скорости элюирования 2,0 см³/мин. Оптическую плотность элюируемого раствора регистрировали при длине волны 280 нм, используя проточный ультрафиолетовый детектор UV-1 (Pharmacia, Швеция). Колонку предварительно калибровали по стандартным водорастворимым глобулярным белкам (SERVA, Германия). Стандартные графики зависимости времен удержания от молекулярных масс стандартов строили по методу кубической регрессии (подбор коэффициентов полинома третьей степени с помощью метода наименьших квадратов) с использованием пакета программ Microsoft Excel 2007. Содержание пептидных фракций (в различных диапазонах молекулярных масс) в составе комплекса оценивали интегрированием хроматограммы весовым методом в диапазоне от свободного до полного объема хроматографической колонки.

Результаты и обсуждение

Полученный комплекс V–ФГИБС хорошо растворим в воде, содержание ванадия в его составе составило 15,8 мг/г комплекса.

Анализ молекулярно-массового распределения пептидных фракций исходного ФГИБС и комплекса V–ФГИБС, представленный данными таблицы на основе интегрирования соответствующих хроматограмм (см. рис. 1), свидетельствует о незначительном изменении пептидного профиля комплекса V–ФГИБС по сравнению с ФГИБС.

Количественное определение ванадия в составе комплекса показало, что более 93% от общего содержания микроэлемента связано с пептидными фракциями с молекулярными массами более 4,1 кДа (рис. 2), а наиболее высокое удельное содержание этого микроэлемента (приблизительно 22 мг/г белка) обнаружено в интервале фракций с молекулярными массами 14,6–4,1 кДа.

Комплекс V–ФГИБС представляет существенный научно-практический интерес в плане дальнейшего тестирования в качестве нового пищевого источника органической формы ванадия. Это связано с тем, что при использовании его неорганических соединений вследствие накопления ванадия в различных органах наблюдаются такие побочные явления, как желудочно-кишечные расстройства, снижение массы тела, плотности костной ткани, а также существует вероятность токсического воздействия на печень и почки, канцеро-

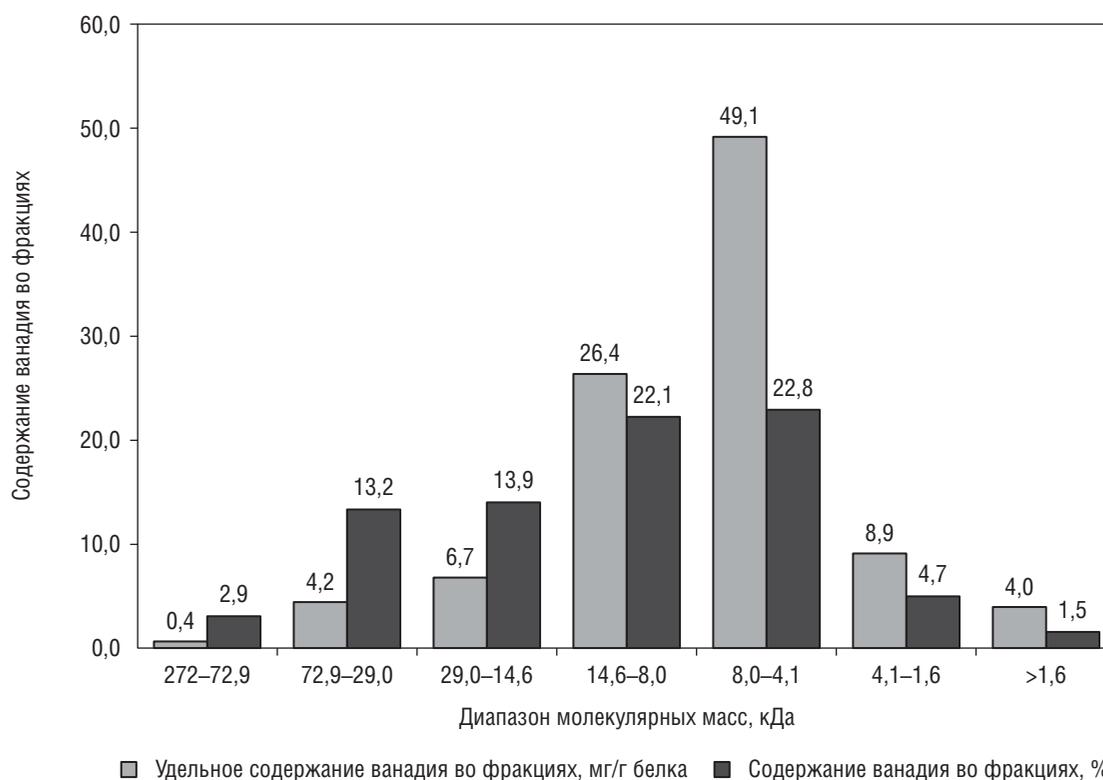


Рис. 2. Содержание ванадия в хроматографических фракциях комплекса ванадий – ферментативный гидролизат изолята соевого белка

генного действия, вызывающего рак легких у мышей [6, 7, 17, 18]. Как уже отмечалось выше, неорганические соли ванадия характеризуются низкой биодоступностью вследствие слабой абсорбции в желудочно-кишечном тракте [5]. Например, при пероральном введении ванадила тартрата аммония здоровым добровольцам в интервале доз 50–125 мг в день всасывание микроэлемента составило около 3% от вводимой дозы [4]. Для органических, в том числе хелатных форм ванадия, всасывание, по-видимому, может увеличиваться весьма значительно. При этом органические соединения ванадия более безопасны по сравнению с неорганическими солями этого микроэлемента.

Экспериментальная оценка *in vivo* биодоступности и влияния на углеводный и липидный обмен у лабораторных животных (крыс линии Вистар с моделируемым пищевым ожирением) полученного нами нового источника органической формы комплекса V–ФГИБС будет являться предметом нашего дальнейшего исследования.

Финансирование. Работа проведена за счет средств субсидии на выполнение Программы научных иссле-

Молекулярно-массовое распределение пептидных фракций в исходном ферментативном гидролизате изолята соевого белка и комплексе ванадий – ферментативный гидролизат изолята соевого белка

№ фракции	Диапазон молекулярных масс, кДа	Содержание фракции (по оптической плотности при 280 нм), %	
		ФГИБС	V–ФГИБС
1	272–72,9	1,2	1,4
2	72,9–29,0	1,7	3,6
3	29,0–14,6	4,4	5,4
4	14,6–8,0	13,9	13,4
5	8,0–4,1	27,3	24,3
6	4,1–1,6	21,9	21,2
7	<1,6	29,6	30,7

дований президиума РАН «Разработка формулы оптимального питания: обоснование состава нутриома и микробиома человека» на 2018–2020 гг. (тема № 0529-2018-0111).

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Сведения об авторах

Зорин Сергей Николаевич (Zorin Sergey N.) – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории пищевых биотехнологий и специализированных продуктов ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии» (Москва, Россия)

E-mail: zorin@ion.ru

<https://orcid.org/0000-0003-2689-6098>

Сидорова Юлия Сергеевна (Sidorova Yulia S.) – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории пищевых биотехнологий и специализированных продуктов ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии» (Москва, Россия)

E-mail: sidorovaulia28@mail.ru

<https://orcid.org/0000-0002-2168-2659>

Лобанова Юлия Николаевна (Lobanova Yulia N.) – кандидат биологических наук, старший преподаватель кафедры «Медицинская элементология» медицинского факультета Медицинского института ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» (Москва, Россия)

E-mail: lobanova_ju@mail.ru

<https://orcid.org/0000-0002-0934-4315>

Мазо Владимир Кимович (Mazo Vladimir K.) – доктор биологических наук, профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории пищевых биотехнологий и специализированных продуктов ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии» (Москва, Россия)

E-mail: mazo@ion.ru

<https://orcid.org/0000-0002-3237-7967>

Литература

- Sitprija V., Ong S.E. Vanadium and metabolic problems // Vanadium in the Environment. Part 2: Health Effects / ed. J.O. Nriagu. New York: John Wiley and Sons, 1998. P. 91.
- Shechter Y., Goldwaser I., Mironchik M., Fridkin M., Gefel D. Historic perspective and recent developments on the insulin-like actions of vanadium; toward developing vanadium-based drugs for diabetes // Coord. Chem. Rev. 2003. Vol. 237. P. 3–11.
- Rehder D. The potentiality of vanadium in medicinal applications // Future Med. Chem. 2012. Vol. 4, N 14. P. 1823–1837.
- Федорова Е.В., Бурякина А.В., Воробьева Н.М., Баранова Н.И. Ванадийсодержащие соединения: химия, синтез, инсулиномиметические свойства // Биомед. химия. 2014. Т. 60, вып. 4. С. 416–429.
- Thomspson K., Orvig K. Design of vanadium compounds as insulin enhancing agents // J. Chem. Soc. Dalton Trans. 2000. Vol. 17. P. 2885–2892.
- Srivastava A.K. Anti-diabetic and toxic effects of vanadium compounds // Mol. Cell. Biochem. 2000. Vol. 206. P. 177–182.
- Domingo J.L. Vanadium and tungsten derivatives as antidiabetic agents: a review of their toxic effect // Biol. Trace Elem. Res. 2002. Vol. 88. P. 97–112.
- Wasan K.M., Risovic V., Yuen V.G., McNeill J.H. Differences in plasma homocysteine levels between Zucker fatty and Zucker diabetic fatty rats following 3 weeks oral administration of organic vanadium compounds // J. Trace Elem. Med. Biol. 2006. Vol. 19. P. 251–258.

9. Зорин С.Н., Баяржаргал М., Гмошинский И.В., Мазо В.К. Комплексная оценка органических форм эссенциальных микроэлементов цинка, меди, марганца и хрома в опытах *in vitro* и *in vivo* // *Вопр. питания*. 2007. Т. 76, № 5. С. 74–79.
10. Баяржаргал М., Зилова И.С., Зорин С.Н., Гмошинский И.В., Бучанова А.В., Шевякова Л.В. и др. Сравнительная оценка биодоступности органической и неорганической форм цинка *in vivo* // *Вопр. питания*. 2008. Т. 77, № 1. С. 34–37.
11. Зорин С.Н. Ферментативные гидролизаты пищевых белков и органические комплексы эссенциальных микроэлементов на их основе // *Вопр. питания*. 2009. Т. 78, № 6. С. 60–66.
12. Мазо В.К., Гмошинский И.В., Ширина Л.И. Новые пищевые источники эссенциальных микроэлементов-антиоксидантов. М.: Миклош, 2009. 208 с.
13. Зорин С.Н., Бучанова А.В., Матяш А.И., Пенева В.В., Гмошинский И.В., Мазо В.К. Влияние комплекса органического цинка с ферментативным гидролизатом мяса мидий на всасываемость в желудочно-кишечном тракте потенциально аллергенных пищевых белков // *Вопр. питания*. 2010. Т. 79, № 2. С. 73–77.
14. Зорин С.Н., Воробьева И.С., Воробьева В.М., Нетунаева Е.А., Сидорова Ю.С., Кочеткова А.А. и др. Получение ферментативного гидролизата изолята соевого белка // *Пищ. пром-сть*. 2017. № 8. С. 13–15.
15. Мазо В.К., Зорин С.Н., Гмошинский И.В., Зилова И.С., Шатров Г.Н. Новые пищевые источники эссенциальных микроэлементов. Сообщение 1. Комплекс цинка с ферментативным гидролизатом сывороточных белков коровьего молока // *Вопр. дет. диетологии*. 2003. Т. 1, № 6. С. 6–8.
16. Зорин С.Н., Баяржаргал М. Получение ферментативных гидролизатов пищевых белков с использованием некоторых коммерческих ферментных препаратов и различных схем проведения гидролиза // *Биомед. химия*. 2009. Т. 55, № 1. С. 73–80.
17. Zhao Y., Ye L., Liu H., Xia Q., Zhang Y., Yang X. Vanadium compounds induced mitochondria permeability transition pore [PTP] opening related to oxidative stress // *J. Inorg. Biochem.* 2010. Vol. 104. P. 371–378.
18. Assem F.L., Levy L.S. A review of current toxicological concerns on vanadium pentoxide and other vanadium compounds: gaps in knowledge and directions for future research // *J. Toxicol. Environ. Health B Crit. Rev.* 2009. Vol. 12. P. 289–306.

References

1. Sitprija V., Ong S.E. Vanadium and metabolic problems. In: Nriagu J.O. (ed.). *Vanadium in the Environment. Part 2: Health Effects*. New York: John Wiley and Sons, 1998: 91.
2. Shechter Y., Goldwasser I., Mironchik M., Fridkin M., Gefel D. Historic perspective and recent developments on the insulin-like actions of vanadium; toward developing vanadium-based drugs for diabetes. *Coord Chem. Rev.* 2003; 237: 3–11.
3. Rehder D. The potentiality of vanadium in medicinal applications. *Future Med Chem.* 2012; 4 (14): 1823–37.
4. Fedorova E.V., Buryakina A.V., Vorobyova N.M., Baranova N.I. Vanadium-containing compounds: chemistry, synthesis, insulinomimetic properties. *Biomeditsinskaya khimiya [Biomedical Chemistry]*. 2014; 60 (4): 416–29. (in Russian)
5. Thompspon K., Orvig K. Design of vanadium compounds as insulin enhancing agents. *J Chem Soc Dalton Trans.*, 2000; 17 (17): 2885–92.
6. Srivastava A.K. Anti-diabetic and toxic effects of vanadium compounds. *Mol Cell Biochem.* 2000; 206: 177–82.
7. Domingo J.L. Vanadium and tungsten derivatives as antidiabetic agents: a review of their toxic effects. *Biol Trace Elem Res.* 2002; 88: 97–112.
8. Wasan K.M., Risovic V., Yuen V.G., McNeill J.H. Differences in plasma homocysteine levels between Zucker fatty and Zucker diabetic fatty rats following 3 weeks oral administration of organic vanadium compounds. *J Trace Elem Med Biol.* 2006; 19: 251–8.
9. Zorin S.N., Bayarzhargal M., Gmshinskiy I.V., Mazo V.K. Complex evaluation *in vitro* and *in vivo* of essential microelements – zinc, copper, manganese and chrome – organic forms. *Voprosy pitaniia [Problems of Nutrition]*. 2007; 76 (5): 74–9. (in Russian)
10. Bayarzhargal M., Zilova I.S., Zorin S.N., Gmshinskiy I.V., Buchanova A.V., Tscheyakova L.V., et al. Comparative *in vivo* evaluation of bioavailability of organic and inorganic zinc forms. *Voprosy pitaniia [Problems of Nutrition]*. 2008; 77 (1): 34–7. (in Russian)
11. Zorin S.N. Enzymatic hydrolysates of food proteins and organic complexes of essential microelements based on them. *Voprosy pitaniia [Problems of Nutrition]*. 2009; 78 (6): 60–6. (in Russian)
12. Mazo V.K., Gmshinskiy I.V., Shirina L.I. New food sources of essential antioxidant microelements. Moscow: Miklosh, 2009: 208 p. (in Russian)
13. Zorin S.N., Buchanova A.V., Matyash A.I., Peneva V.V., Gmshinskiy I.V., Mazo V.K. Effect of the complex of organic zinc with enzymatic hydrolyzate of mussel meat on the absorption in the gastrointestinal tract of potentially allergenic food proteins. *Voprosy pitaniia [Problems of Nutrition]*. 2010; 79 (2): 73–7. (in Russian)
14. Zorin S.N., Vorobyova I.S., Vorobyova V.M., Netunaeva E.A., Sidorova Yu.S., Kochetkova A.A., et al. Preparation of enzymatic hydrolysate of soy protein isolate. *Pishchevaya promyshlennost' [Food Industry]*. 2017; (8): 13–5. (in Russian)
15. Mazo V.K., Zorin S.N., Gmshinskiy I.V., Zilova I.S., Shatrov G.N. New food sources of essential microelements. Message 1. Complex of zinc with enzymatic hydrolyzate of whey proteins of cow's milk. *Voprosy detskoy dietologii [Problems of Pediatric Nutrition]*. 2003; 1 (6): 6–8. (in Russian)
16. Zorin S.N., Bayarzhargal M. Preparation of enzymatic hydrolysates of food proteins using some commercial enzyme preparations and various schemes of hydrolysis. *Biomeditsinskaya khimiya [Biomedical Chemistry]*. 2009; 55 (1): 73–80. (in Russian)
17. Zhao Y., Ye L., Liu H., Xia Q., Zhang Y., Yang X. Vanadium compounds induced mitochondria permeability transition pore [PTP] opening related to oxidative stress. *J Inorg Biochem.* 2010; 104: 371–8.
18. Assem F.L., Levy L.S. A review of current toxicological concerns on vanadium pentoxide and other vanadium compounds: gaps in knowledge and directions for future research. *J Toxicol Environ. Health B Crit Rev.* 2009; 12: 289–306.

Для корреспонденции

Ионова Инна Исааковна – кандидат технических наук, доцент кафедры «Технологии и биотехнологии продуктов питания животного происхождения» ФГБОУ ВО «Московский государственный университет пищевых производств»
 Адрес: 125080, Россия, г. Москва, Волоколамское ш., д. 11
 Телефон: (499) 811-00-03, доб. 4390
 E-mail: inna-ionova@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0002-3118-3554>

Титов Е.И., Тихомирова Н.А., Ионова И.И.

Выделение и изучение железосвязывающей способности лактоферрина коровьего молока

Investigation of the iron-binding capacity of the bovine lactoferrin

Titov E.I., Tikhomirova N.A., Ionova I.I.

ФГБОУ ВО «Московский государственный университет пищевых производств», Москва, Россия
 Moscow State University of Food Production, Moscow, Russia

Проведены исследования по получению и определению железосвязывающей способности лактоферрина (ЛФ), выделенного из сборного молока голштино-фризской (черно-пестрой) породы коров, которая составляет основное поголовье российского стада крупного рогатого скота.

***Целями** исследования были получение ЛФ и определение его железосвязывающей способности для обоснования сырьевых ресурсов его промышленного производства как легкоусвояемого источника двухвалентного железа для производства биологически активных добавок к пище и/или специализированных пищевых продуктов.*

***Материал и методы.** Для оптимизации получения ЛФ в производственных условиях молочных предприятий использовали методику выделения ЛФ из коровьего молока в собственной модификации, которая состояла в обезжиривании цельного молока центрифугированием и двойной катионообменной хроматографией с последовательным применением следующих сорбентов: карбоксиметилцеллюлозы-52 и Macro-Prep High Q Support.*

***Результаты и обсуждение.** Разработанная модификация метода хроматографического получения ЛФ показала ее эффективность и доступность для производственных условий отечественных молочных предприятий. Степень чистоты ЛФ составляет около 95%, а содержание около 74 мкг/см³. Определена железосвязывающая способность апо- и холоформы выделенного ЛФ. Показана возможность насыщения аполактоферрина железом.*

***Заключение.** Полученный новый фактический материал дает основу для дальнейших исследований возможности использования насыщенной железом формы хололактоферрина коровьего молока голштино-фризской породы в качестве отечественного сырья при производстве биологически активных добавок к пище и специализированных пищевых продуктов.*

***Ключевые слова:** лактоферрин коровьего молока, апо- и холоформы лактоферрина, железосвязывающая способность, хроматографическая очистка лактоферрина*

Для цитирования: Титов Е.И., Тихомирова Н.А., Ионова И.И. Выделение и изучение железосвязывающей способности лактоферрина коровьего молока // *Вопр. питания.* 2019. Т. 88, № 1. С. 91–96. doi: 10.24411/0042-8833-2019-10011.

Статья поступила в редакцию 05.07.2018. **Принята в печать** 27.12.2018.

For citation: Titov E.I., Tikhomirova N.A., Ionova I.I. Investigation of the iron-binding capacity of the bovine lactoferrin. *Voprosy pitaniia [Problems of Nutrition]*. 2019; 88 (1): 91–6. doi: 10.24411/0042-8833-2019-10011. (in Russian)

Received 05.07.2018. **Accepted for publication** 27.12.2018.

In this work, studies were carried out to obtain and determine the iron-binding ability of lactoferrin isolated from milk of Holstein-Friesian (black-and-white) breed of cows, which is the main stock of the Russian cattle herd (CH).

Aim of the study was to obtain lactoferrin and determine its iron-binding capacity for substantiating the raw material resources of its industrial production as an easily digestible source of ferrous iron for the production of dietary supplements and/or specialized foods.

Material and methods. To optimize the production of lactoferrin in the conditions of dairy enterprises, we used a method of lactoferrin isolation from cow's milk in its own modification, which consisted in the degreasing of whole milk by centrifugation and double cation-exchange chromatography with successive application of the following sorbents: CM-cellulose (CM-52) and Macro-Prep High Q Support.

Results and discussion. The developed modification of the method of chromatographic production of lactoferrin has shown its effectiveness and availability for production at domestic dairy enterprises. The purity of lactoferrin is about 95%, and the content is about 74 µg/cm³. Iron-binding capacity was determined in apo- and holoforms of lactoferrin. The ability of saturation of apolactoferrin with iron has been shown.

Conclusion. The new obtained factual material allows us to express the prerequisites for further research to justify the possibility of using the iron-saturated form of hololactoferrin of cow milk of the Holstein-Friesian breed as a domestic raw material for dietary supplements and specialized foods.

Keywords: bovine lactoferrin, apo-and holoforms of lactoferrin, iron-binding capacity, chromatographic purification of lactoferrin

Лактоферрин (ЛФ) принадлежит к семейству белков-трансферринов, состоит из одной полипептидной цепи длиной в 703 аминокислотных остатка и является эволюционно самым молодым представителем семейства катионоактивных железосвязывающих гликопротеинов [1]. Молекула ЛФ организована в 2 домена, каждый из них имеет сайт связывания железа и относительно устойчив к действию протеаз [2]. ЛФ образует с железом комплекс красного цвета, что отражено в его названии – red protein (красный белок). Впервые ЛФ был обнаружен в 1939 г. в коровьем молоке, молекулярная масса – около 80 кДа. В 1984 г. была расшифрована первичная структура ЛФ молока человека, молекулярная масса – около 83 кДа, а в 1991 г. – ЛФ коровьего молока. Позднее ЛФ был обнаружен в большинстве биологических жидкостей: в слюне, слезной жидкости, выделениях из носа, бронхов, кишечника, панкреатическом и желудочном соке [3, 4]. Содержание ЛФ в сыворотке крови здоровых взрослых людей в зависимости от этнических и географических особенностей исследуемых популяций, по данным зарубежных исследователей, колеблется от 0,13 до 1,62 мкг/см³ [5]. Идентичность аминокислотного состава ЛФ коровьего и женского молока составляет около 70%. Его содержание существенно выше в женском молоке, чем в молоке сельскохозяйственных животных, что объясняется его важной биологической функцией [6, 7]. Функциональные свойства ЛФ рассматривают на основе его молекулярной структуры, которая представлена двумя формами: апо- и хололактоферрин – ненасыщенной и насыщенной соответственно. ЛФ способен связывать железо и осуществлять его транспорт через слизистую кишечника. В первые месяцы лактации в женском молоке превалирует насыщенная холоформа, которая способствует транспорту железа, а апоформа в сочетании с бифидофлорой осуществляет

бактериостатическое действие, в частности на *E. coli*. [8, 9]. Основным механизмом антивирусной активности ЛФ считают его связывание с гликозаминогликанами мембран клеток, что препятствует адсорбции вируса мембранами клеток [10–12].

Практическая ценность промышленного получения ЛФ связана с необходимостью его использования в детском питании при создании смесей для искусственного или смешанного вскармливания, необходимостью производства специализированных пищевых продуктов и лекарственных препаратов. Так, только для производства адаптированных и частично адаптированных молочных смесей для детского питания его потребность в Российской Федерации составляет более 50 т/год.

Известны коммерческие препараты биотехнологического рекомбинантного ЛФ человека, средняя стоимость которых составляет около 6000 долларов США за 1 кг. Цена коровьего ЛФ на мировом рынке в зависимости от уровня очистки и качества белка варьирует от 50 до 500 долларов США за 1 кг.

Промышленное производство коровьего ЛФ из сыворотки, получаемой при производстве сыра, осуществляется рядом зарубежных компаний. Большинство зарубежных исследований *in vitro*, а также клинических испытаний были проведены с использованием коммерческого ЛФ, который признан Управлением по контролю за продуктами и лекарствами США безопасным веществом и доступен в больших количествах [13]. В современных условиях импортозамещения имеется острая потребность производства препаратов ЛФ из отечественного сырья. В связи с этим разработка доступного и эффективного способа получения ЛФ из коровьего молока голштино-фризской породы, которая составляет основное поголовье российского стада крупного

рогатого скота (КРС), и определение его железосвязывающей способности представляет научную новизну и практическую ценность.

Цели настоящего исследования – получение ЛФ из сборного коровьего молока голштино-фризской породы, исследование его железосвязывающей способности и обоснование сырьевых ресурсов промышленного производства из него легкоусвояемого источника двухвалентного железа.

Материал и методы

ЛФ получали из сборного коровьего молока голштино-фризской породы, которое проверяли на соответствие требованиям показателей качества и безопасности ТР ТС 033/2013. Выделение проводили методом двойной катионообменной хроматографии в собственной модификации, заключающейся в подборе сорбентов и параметров хроматографической очистки. Контролем служил коммерческий препарат бычьего ЛФ (Sigma, США). Чистоту препарата ЛФ подтверждали методом электрофореза в полиакриламидном геле (ПААГ) в денатурирующих условиях (SDS). В качестве маркеров использовали набор стандартных белков для электрофореза молекулярной массы 10–250 кДа (Bio-Rad, США). Для определения содержания ЛФ использовали твердофазный конкурентный гетерогенный иммуноферментный анализ (ИФА, Elisa). Общий белок определяли методом Лоури. Железосвязывающую способность ЛФ определяли УФ-спектроскопическим методом [14]. Образцы ЛФ насыщали раствором 0,005M FeCl₃ и 0,05M NaHCO₃ при pH 8,5 и выдерживали при 4 °C в течение 5 ч. Избыток несвязавшегося железа удаляли диализом против буфера, содержащего 0,01 M трис-HCl, pH 7,5 в течение 2 ч. Определяли поглощение образцов при длине волны 465 нм против контрольного раствора, содержащего трис-HCl, pH 7,5. Активность лактопероксидазы определяли методом, основанным на ее свойстве катализировать окисление перекисью водорода фенолов, ароматических аминов [15]. В качестве субстрата использовали диаммониевую соль 2,2'-азинобис-(3-этилбензтиазолин-6-сульфоукислоты) (ABTS).

Результаты и обсуждение

Из свежесвыдоенного сборного коровьего молока голштино-фризской породы КРС на лабораторном се-

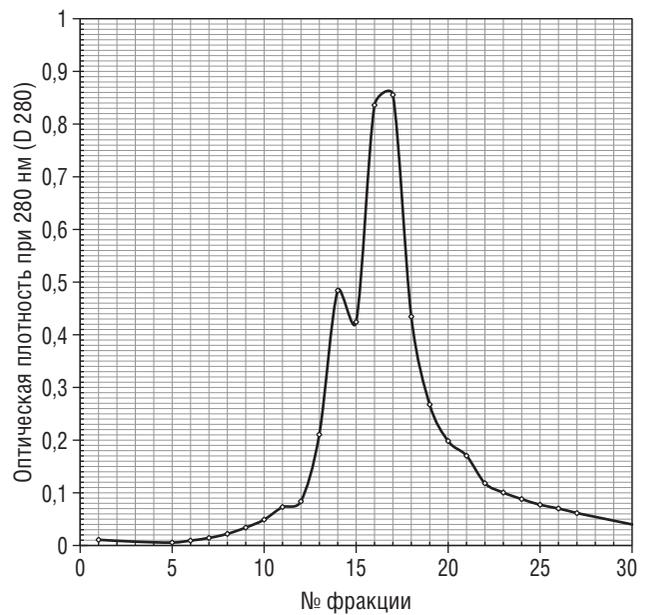


Рис. 1. Профиль элюции катионных белков коровьего молока голштино-фризской породы с карбоксиметилцеллюлозой-52

параторе-сливкоотделителе получали обезжиренную фракцию, которую направляли на хроматографическую очистку. Модификация хроматографического метода состояла в том, что использовали 2 стадии очистки с соответствующими сорбентами: карбоксиметилцеллюлоза-52 (КМЦ-52) (CM-cellulose 52, Serva, Германия) и Macro-Prep High Q Support (Bio-Rad Laboratories, США). Вначале проводили катионообменную хроматографию на КМЦ. Профиль элюции катионных белков с КМЦ-52 представлен на рис. 1, он характеризуется типичным пиком. Катионную фракцию белков с экстинкцией $D_{280} \geq 0,1$ собирали, объединяли и проводили при температуре 4 °C диализ против 0,01 M K₂HPO₄ (pH 6,7) в течение 12 ч. После диализа катионную фракцию полученных белков очищали на сорбенте Macro-Prep High Q Support. Для отделения белков от сорбента проводили элюирование буфером K₂HPO₄×3H₂O при pH 6,7 с линейным градиентом NaCl (от 0,35 до 1 M). В элюате измеряли экстинкцию при длине волны 280 нм и фракции с экстинкцией более 0,1 объединяли. Объединенную фракцию направляли на диализ против дистиллированной воды при температуре 4 °C в течение 24 ч. Профиль элюции КМ-фракции с Macro-Prep High Q Support представлен на рис. 2. Профиль элюции хроматографичес-

Коэффициенты экстинкции различных форм лактоферрина ($E_{1\%}^{1\text{ см}}$)

Лактоферрин	Степень насыщенности лактоферрина железом		
	апоформа (E_{280})	холоформа (E_{280})	холоформа
Бычий лактоферрин	12,7	15,1	15,10 ($E_{\lambda=280}$ нм) 0,46 ($E_{\lambda=470}$ нм) 0,58 ($E_{\lambda=465}$ нм)
Человеческий лактоферрин	11,2	14,6	0,51 ($E_{\lambda=470}$ нм)

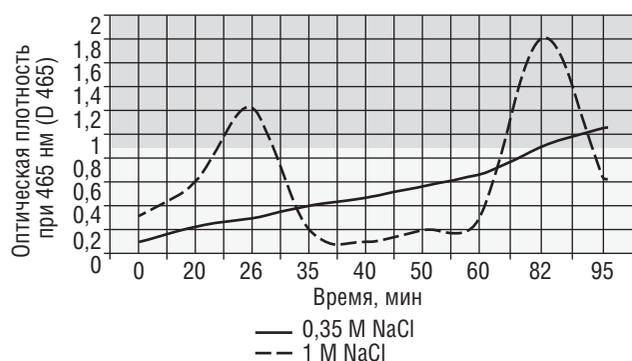


Рис. 2. Профиль элюции лактоферрина коровьего молока голштино-фризской породы с носителя Macro-Prep High Q Support

кой очистки на второй стадии характеризуется двумя пиками: один из них соответствует лактопероксидазе, а другой – ЛФ. Степень чистоты ЛФ составила ~95%. Содержание ЛФ – 74 мкг/см³, содержание лактопероксидазы составило, соответственно, 10 мкг/см³.

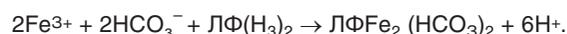
Чистота выделенного из обезжиренного молока ЛФ была подтверждена методом SDS-электрофореза в ПААГ (рис. 3). На электрофореграмме (дорожка 2) видна четкая линия, соответствующая белку с молекулярной массой 80 кДа. Полученная электрофореграмма подтверждает, что в результате двойной ионообменной хроматографии на КМЦ и Macro-Prep High Q Support из обезжиренного коровьего молока голштино-фризской породы был получен чистый препарат ЛФ. Выделенный ЛФ расфасовывали в пенициллиновые флакончики по 2 см³, лиофильно высушивали.

После качественного анализа был проведен количественный анализ содержания ЛФ, выделенного из обезжиренного коровьего молока. Для этого использовали твердофазный гетерогенный иммунный анализ (ИФА, Elisa). Для ИФА лактоферрина коровьего молока определяли титр антисыворотки непрямым методом. На стенках лунок планшетов сорбировали ЛФ и определяли связывание с ним иммунной сыворотки в последовательных разведениях. Раствор антигена (лактоферрина) инкубировали на пластиковой подложке при температуре 37 °С в течение 2 ч. Свободный антиген удаляли путем отмывания 5–6 раз смесью растворов буфера NaH₂PO₄×2H₂O с хлоридом натрия (pH 7,4) и Tween 20 (PBST) в объеме 220 мм³ в лунку. Затем подложку обрабатывали избытком постороннего белка (человеческий сывороточный альбумин, ЧСА) для предотвращения последующего неспецифического связывания белков. Исследуемые образцы по 50 мм³ переносили в лунки, добавляли столько же свежеприготовленного раствора конъюгата, который разбавляли (1:80). Планшеты инкубировали в термошейкере (TSP-60) в течение 1 ч при 37 °С. Несвязанные белки отмывали 5-кратным добавлением по 220 мм³ раствора PBST в лунку. Заливали в лунки свежеприготовленный раствор субстрата [0,04M ABTS, 0,01M цитрат натрия (pH 4,0) и 3% раствор

H₂O₂] по 200 мм³ в лунку и оставляли при комнатной температуре для развития окраски. Измеряли экстинкцию на планшетном фотометре (MR-600) для иммуноферментного анализа. Содержание ЛФ в образцах определяли по калибровочной кривой, для построения которой в качестве стандарта использовали коммерческий препарат бычьего ЛФ с концентрацией 1 мг/см³. Полученный раствор белка раститровывали по лункам планшетов (по 50 мм³ в лунку), инкубировали в течение 1 ч при 37 °С, отмывали 6 раз свежим раствором PBST, добавляли раствор субстрата [0,04 M ABTS, 0,1M цитрат натрия (pH 4,0), 3% раствор перекиси водорода] по 200 мм³ в лунку. Определяли экстинкцию при длине волны 410 нм на планшетном фотометре MR-600 и строили калибровочную кривую «Зависимость экстинкции (A) от десятичного логарифма концентрации (lg C) бычьего лактоферрина».

Как следует из данных литературы, до 15% ЛФ в коровьем молоке содержится в холоформе, а остальной – в апоформе. Если перевести и оставшийся аполактоферрин в холоформу, то его можно рассматривать в качестве источника железа в легкоусвояемой форме в отличие от солей железа, используемых при производстве биологически активных добавок к пище и специализированных пищевых продуктов [16–20].

Каждая молекула ЛФ прочно связывает 2 иона Fe³⁺. Комплекс с ионами Fe³⁺ образуется в присутствии бикарбонатных ионов:



Присоединение ионов железа к ЛФ меняет его изоэлектрическую точку с 9,2 на 8,5 за счет одновременного присоединения отрицательно заряженных бикарбонатных ионов. Конформационные изменения при связывании с ионами железа обеспечивают образование более компактной структуры ЛФ. Для аполактоферрина (свободного от ионов железа) характерна открытая конформация N-доли и закрытая конформация C-доли. Он устойчив к нагреванию (90–100 °С в течение 5 мин) при pH 4,0. Известно, что хололактоферрин, который является железонасыщенным, проявляет большую устойчивость к действию пищеварительных протеаз, чем аполактоферрин. Для хололактоферрина характерна закрытая конформация обеих долей.

Перевод апоформы ЛФ в холоформу осуществляли диализом против раствора бикарбоната натрия, содержащего Fe³⁺. Пик спектра поглощения хололактоферрина – при 465 нм [21]. Эти спектральные свойства могут быть использованы для оценки степени насыщенности железом ЛФ. Коэффициенты экстинкции коммерческих препаратов ЛФ представлены в таблице.

Железосвязывающую способность ЛФ коровьего молока определяли следующим образом. Образцы ЛФ помещали в раствор 0,005 M FeCl₃ и 0,05 M NaHCO₃ при pH 8,5 и выдерживали при 4 °С в течение 5 ч. Избыток несвязавшегося железа удаляли диализом против буфера, содержащего 0,01 M трис-HCl, pH 7,5 в течение

2 ч. Определяли экстинкцию образцов при 465 нм против контрольного раствора, содержащего трис-HCl, pH 7,5. Для получения аполактоферрина, свободного от ионов железа, использовали диализ против 0,1 М лимонной кислоты (pH 2,0) или диализ против раствора ЭДТА при нейтральном pH. Для приготовления хололактоферрина, который является железонасыщенным, осуществляли диализ ЛФ против раствора бикарбоната натрия, содержащего добавленное железо. Определение холоформы в выделенном ЛФ оценивали с помощью УФ-спектроскопии исходя из коэффициента экстинкции 15,1 для чистого 1% раствора коммерческого ЛФ при 280 нм (см. таблицу). Результаты исследований по определению железосвязывающей активности ЛФ показали, что его насыщение железом составляло около 30%, как было обнаружено с помощью оптической спектроскопии при 465 нм исходя из коэффициента экстинкции 0,58 (1% раствор при 100% насыщения железом). Таким образом, 70% выделенного ЛФ находилось в апоформе.

В современных условиях импортозамещения имеется острая потребность производства ЛФ из отечественного сырья на предприятиях, работающих на едином товарном рынке стран – участниц Таможенного союза. Проведенные исследования позволяют рекомендовать отечественным предприятиям молочной промышленности использовать для выделения ЛФ из сборного коровьего молока предложенную методику, которая обеспечивает выход чистого ЛФ около 95%, с концентрацией около 74 мкг/см³. Полученный новый фактический материал дает предпосылки для дальнейших исследований с целью обоснования возможности использования насыщенной железом формы хололактоферрина коровьего молока голштино-фризской породы в качестве отечественного сырья для производства биологически активных добавок к пище и специализированных пищевых продуктов.

Сведения об авторах

ФГБОУ ВО «Московский государственный университет пищевых производств» (Москва, Россия):

Титов Евгений Иванович (Titov Evgeniy I.) – академик РАН, доктор технических наук, профессор, заведующий кафедрой «Технологии и биотехнологии продуктов питания животного происхождения»

E-mail: titovpb@bk.ru

<https://orcid.org/0000-0003-1821-7761>

Тихомирова Наталья Александровна (Tikhomirova Natalia A.) – доктор технических наук, профессор, профессор кафедры «Технологии и биотехнологии продуктов питания животного происхождения»

E-mail: tihomirovana@mail.ru

<https://orcid.org/0000-0001-7844-8428>

Ионова Инна Исааковна (Ionova Inna I.) – кандидат технических наук, доцент, доцент кафедры «Технологии и биотехнологии продуктов питания животного происхождения»

E-mail: inna-ionova@yandex.ru

<https://orcid.org/0000-0002-3118-3554>

Литература

- Adlerova L., Bartoskova A. Lactoferrin: a review // *Veterinari Medicina*. 2008. Vol. 53, N 9. P. 457–468.
- Legrand D., Pierce A., Elass E., Carpentier M., Mariller C., Mazurier J. Lactoferrin structure and functions // *Adv. Exp. Med. Biol.* 2008. Vol. 606. P. 163–194.
- Gonzales-Chavez S.A., Arevalo-Gallegos S., Rascon-Cruz Q. Lactoferrin: structure, function and application // *Int. J. Antimicrob. Agents*. 2009. Vol. 33, N 4. P. 301.e1–301.e8.
- Bing Fang, Ming Zhang, Mai Tiana, Lu Jiang, Hui Yuan Guo, Fa Zheng Ren Bovine lactoferrin binds oleic acid to form an anti-

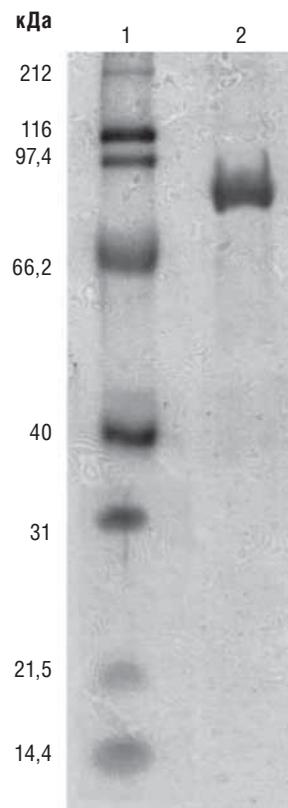


Рис. 3. Электрофорез полученного лактоферрина в полиакриламидном геле в присутствии додецилсульфата натрия

1 – стандарты молекулярных масс (Bio-Rad, США); 2 – лактоферрин, выделенный из обезжиренного коровьего молока голштино-фризской породы.

Финансирование. Исследования выполнены при финансировании Минобрнауки России (грант № 15.7579.2017/8.9).

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов.

- tumor complex similar to HAMLET // *Biochim. Biophys. Acta*. 2014. Vol. 1841. P. 535–543.
5. Weinberg E.D. Human lactoferrin: a novel therapeutic with broad spectrum potential // *J. Pharm. Pharmacol.* 2001. Vol. 53, N 10. P. 1303–1310.
 6. Шидловская В.П. Ферменты молока. СПб. : ГИОРД. 2006. 296 с.
 7. Pierce A., Legrand D., Mazurier J. Lactoferrin: a multifunctional protein // *Med. Sci. (Paris)*. 2009. Vol. 25, N 4. P. 361–369.
 8. Huma Bokkhim, Nidhi Bansal, Lisbeth Grondahl, Bhesh Bhandari Physico-chemical properties of different forms of bovine lactoferrin // *Food Chem.* 2013. Vol. 141, N 3. P. 3007–3013.
 9. Chapple D.S., Mason D.J., Joannou C.L., Odell E.W., Gant V., Evans R.W. Structure-function relationship of antibacterial synthetic peptides homologous to a helical surface region on human lactoferrin against *Escherichia coli* serotype O111 // *Infect. Immun.* 1998. Vol. 66, N 6. P. 2434–2440.
 10. Ekins A., Khan A.G., Shouldice S.R. Lactoferrin receptors in Gram-negative bacteria: Insights into the iron acquisition process // *Biometals*. 2004. Vol. 17, N 3. P. 235–243.
 11. Scarino M.L. A sideways glance: take it or leave it? The role of lactoferrin in iron sequestration and delivery within the body // *Genes Nutr.* 2007. Vol. 2, N 2. P. 161–162.
 12. Chow L.M., Subbaraman L.N., Sheardown H. Kinetics of in vitro lactoferrin deposition on silicone hydrogel and FDA group II and group IV hydrogel contact lens materials // *Biomater. Sci. Polym. Ed.* 2009. Vol. 20, N 1. P. 71–82.
 13. Wakabayashi H., Yamauchi K., Abe F. Quality control of commercial bovine lactoferrin // *Biometals*. 2018. Vol. 31, N 3. P. 313–319.
 14. Shimazaki K.-I. Lactoferrin: a marvelous protein in milk? // *Anim. Sci. J.* 2000. Vol. 71, N 4. P. 329–347.
 15. Blé M., Cazes J., Guingamp M.F., Gaillard J.L. Improvement of a method for the measurement of lactoperoxidase activity in milk // *Int. Dairy J.* 2001. Vol. 11, N 10. P. 795–799.
 16. Artym J. The role of lactoferrin in the iron metabolism. Part I. Effect of lactoferrin on intake, transport and iron storage // *Postepy Hig. Med. Dosw.* 2008. Vol. 62. P. 599–612.
 17. Chapple D.S., Hussain R., Joannou C.L., Hancock R.E.W., Odell E., Evans R.W. et al. Structure and association of human lactoferrin peptides with *Escherichia coli* lipopolysaccharide // *Antimicrob. Agents Chemother.* 2004. Vol. 48, N 6. P. 2190–2198.
 18. Тутельян В.А., Спиричев В.Б., Суханов Б.П., Кудашева В.А. Микронутриенты в питании здорового и больного человека. М. : Колос, 2002. 423 с.
 19. Хотимченко С.А., Алексеева И.А. Подходы к оценке алиментарной нагрузки чужеродными веществами // *Гиг. и сан.* 2001. № 5. С. 25.
 20. Хотимченко С.А., Алексеева И.А., Батурич А.К. Распространенность и профилактика дефицита железа у детей и беременных женщин: влияние пищевого фактора // *Рос. педиатр. журн.* 1999. № 1. С. 21–29.
 21. Бейкер Е.Н., Бейкер Х.М., Кун Н., Кидд Р.Д. Лактоферрин: свойства и применение // *Мол. пром-сть*. 2006. № 2. С. 38–39.

References

1. Adlerova L., Bartoskova A. Lactoferrin: a review. *Veterinari Medicina*. 2008; 53 (9): 457–68.
2. Legrand D., Pierce A., Ellass E., Carpentier M., Mariller C., Mazurier J. Lactoferrin structure and functions. *Adv Exp Med Biol*. 2008; 606: 163–94.
3. Gonzales-Chavez S.A., Arevalo-Gallegos S., Rascon-Cruz Q. Lactoferrin: structure, function and application. *Int J Antimicrob Agents*. 2009; 33 (4): 301.e1–8.
4. Bing Fang, Ming Zhang, Mai Tiana, Lu Jiang, Hui Yuan Guo, Fa Zheng Ren Bovine lactoferrin binds oleic acid to form an anti-tumor complex similar to HAMLET. *Biochim Biophys Acta*. 2014; 1841: 535–43.
5. Weinberg E.D. Human lactoferrin: a novel therapeutic with broad spectrum potential. *J Pharm Pharmacol*. 2001; 53 (10): 1303–10.
6. Shidlovskaya V.P. Ferments of milk. Saint Petersburg: GIORД, 2006: 296 p. (in Russian)
7. Pierce A., Legrand D., Mazurier J. Lactoferrin: a multifunctional protein. *Med Sci (Paris)*. 2009; 25 (4): 361–9.
8. Huma Bokkhim, Nidhi Bansal, Lisbeth Grondahl, Bhesh Bhandari Physico-chemical properties of different forms of bovine lactoferrin. *Food Chem.* 2013; 141 (3): 3007–13.
9. Chapple D.S., Mason D.J., Joannou C.L., Odell E.W., Gant V., Evans R.W. Structure-function relationship of antibacterial synthetic peptides homologous to a helical surface region on human lactoferrin against *Escherichia coli* serotype O111. *Infect Immun.* 1998; 66 (6): 2434–40.
10. Ekins A., Khan A.G., Shouldice S.R. Lactoferrin receptors in Gram-negative bacteria: Insights into the iron acquisition process. *Biometals*. 2004; 17 (3): 235–43.
11. Scarino M.L. A sideways glance: take it or leave it? The role of lactoferrin in iron sequestration and delivery within the body. *Genes Nutr.* 2007; 2 (2): 161–2.
12. Chow L.M., Subbaraman L.N., Sheardown H. Kinetics of in vitro lactoferrin deposition on silicone hydrogel and FDA group II and group IV hydrogel contact lens materials. *Biomater Sci Polym Ed*. 2009; 20 (1): 71–82.
13. Wakabayashi H., Yamauchi K., Abe F. Quality control of commercial bovine lactoferrin. *Biometals*. 2018; 31 (3): 313–9.
14. Shimazaki K.-I. Lactoferrin: a marvelous protein in milk? *Anim Sci J.* 2000; 71 (4): 329–47.
15. Blé M., Cazes J., Guingamp M.F., Gaillard J.L. Improvement of a method for the measurement of lactoperoxidase activity in milk. *Int Dairy J.* 2001; 11 (10): 795–9.
16. Artym J. The role of lactoferrin in the iron metabolism. Part I. Effect of lactoferrin on intake, transport and iron storage. *Postepy Hig Med Dosw.* 2008; 62: 599–612.
17. Chapple D.S., Hussain R., Joannou C.L., Hancock R.E.W., Odell E., Evans R.W., et al. Structure and association of human lactoferrin peptides with *Escherichia coli* lipopolysaccharide. *Antimicrob Agents Chemother.* 2004; 48 (6): 2190–8.
18. Tutelyan V.A., Spirichev V.B., Sukhanov B.P., Kudasheva V.A. Micronutrients in the diet of a healthy and sick person. Moscow: Kolos, 2002: 423 p. (in Russian)
19. Khotimchenko S.A., Alekseeva I.A. Approaches to the evaluation of alimentary load by foreign substances. *Gigiena i sanitariya [Hygiene and Sanitation]*. 2001; (5): 25. (in Russian)
20. Khotimchenko S.A., Alekseeva I.A., Baturin A.K. Prevalence and prevention of iron deficiency in children and pregnant women: the impact of food factor. *Rossiyskiy pediatricheskiy zhurnal [Russian Journal of Pediatrics]*. 1999; (1): 21–9. (in Russian)
21. Baker E.N., Baker H.M., Kuhn N., Kidd R.D. Lactoferrin: properties and applications. *Molochnaya promyshlennost' [Dairy Industry]*. 2006; (2): 38–9. (in Russian)