

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

№ 3, 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»

Тутельян Виктор Александрович, главный редактор, академик РАН, доктор медицинских наук, профессор, заведующий лабораторией энзимологии питания, научный руководитель ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии» (Москва, Россия)

Никитюк Дмитрий Борисович, заместитель главного редактора, член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук, профессор, заведующий лабораторией спортивной антропологии и нутрициологии, директор ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии» (Москва, Россия)

Вржесинская Оксана Александровна, ответственный секретарь редакции, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории витаминов и минеральных веществ ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии» (Москва, Россия)

Пузырева Галина Анатольевна, ответственный секретарь редакции, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории спортивной антропологии и нутрициологии ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии» (Москва, Россия)

Арчаков Александр Иванович (Москва, Россия)
академик РАН, доктор медицинских наук, профессор, научный руководитель ФГБУ «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

Батулин 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 ФБУН «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

Салагай Олег Олегович (Москва, Россия)
кандидат медицинских наук, заместитель министра здравоохранения РФ

Стародубова Антонина Владимировна (Москва, Россия)
доктор медицинских наук, профессор, заведующая отделением персонализированной терапии и диетологии, заместитель директора по научной и лечебной работе ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии»

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» № 3, 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 АО «Первая Образцовая
типография». Филиал «Чеховский
Печатный Двор». 142300, Московская
область, г. Чехов, ул. Полиграфистов,
д. 1.
Заказ №

© ООО Издательская группа
«ГЭОТАР-Медиа», 2019

Viktor A. Tutelyan, 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 (Moscow, Russia)

Dmitriy B. Nikityuk, 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 (Moscow, Russia)

Oksana A. Vrzhesinskaya, 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, 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 (Moscow, Russia)

**Scientific and practical journal
«Problems of Nutrition» N 3, 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

Vrzhesinskaya 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
“Chekhov Printing House”
JSC “First Model Printing House”
142300, Moscow Region, Chekhov,
Poligrafistov St., 1
Order N

© GEOTAR-Media Publishing Group,
2019

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

Oleg O. Salagay (Moscow, Russia)
PhD, Candidate of Medical Sciences, Deputy Minister of Health Care of the Russian Federation

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

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

Мартинчик А.Н.

Индексы качества питания как инструмент интегральной оценки рациона питания

Зольникова О.Ю., Ивашкин К.В., Буеверова Е.Л., Ивашкин В.Т.

Микробиота кишечника, нутриенты и пробиотики с позиции взаимодействия оси «кишка–легкие»

Зорин С.Н.

Ферментативные гидролизаты пищевых белков для специализированных пищевых продуктов диетического (лечебного и профилактического) питания

Тутельян А.В., Юшина Ю.К., Соколова О.В., Батаева Д.С., Фесюн А.Д., Датий А.В.

Образование биологических пленок микроорганизмов на пищевых производствах

ФИЗИОЛОГИЯ И БИОХИМИЯ ПИТАНИЯ

Ригер Н.А., Шипелин В.А., Апрятин С.А., Гмошинский И.В.

Иммунологические маркеры алиментарно-индуцированной гиперлипидемии у крыс линии Вистар

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

Влияние полифенолов листьев черники на степень тревожности, пространственное обучение и память у мышей линии db/db

Кравченко Л.В., Авреньева Л.И., Гусева Г.В., Аксенов И.В.

Влияние полифенолов на активность гликозил-гидролаз в слепой кишке крыс, получавших индуцирующие ожирение рационы

ГИГИЕНА ПИТАНИЯ

Лир Д.Н., Перевалов А.Я.

Анализ фактического домашнего питания проживающих в городе детей дошкольного и школьного возраста

МИКРОНУТРИЕНТЫ В ПИТАНИИ

Ревякина В.А., Короткова Т.Н., Кувшинова Е.Д., Ларькова И.А., Александрова Н.М.

Обеспеченность магнием и витамином В₂ детей с бронхиальной астмой и ожирением

ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ

Алексашина С.А., Макарова Н.В., Деменина Л.Г.

Антиоксидантный потенциал плодов шиповника

Новокшанова А.Л., Топникова Е.В., Абабкова А.А.

Анализ аминокислотного состава обезжиренного молока и пахты для производства кисломолочного напитка при внесении гидролизата сывороточных белков

REVIEW

5 Martinchik A.N.

Indices of diet quality as a tool for integrated assessment of dietary intake

13 Zolnikova O.Yu., Ivaschkin K.V., Bueverova E.L., Ivaschkin V.T.

Intestinal microbiota, nutrients and probiotics viewed from the «gut–lung» axis

23 Zorin S.N.

Enzymatic hydrolysates of food proteins for specialized foods for therapeutic and prophylactic nutrition

32 Tutelyan A.V., Yushina Yu.K., Sokolova O.V., Bataeva D.S., Fesyun A.D., Datiy A.V.

Formation of biological films by microorganisms in food productions

PHYSIOLOGY AND BIOCHEMISTRY OF NUTRITION

44 Riger N.A., Shipelin V.A., Apryatin S.A., Gmshinski I.V.

Immunological markers of alimentary-induced hyperlipidemia in Wistar rats

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

The impact of bilberry leaves' polyphenols on the anxiety level, spatial learning and memory of db/db mice

63 Kravchenko L.V., Avren'eva L.I., Guseva G.V., Aksenov I.V.

Effects of polyphenols on activity of glycosyl hydrolases in the cecum of rats fed obesity inducing diets

HYGIENE OF NUTRITION

69 Lir D.N., Perevalov A.Ya.

Analysis of actual home nutrition of urban children of pre-school and school age

MICRONUTRIENTS IN NUTRITION

78 Revyakina V.A., Korotkova T.N., Kuvshinova E.D., Larkova I.A., Alexandrova N.M.

Magnesium and vitamin B₂ status of children with bronchial asthma and obesity

CHEMICAL COMPOSITION OF FOODSTUFFS

84 Aleksashina S.A., Makarova N.V., Demenina L.G.

Antioxidant potential of wild rose

90 Novokshanova A.L., Topnikova E.V., Ababkova A.A.

Analysis of amino acid composition of skim milk and buttermilk for the production of dairy drink when introducing whey protein hydrolysate

Для корреспонденции

Мартинчик Арсений Николаевич – доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории эпидемиологии питания и генодиагностики алиментарно-зависимых заболеваний ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии»
Адрес: 109240, Россия, г. Москва, Устьинский проезд, д. 2/14
Телефон: (495) 698-53-87
E-mail: arsmartin@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0001-5200-7907>

Мартинчик А.Н.

Индексы качества питания как инструмент интегральной оценки рациона питания

Indices of diet quality as a tool for integrated assessment of dietary intake

Martinchik A.N.

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

В обзоре представлен анализ состава и свойств индексов качества питания (ИКП), разработанных в разных странах и известных под разными названиями: индексы качества (рациона) питания (ИКП, DQI, Diet quality index), индексы здорового питания (ИЗП, HEI, Healthy eating index) и др. Представлен анализ данных по 3 направлениям исследований достоверности и объективности ИЗП: корреляция с составляющими его компонентами (внутренняя валидация), ассоциация с оценками рисков заболеваемости и смертности населения и ассоциация с биомаркерами обеспеченности пищевыми веществами, пищевого статуса и риска хронических неинфекционных заболеваний (ХНИЗ), которые убедительно свидетельствуют о возможности применения ИЗП как инструмента эпидемиологических исследований взаимосвязи питания, пищевого статуса и состояния здоровья. Анализ состава различного типа ИКП-ИЗП позволил сформулировать общие требования и принципы их разработки (конструирования). ИКП основываются на рекомендациях по здоровому питанию населения и оценивают степень приверженности населения к соблюдению рекомендаций. Конструкции ИКП должны быть применимы для всех категорий населения независимо от пола, возраста (старше 2 лет), национальных и региональных особенностей питания населения, что обеспечивает возможность сравнительной оценки качества питания различных категорий населения. ИКП фокусируются на оценке четырех основных аспектов здорового питания: разнообразие пищи, адекватность потребления основных групп или некоторых подгрупп наиболее ценных пищевых продуктов, умеренность и сбалансированность рациона питания. Все ИКП состоят из 2 групп индикаторов-компонентов: индикаторов адекватности потребления пищевых продуктов и индикаторов потребления критически значимых пищевых факторов, потребление которых необходимо ограничивать, т.е. индикаторов, представленных факторами риска ХНИЗ. При использовании стандартных величин адекватности потребления обеих групп индикаторов следует использовать оценку «плотности» потребления продуктов и пищевых веществ на 1000 калорий или в процентах общей

Для цитирования: Мартинчик А.Н. Индексы качества питания как инструмент интегральной оценки рациона питания // *Вопр. питания*. 2019. Т. 88, № 3. С. 5–12. doi: 10.24411/0042-8833-2019-10024.

Статья поступила в редакцию 27.02.2019. **Принята в печать** 20.05.2019.

For citation: Martinchik A.N. Indices of diet quality as a tool for integrated assessment of dietary intake. *Voprosy pitaniia [Problems of Nutrition]*. 2019; 88 (3): 5–12. doi: 10.24411/0042-8833-2019-10024. (in Russian)

Received 27.02.2019. **Accepted** 20.05.2019.

калорийности рациона. На этих принципах планируется разработка и оценка достоверности и объективности ИКП-ИЗП по данным изучения фактического питания населения РФ.

Ключевые слова: индексы качества питания, балльная оценка компонентов, оценка достоверности, взаимосвязь с риском заболеваемости

The review presents an analysis of the construction and properties of indices of diet quality (IDQ), developed in different countries and known under different names: Diet quality index (DQI), Healthy eating index (HEI) and other names. The analysis of the data on three directions of research on validation of IDQ – correlation with its components (internal validation), association with risk assessments of morbidity and mortality, and association with biomarkers of nutritional status and risk of noncommunicable chronic diseases (NCD), which strongly indicate the possibility of IDQ as a tool for epidemiological studies of the relationship of nutrition, nutritional status and health has been submitted. Analysis of the composition of various types of IDQ allowed to formulate general principles of their development (construction). IDQ are based on recommendations for healthy nutrition of the population and assess the degree of commitment of the population to adhere to the recommendations. The design of the IDQ should be applicable to all categories of the population, regardless of gender, age (older than 2 years), national and regional characteristics of nutrition of the population, which allows a comparative assessment of the diet quality of different categories of the population. IDQ focus on the assessment of four main aspects of a healthy diet: food diversity, adequacy of consumption of adequacy of consumption of major groups or some subgroups of the most valuable foods, moderation and balance of the diet. All IDQ consist of two groups of indicators-components: indicators of adequacy of food consumption and indicators of consumption of critically important food factors, the consumption of which should be limited, i.e. indicators of risk factors of NCD. The standard values of adequacy of consumption of both groups of indicators should be expressed in the «density» of consumption of foods and nutrients per 1000 calories or as a percentage of the total calorie intake. Based on these principles, it is planned to develop and evaluate the reliability and objectivity of IDQ according to the study of the dietary intake of Russian population.

Keywords: indices of diet quality, score of components, assessment of validity, relationship with the risk of morbidity and mortality

Традиционное представление результатов исследования фактического питания в форме среднесуточных величин потребления энергии, пищевых веществ и продуктов затрудняет общую оценку рациона питания, состоящую из более чем 10 показателей только по перечню нутриентов, а при анализе структуры продуктового набора число параметров может достигать сотни. Потребление пищевых продуктов характеризуется гораздо большей гетерогенностью, чем потребление пищевых веществ.

Большой спектр пищевых факторов играет роль в развитии алиментарно-зависимых хронических неинфекционных заболеваний (ХНИЗ) современного человека, комбинации факторов имеют различную ассоциативную связь и воздействие на развитие ХНИЗ [1, 2].

Для интегральной оценки рациона питания были предложены инструменты, называемые индексами качества питания (ИКП). Общая цель разработки индексов состоит в объединении большого числа параметров, характеризующих фактическое питание, в единый интегральный информативный показатель [3], который способен оценить качество рациона питания по потреблению нутриентов и пищевых продуктов, позволяет проводить мониторинг результативности и эффектив-

ности рекомендаций по питанию для населения, а также исследовать взаимосвязь характера питания с заболеваемостью и смертностью. В сущности ИКП призваны оценить степень приверженности населения (группы или популяции) к определенной модели пищевого поведения или принятым рекомендациям по здоровому питанию.

ИКП представляют собой меру здорового питания и известны под различными названиями: индексы качества (рациона) питания (ИКП; Diet Quality Index, DQI), индексы здорового питания (ИЗП; Healthy Eating Index, HEI) и др. Следует подчеркнуть, что все ИКП, включая понятие «качество», направлены на оценку не только положительных и поощряемых характеристик питания, но также призваны давать интегральную оценку неблагоприятных алиментарных факторов риска ХНИЗ [4, 5]. Известно более 25 различных ИКП [6]. Во многих исследованиях в США, Китае, Австралии и в других странах используется термин «индекс здорового питания» как конкретная разновидность ИКП.

Рассмотрим особенности конструкций описанных в разных странах ИКП. Под конструкцией ИКП или ИЗП следует понимать перечень индикаторов (компонентов) интегрального индекса и их количественные параме-

тры в метрических величинах потребления пищевых веществ или пищевых продуктов, а также способы их трансформации в систему балльных оценок.

Впервые конструкция ИЗП HEI-1995 была опубликована в США в 1995 г. [7] и состояла из 10 компонентов-индикаторов. Распределение величин потребления каждого компонента оценивали от 0 до 10 баллов. Группа из 5 компонентов представлена индикаторами адекватности (рациональности) потребления и оценивает в баллах рацион питания с точки зрения удовлетворения рекомендаций по потреблению наиболее важных групп пищевых продуктов: зерновые, овощи, фрукты, молоко и группа мясных продуктов. Балльная система оценки потребления продуктов основана на количестве потребляемых порций указанных групп продуктов. Это обусловлено тем, что рекомендации для населения по здоровому питанию в США выражены в числе порций в день для различных групп пищевых продуктов и с учетом среднесуточных энерготрат. Другая группа из 4 компонентов ИЗП – индикаторы ограничения (умеренности) потребления, которые включают потребление в % калорийности рациона общего жира, насыщенных жирных кислот (НЖК), а также абсолютные величины потребления холестерина и натрия (Na), так называемых критически значимых факторов риска ХНИЗ. 10-й компонент характеризует разнообразие пищи (количество групп пищевых продуктов в составе среднесуточного рациона питания, всего 16 групп). После расчета оценки в баллах каждого из 10 индикаторов-компонентов путем суммирования каждой оценки рассчитывают интегральный ИЗП (от 0 до 100 баллов).

Следует подчеркнуть, что при увеличении потребления компонентов 1–5 их балльная оценка возрастает, в то время как при увеличении потребления компонентов ограничения балльная оценка уменьшается. Этот принцип балльной оценки применяется во всех дальнейших модификациях ИЗП (см. таблицу).

К 2015 г. были предложены несколько версий ИЗП, которые отражали эволюцию рекомендаций по питанию для населения, основанных на свободном выборе пищи, или разрабатывались под задачи исследования ассоциаций ИЗП и развития ХНИЗ [8–12]. Модификация HEI-2005 состояла в разделении некоторых позиций продуктового потребления на отдельные подгруппы продуктов. HEI-2005 оценивает потребление групп продуктов питания в количестве порций в расчете на 4184 кДж (1000 ккал). Он включает 9 компонентов адекватности: сумма фруктов (5 баллов), отдельно сырые фрукты (5 баллов), овощи (5 баллов), темно-зеленые и оранжевые овощи и бобовые (5 баллов), общее количество зерновых (5 баллов), отдельно цельнозерновые (5 баллов), молоко (10 баллов), мясо и бобовые (10 баллов), растительные масла (10 баллов) и 3 компонента ограничения потребления, включая НЖК, Na (по 10 баллов) и % энергии из НЖК, алкогольных напитков и добавленных сахаров (в сумме 20 баллов). Диапазон оценки 0–100 баллов.

Существует модификация ИЗП-2005, в которой используются оценка потребности в энергии и уровень

физической активности [13]. Конструкция этого индекса (диапазон 0–20 баллов) основана на учете потребности индивидуума в энергии, рассчитанной с учетом величины основного обмена и уровня физической активности субъекта. Эта модификация ИЗП-2005 не получила дальнейшего развития в силу малой количественной дифференциации между компонентами-индикаторами.

Версии HEI-2010 и HEI-2015 [14–16] напоминают основную версию 2005 г. [8], но включают отдельно рафинированные зерновые продукты, общее количество богатой белком пищи, отдельно темно-зеленые овощи и бобовые, оценивается потребление отдельных видов жирных кислот – полиненасыщенных (ПНЖК), мононенасыщенных (МНЖК) и НЖК, а также их соотношение. Оценивается в баллах процент потребления энергии в виде «пустых калорий», т.е. в виде НЖК и добавленного сахара. В качестве индикаторов ограничения выступают также рафинированные зерновые продукты, НЖК и добавленный сахар. Для детального ознакомления с HEI-2015 [16, 17] его конструкция представлена в таблице. После расчета оценки в баллах каждого из 13 индикаторов-компонентов путем суммирования рассчитывается интегральный ИЗП (от 0 до 100 баллов).

Эта версия ИЗП разработана с целью мониторинга приверженности населения США к принятым на 2015–2020 гг. рекомендациям по питанию населения. По компонентному составу и критериям балльной оценки индикаторов индекса можно судить о сути и положениях рекомендаций по питанию для американцев на 2015–2020 гг.

Наблюдается интерес к разработке ИЗП в Австралии [18–20], Малайзии [21], Китае [22], Новой Зеландии [23] и в других странах [24–26]. Конструкция ИЗП совершенствуется и детализируется в разных странах в соответствии с национальными рекомендациями по здоровому питанию. Заслуживает внимания одна из конструкций ИКП, разработанных в Австралии [18]. Чтобы подчеркнуть важность умеренного потребления жира и сбалансированности рациона питания, было использовано снижение балльной оценки до нуля при потреблении большего, чем рекомендуемое число, порций молочных, мясных или переработанных мясных продуктов. Тем самым оценивается приверженность к сбалансированности рациона и снижению потребления животных жиров с указанными группами продуктов. Кроме того, для поощрения здорового разнообразного питания присуждаются баллы за выбор разнообразных овощей и фруктов, продуктов из цельного зерна, рыбы и морепродуктов.

Предложен ряд индексов под названием индекса качества рациона питания (Diet quality index, DQI) [27, 28]. Эти индексы также основаны на рекомендациях по питанию для американцев и состоят из 8 компонентов, включая общий жир, НЖК, белок, холестерин, Na, кальций (Ca), фрукты и овощи, зерновые и бобовые. В индекс включены, кроме продуктов, индикаторы-нутриенты – белок и кальций.

Компоненты и балльная оценка¹ индекса здорового питания – 2015 (США, HEI-2015) [16, 17]

Компонент-индикатор	Максимальный балл	Критерий для максимального балла	Критерий для минимального нулевого балла
<i>Индикаторы адекватности продуктового потребления</i>			
Фрукты, общее количество ²	5	≥0,8 порций (чашек) на 1000 ккал	Отсутствие в рационе
Фрукты в натуральном виде ³	5	≥0,4 порций (чашек) на 1000 ккал	Отсутствие в рационе
Овощи, общее количество ⁴	5	≥1,1 порций (чашек) на 1000 ккал	Отсутствие в рационе
Зелень и бобовые ⁴	5	≥0,2 порций (чашек) на 1000 ккал	Отсутствие в рационе
Продукты из цельного зерна	10	≥1,5 унций на 1000 ккал	Отсутствие в рационе
Молочные продукты ⁵	10	≥1,3 порций (чашек) на 1000 ккал	Отсутствие в рационе
Белоксодержащие продукты ⁶	5	≥2,5 унций на 1000 ккал	Отсутствие в рационе
Морепродукты и растительные белки ^{6, 7}	5	≥0,8 унций на 1000 ккал	Отсутствие в рационе
Жирные кислоты ⁸	10	(ПНЖК + МНЖК)/НЖК ≥2,5	(ПНЖК + МНЖК)/НЖК ≤1,2
<i>Индикаторы ограничения потребления</i>			
Рафинированные зерновые продукты	10	≤1,8 унций на 1000 ккал	≥4,3 унций на 1000 ккал
Натрий	10	≤1,1 г на 1000 ккал	≥2,0 г на 1000 ккал
Сахара добавленные	10	≤6,5% энергии суточного рациона	≥26% энергии суточного рациона
НЖК	10	≤8% энергии суточного рациона	≥16% энергии суточного рациона

Примечание. ¹ – потребление между минимальными и максимальными величинами распределяется пропорционально; ² – включает 100% фруктовые соки; ³ – включает все виды фруктов, за исключением соков; ⁴ – включает все бобовые (бобы и горох); ⁵ – включает все молочные продукты – питьевое молоко, йогурты, сыры и обогащенные соевые напитки; ⁶ – включает в том числе все бобовые (бобы и горох); ⁷ – включает морепродукты, орехи, семена, соевые продукты (без напитков), бобы и горох; ⁸ – отношение суммы ПНЖК + МНЖК к НЖК. Расшифровка аббревиатур дана в тексте.

Развитием этого индекса стала разработка международного индекса качества рациона DQI-International (DQI-I) для сравнительного анализа характера питания населения США и Китая [29]. Национальные индикаторы индекса были выбраны на основе анализа фактического питания и рекомендаций по питанию для населения этих стран. DQI-I оценивает: разнообразие рациона – общее разнообразие групп продуктов, внутригрупповое разнообразие источников белка; адекватность потребления овощей, фруктов, зерновых продуктов, пищевых волокон, белка, железа, кальция, витамина С; ограничение потребления общего жира, НЖК, холестерина, Na; соотношение макроэлементов в % энергии – углеводов, белка, жира; соотношение жирных кислот – ПНЖК : МНЖК : НЖК. Хотя DQI-I заявлен как инструмент оценки качества питания в межнациональных сравнительных исследованиях, исследования по оценке качества средиземноморского рациона питания показали, что используемая в DQI-I система балльной оценки не может адекватно оценить средиземноморский тип питания взрослых [30] и детей 6–18 лет [31]. В частности, отсутствовала корреляция между индексом и балльной оценкой потребления белка, железа, кальция и источниками «пустых калорий» в средиземноморской диете.

Ряд индексов качества питания были сконструированы с целью детального анализа разнообразия пищи. Один из них [32] – индекс пищевого разнообразия (Diet Diversity Score, DDS) – оценивает общее число различных пищевых продуктов (без учета количества), потребляемых в течение суток. Все пищевые продукты разделены на 12 групп, включая крахмал, овощи, зеле-

ные листовые овощи, фрукты, рыбу, мясо (включая домашнюю птицу, яйца), бобовые (включая орехи и семена, кроме кокоса), молочные продукты, напитки (чай, кофе и газированные напитки), масла и жиры (включены кокосовые продукты), сладости и иные (например, алкоголь). Диапазон оценки 0–12 баллов. Другой вариант DDS [33] основан на оценке потребления 5 групп продуктов (зерновые, овощи, фрукты, мясо и молочные продукты) в соответствии с пирамидой здорового питания, которые разделены на 23 подгруппы, из них 7 подгрупп включают все виды зерновых продуктов; 2 подгруппы – разные виды фруктов (фрукты и фруктовые соки, ягоды и цитрусовые); 7 подгрупп выделены для овощей (овощи, картофель, помидоры, крахмалсодержащие овощи, бобовые, желтые овощи, зеленые овощи); 4 подгруппы включают мясные продукты (птица, красное мясо, рыба, яйца) и 3 подгруппы определены для молочных продуктов (молоко, йогурт, сыры). Потребителем продуктов является человек, если он потребляет по меньшей мере полпорции любой подгруппы продуктов. Диапазон общей балльной оценки 0–10 баллов.

Существуют описания ряда других, менее детальных ИКП, с меньшими диапазонами балльной оценки [34] или характеризующих питание отдельных групп населения [35], в частности пожилых лиц [36]. Предпринимались попытки модификации ИЗП для детей 9–13 лет с включением оценок потребления нездоровой пищи, не рекомендуемой для детей [37], но они не получили дальнейшего развития и применения.

Обобщая общие принципы конструирования ИКП различных модификаций, следует отметить присутствие во всех индексах двух видов индикаторов: индикато-

ров адекватности рациона питания, повышающих величину ИКП, и индикаторов, оценивающих факторы риска ХНИЗ, снижающих величину ИКП.

Необходимость совершенствования ИКП-ИЗП диктуется эволюцией и детализацией национальных и международных рекомендаций по здоровому питанию для населения, а также уточнением данных о взаимосвязи факторов питания и рисков заболеваемости и смертности от различных ХНИЗ. При обосновании конструкций ИКП-ИЗП существенное значение имеют методы исследования фактического потребления пищи. Как правило, используются данные, полученные методом 24-часового воспроизведения питания или методом анализа частоты потребления пищи. Как следует из конструкции ИЗП-2015, США, представленной в таблице, для оценки адекватности продуктового потребления используется формат количества потребляемых порций продуктов. Это обусловлено как методом исследования потребления пищи (анализ частоты потребления в порциях), так и существующими рекомендациями по потреблению пищи, выраженными в количестве порций групп пищевых продуктов.

Наиболее распространенный подход, используемый для оценки пригодности и обоснованности, или валидации, балльной системы индексов, заключается в анализе ассоциации между компонентами – индикаторами ИКП и его интегральной величиной, с одной стороны, и демографическими, социально-экономическими, медицинскими, поведенческими и другими характеристиками населения. Иллюстрацией таких ассоциаций могут быть более высокие показатели качества питания женщин по сравнению с мужчинами [5, 6], обратные ассоциации между качеством питания и курением [6, 14]. Выявлены положительные ассоциации между качеством рациона и возрастом [3, 5, 6] или физической активностью [38]. Величины ИКП положительно связаны с потреблением фруктов, овощей и бобовых [4, 5, 39] и обратно коррелируют с потреблением энергии в форме НЖК [40–42]. Однако не удалось выявить ассоциации между ИКП и артериальным давлением, уровнем дохода семьи, образованием [6, 14, 18, 43]. Возможно, в этих ситуациях могут требоваться другие конструкции индексов или взаимосвязи носят более сложный характер с множеством сопутствующих факторов, в том числе социально-экономических.

Представляют интерес исследования ассоциации ИКП и риска развития и распространения избыточной массы тела и ожирения. Метаанализ 34 исследований взаимосвязи различных типов ИКП и параметров, характеризующих избыточную массу тела и/или ожирение, выявил противоречивые данные [44]. В ряде исследований выявлены обратные ассоциации между ИКП и индексом массы тела (ИМТ) [12, 45, 46]. В других исследованиях не выявлено ассоциации между ИКП и величиной ИМТ или окружности талии [47, 48]. Результаты исследования взаимосвязи параметров качества питания и развития ожирения зависели от дизайна эпидемиологического исследования (кросс-секционные,

продольные), конструкции используемого ИКП, метода изучения фактического питания, гендерных различий и других факторов. К этому следует добавить, что используемые ИКП не учитывают уровни потребления и потребности в энергии, а также физическую активность респондентов, которые играют решающую роль в развитии ожирения и избыточной массы тела.

Сложной и ответственной стороной оценки достоверности и информативности ИКП является возможность предсказания на их основе риска заболеваемости и/или смертности от различных алиментарно-зависимых ХНИЗ. В исследовании в трех странах Европы было установлено [49], что довольно простой ИКП, разработанный согласно рекомендациям по питанию Всемирной организации здравоохранения [1], обратно коррелировал с показателем смертности от всех причин у мужчин 50–70 лет в ходе 20-летнего наблюдения. Индекс качества средиземноморской диеты был связан с повышенным выживанием в некоторых группах населения, но не во всех [50, 51]. Высокие показатели модифицированного (альтернативного) HEI были связаны со значительным снижением риска развития основных хронических заболеваний у мужчин и женщин при сравнении самого высокого и самого низкого квантилей HEI [12].

Систематический обзор и метаанализ 68 проспективных когортных исследований (более 1,6 млн участников) показал, что рационы высокого качества, оцениваемые по нескольким разновидностям ИЗП (HEI, альтернативный HEI), были связаны с более низким риском смертности от всех причин, от сердечно-сосудистых и онкологических заболеваний и сахарного диабета (СД) 2 типа [52, 53]. Также показана связь между питанием с высокими ИКП и значительным снижением риска смертности лиц с установленным диагнозом рака.

Неоднозначные данные были получены с использованием DQI при анализе риска смертности [54]. Не было выявлено достоверной ассоциации рационов низкого качества с увеличением смертности среди мужчин, но среди женщин выявлена значительная ассоциация со смертностью от всех причин и смертностью от сердечно-сосудистых заболеваний.

В 20-летнем наблюдении 41 000 мужчин с оценкой рационов питания по 4 видам ИКП показано, что рационы с высокими ИКП, характеризующиеся значительным потреблением растительных продуктов, включая цельнозерновые продукты, низким потреблением красного и переработанного мяса, Na, сладких напитков, алкоголя и трансжиров, были связаны с низким риском развития СД 2 типа [55]. При этом приверженность к питанию с высокими ИКП имела более выраженный эффект в снижении риска СД 2 типа у лиц с высоким ИМТ, т.е. при избыточной массе тела и ожирении.

В связи с неоднозначностью результатов исследования индексов в прогнозировании взаимосвязи качества питания и состояния здоровья, заболеваемости и смертности высказывается некоторый скепсис в оценке достоверности и значимости ИКП [56]. Воз-

можно, это отражает этап развития этой области исследований, где не всегда существует консенсус относительно целей разработки и предназначения индексов и не всегда проработана методология доказательности достоверности индексов, сконструированных для определенных целей. Однако, несмотря на отдельные противоречивые результаты исследования информативности ИКП в предсказании состояния здоровья, риска развития ХНИЗ, общей смертности и заболеваемости, в целом проведенные метаанализы свидетельствуют об информативности и объективности различных типов ИКП в прогнозировании состояния здоровья и заболеваемости ХНИЗ.

Важным шагом в оценке достоверности ИКП-ИЗП является изучение их взаимосвязи с объективными биомаркерами пищевого статуса и рисков ХНИЗ, что может служить способом оценки объективности и достоверности ИКП. По материалам исследования фактического питания и биомаркеров пищевого статуса в рамках национального обследования в США (NHANES) был проведен анализ ассоциации трех видов ИКП с биомаркерами пищевого статуса, ожирения, сердечно-сосудистых заболеваний и СД [57]. Все индексы положительно ассоциированы с концентрацией в сыворотке витаминов С, Е, фолата и всех каротиноидов, но отрицательно коррелировали с ИМТ, содержанием в сыворотке крови гомоцистеина, С-реактивного белка, концентрацией в плазме глюкозы и гликированного гемоглобина A_{1c} . В другом исследовании, по материалам NHANES III [58], были установлены достоверные положительные корреляции величины HEI с концентрацией в сыворотке фолата (также в эритроцитах), витаминов С и Е, каротиноидов (кроме ликопина). Концентрации этих микронутриентов в крови были выше на 21–175% в группе с наивысшим баллом ИЗП (>80) по сравнению с группой с низким ИЗП (≤ 50). Самые сильные связи ИЗП установлены с биомаркерами потребления фруктов и овощей. В исследовании у женщин [59] установлена достоверная ассоциация высоких показателей HEI с высокими концентрациями в плазме крови α - и β -каротина, β -криптоксантина, лютеина и витамина С. У женщин в раннем послеродовом периоде показано [60], что ИЗП (HEI-2005) обратно коррелирует с ИМТ, концентрацией липопротеинов низкой плотности и общего холестерина и положительно коррелирует с концентрацией холестерина липопротеинов высокой плотности. Тем самым показана информативность ИЗП в прогнозировании нарушений липидного обмена и состояния здоровья. У бразильских детей

9–13 лет установлена прямая корреляция между величиной ИЗП и концентрацией в плазме крови β -каротина и рибофлавина [61].

Представленные данные литературы по 3 направлениям исследований достоверности ИЗП: ассоциации с составляющими его компонентами (внутренняя валидация), с оценками рисков заболеваемости и смертности, а также с биомаркерами обеспеченности пищевыми веществами, пищевого статуса и риска ХНИЗ, – убедительно свидетельствуют о потенциале ИЗП как инструмента эпидемиологических исследований взаимосвязи питания, пищевого статуса и состояния здоровья.

Анализ состава различного типа ИКП-ИЗП позволяет сформулировать общие требования и принципы их разработки (конструирования). ИКП должны основываться на целях и рекомендациях по здоровому питанию населения и оценивать степень приверженности населения к соблюдению рекомендаций. Конструкции ИКП должны быть применимы для всех категорий населения, независимо от пола, возраста (старше 2 лет), национальных и региональных особенностей питания населения, что обеспечивает возможность сравнительной оценки качества питания различных категорий населения. ИКП фокусируются на оценке четырех основных аспектов здорового питания: разнообразие пищи, адекватность потребления основных групп или наиболее ценных подгрупп пищевых продуктов, умеренность и сбалансированность рациона питания. Все ИКП состоят из двух групп индикаторов-компонентов – индикаторов адекватности потребления пищевых продуктов и индикаторов потребления критически значимых пищевых факторов, потребление которых необходимо ограничивать, т.е. индикаторов, представленных факторами риска ХНИЗ. При установлении стандартов адекватности потребления обеих групп индикаторов следует использовать оценку «плотности» потребления на 1000 калорий или в процентах от общей калорийности рациона. Следует применять минимально ограничительные рекомендации, которые зависят от уровня потребления энергии, пола и/или возраста, т.е. те стандарты, которые можно достичь в фактическом питании или зафиксировать в результате модификации рациона питания.

На этих принципах планируется разработка и оценка достоверности и объективности ИКП-ИЗП по данным изучения фактического питания населения РФ.

Конфликт интересов. Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Литература/References

1. World Health Organization. Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. WHO Tech Rep Ser No 916, 2003. Geneva: WHO, 2003.
2. World Cancer Research Fund. American Institute for Cancer Research. Food, Nutrition, Physical Activity and the Prevention of Cancer: a Global Perspective. Washington, DC: AICR, 2007.
3. Arvaniti F., Panagiotakos D.B. Healthy indexes in public health practice and research: a review. Crit Rev Food Sci Nutr. 2008; 48 (4): 317–27.
4. Hruby A., Manson J.E., Qi L., et al. Determinants and consequences of obesity. Am J Public Health. 2016; 106: 1656–62.

5. Kant A.K. Dietary patterns and health outcomes. *J Am Diet Assoc.* 2004; 104: 615–35.
6. Wirt A., Collins C.E. Diet quality – what is it and does it matter? *Public Health Nutr.* 2009; 12: 2473–92.
7. Kennedy E.T., Ohls J., Carlson S., et al. The Healthy Eating Index: design and applications. *J Am Diet Assoc.* 1995; 95: 1103–8.
8. Guenther P.M., Reedy J., Krebs-Smith S.M. Development of the Healthy Eating Index-2005. *J Am Diet Assoc.* 2008; 108: 1896–901.
9. Verger E.O., Mariotti F., Holmes B.A., et al. Evaluation of a diet quality index based on the probability of adequate nutrient intake (PANDiet) using national French and US dietary surveys. *PLoS One.* 2012; 7: e42155.
10. Kant A.K., Schatzkin A., Graubard B.I., Schairer C. A prospective study of diet quality and mortality in women. *JAMA.* 2000; 283: 2109–15.
11. Gao S.K., Beresford S.A., Frank L.L., et al. Modifications to the Healthy Eating Index and its ability to predict obesity: the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *Am J Clin Nutr.* 2008; 88: 64–9.
12. McCullough M.L., Feskanich D., Stampfer M.J., et al. Diet quality and major chronic disease risk in men and women: moving toward improved dietary guidance. *Am J Clin Nutr.* 2002; 76 (6): 1261–71.
13. Fogli-Cawley J.J., Dwyer J.T., Saltzman E., et al. The 2005 Dietary Guidelines for Americans Adherence Index: development and application. *J Nutr.* 2006; 136: 2908–15.
14. Guenther P.M., Casavale K.O., Reedy J., et al. Update of the Healthy Eating Index: HEI-2010. *J Acad Nutr Diet.* 2016; 116 (1): 170.
15. Guenther P.M., Kirkpatrick S.I., Reedy J., et al. The Healthy Eating Index-2010 is a valid and reliable measure of diet quality according to the 2010 Dietary Guidelines for Americans. *J Nutr.* 2014; 144 (3): 399–407.
16. Panizza C.E., Shvetsov Y.B., Harmon B.E., et al. Testing the predictive validity of the Healthy Eating Index-2015 in the multiethnic cohort: is the score associated with a reduced risk of all-cause and cause-specific mortality? *Nutrients.* 2018; 10 (4): 452.
17. Krebs-Smith S.M., Pannucci T.E., Subar A.F., et al. Update of the Healthy Eating Index: HEI-2015. *J Acad Nutr Diet.* 2018; 118 (9): 1591–602.
18. McNaughton S.A., Ball K., Crawford D., Mishra G.D. An index of diet and eating patterns is a valid measure of diet quality in an Australian population. *J Nutr.* 2008; 138: 86–93.
19. Collins C.E., Young A.F., Hodge A. Diet quality is associated with higher nutrient intake and self-rated health in mid-aged women. *J Am Coll Nutr.* 2008; 27: 146–57.
20. Zarrin R., Ibiebele T.I., Marks G.C. Development and validity assessment of a diet quality index for Australians. *Asia Pac J Clin Nutr.* 2013; 22 (2): 177–87.
21. Chong S.P., Appannah G., Sulaiman N. Predictors of diet quality as measured by Malaysian Healthy Eating Index among aboriginal women (Mah Meri) in Malaysia. *Nutrients.* 2019; 11 (1): 135. doi: 10.3390/nu11010135
22. Stookey J.D., Wang Y., Ge K., et al. Measuring diet quality in China: The INFH-UNC-CH Diet Quality Index. *Eur J Clin Nutr.* 2000; 54: 811–21.
23. Jyh Eiin Wong, Haszard J.J., Howe A.S., et al. Development of a Healthy Dietary Habits Index for New Zealand adults. *Nutrients.* 2017; 9 (5): 454. Published online 2017 May 3. doi: 10.3390/nu9050454
24. Kaluza J., Hakansson N., Brzozowska A., Wolk A. Diet quality and mortality: a population-based prospective study of men. *Eur J Clin Nutr.* 2009; 63: 451–7.
25. Thiele S., Mensink G.B., Beitz R. Determinants of diet quality. *Public Health Nutr.* 2004; 7: 29–37.
26. Drake I., Gullberg B., Ericson U., et al. Development of a Diet Quality Index assessing adherence to the Swedish Nutrition Recommendations and Dietary Guidelines in the Malmo Diet and cancer cohort. *Public Health Nutr.* 2011; 14: 835–45.
27. Patterson R.E., Haines P.S., Popkin B.M. Diet Quality Index: capturing a multidimensional behavior. *J Am Diet Assoc.* 1994; 94: 57–64.
28. Haines P.S., Siega-Riz A.M., Popkin B.M. The Diet Quality Index-Revised: A measurement instrument for populations. *J Am Diet Assoc.* 1999; 99: 697–704.
29. Kim S., Haines P.S., Siega-Riz A.M., et al. The Diet Quality Index-International (DQI-I) provides an effective tool for cross-national comparison of diet quality as illustrated by China and the United States. *J Nutr.* 2003; 133: 3476–84.
30. Tur J.A., Romaguera D., Pons A. The Diet Quality Index-International (DQI-I): is it a useful tool to evaluate the quality of the Mediterranean diet? *Br J Nutr.* 2005; 93 (3): 369–76.
31. Mariscal-Arcas M., Romaguera D., Rivas A., et al. Diet quality of young people in southern Spain evaluated by a Mediterranean adaptation of the Diet Quality Index-International (DQI-I). *Br J Nutr.* 2007; 98 (6): 1267–73.
32. Jayawardena R., Byrne N.M., Soares M.J., et al. High dietary diversity is associated with obesity in Sri Lankan adults: an evaluation of three dietary scores. *BMC Public Health.* 2013; 13: 314.
33. Kant A.K., Schatzkin A., Ziegler R.G. Dietary diversity and subsequent cause-specific mortality in the NHANES I epidemiologic follow-up study. *J Am Coll Nutr.* 1995; 14: 233–8.
34. Drewnowski A., Henderson S.A., Driscoll A., et al. The Dietary Variety Score: assessing diet quality in healthy young and older adults. *J Am Diet Assoc.* 1997; 97: 266–71.
35. Toft U., Kristoffersen L.H., Lau C., et al. The Dietary Quality Score: validation and association with cardiovascular risk factors: the Inter-99 study. *Eur J Clin Nutr.* 2007; 61: 270–8.
36. Kourlaba G., Polychronopoulos E., Zampelas A., et al. Development of a diet index for older adults and its relation to cardiovascular disease risk factors: the Elderly Dietary Index. *J Am Diet Assoc.* 2009; 109: 1022–30.
37. Feskanich D., Rockett H.R., Colditz G.A. Modifying the Healthy Eating Index to assess diet quality in children and adolescents. *J Am Diet Assoc.* 2004; 104 (9): 1375–83.
38. Mai V., Kant A.K., Flood A., et al. Diet quality and subsequent cancer incidence and mortality in a prospective cohort of women. *Int J Epidemiol.* 2005; 34: 54–60.
39. Osler M., Heitmann B.L., Gerdes L.U., et al. Dietary patterns and mortality in Danish men and women: a prospective observational study. *Br J Nutr.* 2018; 5: 219–25.
40. Panagiotakos D.B., Pitsavos C., Stefanadis C. Dietary patterns: a Mediterranean diet score and its relation to clinical and biological markers of cardiovascular disease risk. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2006; 16: 559–68.
41. Harnack L., Nicodemus K., Jacobs D.R., et al. An evaluation of the Dietary Guidelines for Americans in relation to cancer occurrence. *Am J Clin Nutr.* 2002; 76: 889–96.
42. Lee S., Harnack L., Jacobs D.R., et al. Trends in diet quality for coronary heart disease prevention between 1980–1982 and 2000–2002: The Minnesota Heart Survey. *J Am Diet Assoc.* 2007; 107: 213–22.
43. Lazarou C., Panagiotakos D.B., Matalas A.L. Foods EKINDEX: a dietary index associated with reduced blood pressure levels among young children: the CYKIDS study. *J Am Diet Assoc.* 2009; 109: 1070–5.
44. Asghari G., Mirmiran P., Yuzbashian E., Azizi F. A systematic review of diet quality indices in relation to obesity. *Br J Nutr.* 2017; 117 (8): 1055–65.
45. Fisberg R.M., Morimoto J.M., Slater B., et al. Dietary quality and associated factors among adults living in the state of Sao Paulo, Brazil. *J Am Diet Assoc.* 2006; 106: 2067–72.
46. Fung T.T., Rexrode K.M., Mantzoros C.S., et al. Mediterranean diet and incidence of and mortality from coronary heart disease and stroke in women. *Circulation.* 2009; 119: 1093–100.
47. Tardivo A.P., Nahas-Neto J., Nahas E.A., et al. Associations between healthy eating patterns and indicators of metabolic risk in postmenopausal women. *Nutr J.* 2010; 9: 64.
48. Drewnowski A., Fiddler E.C., Dauchet L., et al. Diet quality measures and cardiovascular risk factors in France: applying the Healthy Eating Index to the SU.VI.MAX study. *J Am Coll Nutr.* 2009; 28: 22–9.

49. Huijbregts P., Feskens E., Rasanen L., et al. Dietary pattern and 20 year mortality in elderly men in Finland, Italy, and The Netherlands: longitudinal cohort study. *BMJ*. 1997; 315: 13–7.
50. Trichopoulou A., Orfanos P., Norat T., et al. Modified Mediterranean diet and survival: EPIC-elderly prospective cohort study. *BMJ*. 2005; 330: 991.
51. Haveman-Nies A., de Groot L.P., Burema J., et al. SENECA Investigators. Dietary quality and lifestyle factors in relation to 10-year mortality in older Europeans: the SENECA study. *Am J Epidemiol*. 2002; 156: 962–8.
52. Schwingshackl L., Hoffmann G. Diet quality as assessed by the Healthy Eating Index, the Alternate Healthy Eating Index, the Dietary Approaches to Stop Hypertension score, and health outcomes: a systematic review and meta-analysis of cohort studies. *J Acad Nutr Diet*. 2015; 115 (5): 780–800.
53. Schwingshackl L., Bogensberger B., Hoffmann G. Diet quality as assessed by the Healthy Eating Index, Alternate Healthy Eating Index, Dietary Approaches to Stop Hypertension Score, and Health Outcomes: an updated systematic review and meta-analysis of cohort studies. *J Acad Nutr Diet*. 2018; 118 (1): 74–100. doi: 10.1016/j.jand.2017.08.024
54. Seymour J.D., Calle E.E., Flagg E.W., et al. Diet Quality Index as a predictor of short-term mortality in the American Cancer Society Cancer Prevention Study II Nutrition Cohort. *Am J Epidemiol*. 2003; 157: 980–8.
55. de Koning L., Chiuve S.E., Fung T.T., et al. Diet-Quality Scores and the risk of type 2 diabetes in men. *Diabetes Care*. 2011; 34 (5): 1150–6. doi: 10.2337/dc10-2352
56. Waijers P.M., Feskens E.J., Ocke M.C. A critical review of pre-defined diet quality scores. *Br J Nutr*. 2007; 97: 219–31.
57. Kant A.K., Graubard B.I. A comparison of three dietary pattern indexes for predicting biomarkers of diet and disease. *J Am Coll Nutr*. 2005; 24 (4): 294–303.
58. Weinstein S.J., Vogt T.M., Gerrior S.A. Healthy Eating Index scores are associated with blood nutrient concentrations in the third National Health And Nutrition Examination Survey. *J Am Diet Assoc*. 2004; 104 (4): 576–84.
59. Hann C.S., Rock C.L., King I., Drewnowski A. Validation of the Healthy Eating Index with use of plasma biomarkers in a clinical sample of women. *Am J Clin Nutr*. 2001; 74 (4): 479–86.
60. Shah B.S., Freeland-Graves J.H., Cahill J.M., et al. Diet quality as measured by the healthy eating index and the association with lipid profile in low-income women in early postpartum. *J Am Diet Assoc*. 2010; 110 (2): 274–9. doi: 10.1016/j.jada.2009.10.038
61. Toffano R.B.D., Hillesheim E., Mathias M.G., et al. Validation of the Brazilian Healthy Eating Index-revised using biomarkers in children and adolescents. *Nutrients*. 2018; 10 (2): 154. doi: 10.3390/nu10020154

Для корреспонденции

Зольникова Оксана Юрьевна – 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)

Адрес: 119991, Россия, г. Москва, ул. Трубецкая, д. 8/2

Телефон: (499) 348-35-12

E-mail: ks.med@mail.ru

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

Зольникова О.Ю., Ивашкин К.В., Буеверова Е.Л., Ивашкин В.Т.

Микробиота кишечника, нутриенты и пробиотики с позиции взаимодействия оси «кишка–легкие»

Intestinal microbiota, nutrients and probiotics viewed from the «gut–lung» axis

Zolnikova O.Yu., Ivaschkin K.V., Bueverova E.L., Ivaschkin V.T.

ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский университет), Москва, Россия
I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia

Заболевания бронхолегочной системы относятся к числу наиболее распространенных и социально значимых, в связи с чем их профилактика и лечение представляют приоритетную задачу практического здравоохранения. К настоящему времени накоплены доказательства взаимодействия микрофлоры кишечника и респираторного тракта, обсуждается роль симбиотных бактерий кишечного биотопа в патогенезе заболеваний органов дыхания.

Цель работы – анализ результатов экспериментальных и клинических исследований, подтверждающих влияние кишечной микрофлоры на развитие и прогрессирование респираторных заболеваний.

Проведен анализ имеющихся данных о снижении риска возникновения, продолжительности и выраженности симптомов бронхиальной астмы при приеме пробиотиков как в детской, так и во взрослой популяции. Проанализирована эффективность употребления пробиотических микроорганизмов с пищей для лечения хронической обструктивной болезни легких, пневмонии, вирусной инфекции, муковисцидоза, рака легких. В статье рассмотрены основные возможные молекулярные механизмы, за счет которых симбиотные бактерии препятствуют развитию бронхолегочных заболеваний.

Заключение. *Использование пробиотиков в комплексном лечении бронхолегочной патологии демонстрирует обнадеживающие результаты. Их потенциал может оказаться полезным при лечении различных заболеваний легких. Однако сохраняется ряд вопросов, связанных с подбором конкретных штаммов для каждого пациента, дозировки и длительности употребления для достижения устойчивой ремиссии.*

Ключевые слова: ось «кишка–легкие», микробиота, пробиотики, иммуномодуляция

Для цитирования: Зольникова О.Ю., Ивашкин К.В., Буеверова Е.Л., Ивашкин В.Т. Микробиота кишечника, нутриенты и пробиотики с позиции взаимодействия оси «кишка–легкие» // *Вопросы питания*. 2019. Т. 88, № 3. С. 13–22. doi: 10.24411/0042-8833-2019-10025.

Статья поступила в редакцию 25.03.2019. **Принята в печать** 20.05.2019.

For citation: Zolnikova O.Yu., Ivaschkin K.V., Bueverova E.L., Ivaschkin V.T. Intestinal microbiota, nutrients and probiotics viewed from the «gut–lung» axis. *Voprosy pitaniia [Problems of Nutrition]*. 2019; 88 (3): 13–22. doi: 10.24411/0042-8833-2019-10025. (in Russian)

Received 25.03.2019. **Accepted** 20.05.2019.

Disturbance of the bronchopulmonary system are among the most common and socially significant diseases, so, the prevention and treatment of these disorders are the priority tasks of practical health care. Being based on the accumulated literature data on the interaction of the intestinal microflora and respiratory tract, the role of symbiotic bacteria of the intestinal biotope has been discussed in the respiratory diseases' pathogenesis.

The aim of the work was to analyze the results of experimental and clinical studies confirming the effect of intestinal microflora on the development and progression of respiratory diseases.

The analysis of the available data on the risk reducing of occurrence, duration and severity of symptoms of bronchial asthma when taking probiotics, both in childhood and in the adult population, has been carried out. The effectiveness of the probiotic microorganisms' intake for the treatment of chronic obstructive pulmonary disease, pneumonia, viral infection, cystic fibrosis, and lung cancer has been analyzed. The main possible molecular mechanisms of the symbiotic bacteria prevention of the bronchopulmonary diseases development have been discussed in the article.

Conclusion. *The probiotics usage in the complex treatment of bronchopulmonary diseases demonstrates encouraging results. Its potential may be useful in the treatment of various lung diseases. However, a number of questions have been related to the individual selection of specific strains, the dosage and duration of use to achieve sustained remission for a patient.*

Keywords: *gut–lung axis, microbiota, probiotics, immunomodulation*

Питание и особенности рационов играют ключевую роль в определении метаболической активности микрофлоры кишечника человека и поддержания ее состава. Наряду с этим результаты последних исследований свидетельствуют, что кишечная микрофлора весьма значима не только для физиологии кишечника и построения нормальной иммунной функции, но и в определенной мере защищает от патологических реакций, таких как аллергия, воспаление или ауто-иммунные нарушения. Метаболиты, вырабатываемые микробиотой, способны не только модулировать кишечный иммунитет, но и воздействовать на другие органы, включая легкие.

Особенности рационов и кишечная микробиота

Питание служит важным фактором, влияющим на состав микрофлоры во всех возрастных группах. Существует гипотеза, что заселение бактериями происходит еще внутриутробно. Основанием для этого мнения послужило обнаружение небольшого сообщества бактерий в плаценте [1, 2]. Однако в этом вопросе исследователи заняли выжидательную позицию, поскольку пока нет убедительных доказательств, что эти бактерии достигают плода через плаценту. На сегодняшний день определяющими факторами для формирования кишечной микробиоты в раннем постнатальном периоде признаны способ родоразрешения и тип вскармливания. Установлено, что у грудных детей, находящихся на естественном вскармливании, кишечный биотоп представлен *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Staphylococcus* и *Streptococcus*. В то время как у детей, которых кормят молочной смесью, преобладают *Bacteroides*, *Clostridium* и *Proteobacteria* [3, 4]. К 3-летнему возрасту качественный и количественный состав микрофлоры становится

стабильным, соответствуя микробному составу взрослого человека. Однако по-прежнему таксономическое разнообразие микрофлоры связано с питанием. Составление микробного состава кишечника у лиц, потребляющих большое количество растительных полисахаридов и клетчатки, с теми, кто придерживается западного типа питания, обнаруживает значимые различия. В первом случае исследователи описывают увеличение содержания *Actinobacteria* и *Bacteroidetes*, в то время как во втором случае выявляется большая численность бактерий типа *Firmicutes* [5–7].

Установлено, что разнообразие кишечной микробиоты может снижаться с возрастом. Однако причины изменения состава микробиоты у лиц пожилого возраста изучены недостаточно. Предполагается участие таких факторов, как уменьшение в рационе овощей, фруктов и других продуктов, служащих источником пищевых волокон, вследствие частичной адентии и нарушения процесса пережевывания пищи [8]. Обеднение рациона этими компонентами приводит к замедлению транзита содержимого по толстой кишке и изменению кишечной микробиоты [9, 10]. В работе Т. Odamaki и соавт. было показано, что с увеличением возраста человека в составе кишечной микробиоты уменьшалось количество бактерий типов *Firmicutes* и *Actinobacteria*, увеличивалась численность бактерий, относящихся к типам *Bacteroidetes* и *Proteobacteria*, а также отмечалась существенная связь состава кишечной микробиоты с особенностями рациона [11]. В том числе включение в рацион продуктов с большим содержанием клетчатки приводило к увеличению продукции короткоцепочечных жирных кислот (КЦЖК) в толстой кишке, повышению биоразнообразия кишечной микробиоты [10–13]. В литературе представлены данные о связи состава микробиоты лиц пожилого возраста с регионом проживания. Например, только у жителей Швеции отмечается снижение с воз-

растом *Faecalibacterium prausnitzii*; у жителей Италии на протяжении жизни снижение уровня *Bifidobacterium* отмечается в меньшей степени по сравнению с жителями Германии, Франции и Швеции. Однако, на наш взгляд, полученные данные могут свидетельствовать о влиянии на состав кишечной микробиоты особенностей рациона [14]. Таким образом, состав микробиома лиц пожилого возраста существенно отличается от микробного состава кишечника лиц молодого и среднего возраста. Однако однозначных данных о характере, возрасте возникновения данных изменений в литературе не приводится.

В обзоре, опубликованном S. Anand и S.S. Mande, приведены результаты исследований по влиянию пищевых компонентов на кишечную микробиоту и связанные с ней физиологические изменения, касающиеся иммунных и обменных процессов в организме человека [15]. Ряд работ подтверждают, что неперевариваемые углеводы (пищевые волокна, неперевариваемый крахмал, фруктоолигосахариды) приводят к росту численности *Roseburia*, *Ruminococcus* и *Eubacterium* spp, это в свою очередь ведет к увеличению содержания в стуле КЦЖК, а именно бутирата, который и оказывает положительное влияние на течение бронхолегочной патологии [16–20].

Рекомендация о необходимости включения в рацион питания разнообразных продуктов, содержащих в том числе субстраты для полезных представителей микрофлоры, для сохранения здоровья поддерживается практически всеми гастроэнтерологами и врачами общей практики.

Ось «кишка–легкие»

Взаимодействие между двумя биотопами происходит непосредственно с участием микрофлоры и ее метаболитов. В экспериментальных исследованиях было показано, что состав кишечной микробиоты влияет на тяжесть течения пневмонии у мышей. Изучалась роль нормальной микробиоты кишечника, в частности пока малоизученных представителей типа *Firmicutes* видов *Candidatus arthromitus* и *Candidatus savagella* на течение пневмонии, вызванной *Staphylococcus aureus*. Показано, что у мышей с измененной микробиотой, что достигалось путем назначения массивной антибиотикотерапии, нарастали бактериальная диссеминация, воспалительный ответ, органное поражение, была выше смертность от пневмонии, тогда как последующая фекальная трансплантация от здоровых мышей приводила к нормализации уровня цитокинов, ускорению элиминации возбудителя [21, 22]. Т. Ichiohe было продемонстрировано, что длительный прием антибиотиков (3 нед) существенно снижает устойчивость к интраназальному инфицированию вирусом гриппа А и уменьшению активации CD8⁺ и CD4⁺ Т-клеток. Введение пробиотических бактерий восстанавливало подавленный антибиотиками противовирусный иммунный ответ [23]. На экспериментальных моделях на мышах удалось установить, что применение

антибактериальных препаратов в первые 3 нед жизни ухудшает течение аллергического воспаления дыхательных путей во взрослом возрасте [24]. Исследовалось взаимодействие КЦЖК с G-протеин-связывающими рецепторами нейтрофилов (GPR43), известными также как рецепторы свободных жирных кислот (FFAR2). При стимуляции этих рецепторов уровень эозинофилов и явления бронхообструкции у экспериментальных животных были меньше и ассоциировались с повышением продукции противовоспалительных медиаторов [25]. Положительный эффект КЦЖК также был продемонстрирован путем модуляции деятельности транскрипционного фактора NFκB и взаимодействия с регуляторными Т-клетками (Treg) [26]. A. Trompette и соавт. обнаружили, что у мышей, получавших рацион с высоким содержанием клетчатки, увеличился уровень циркулирующих КЦЖК, в то время как диета с низким содержанием клетчатки привела к снижению уровня КЦЖК и увеличению аллергических реакций со стороны дыхательных путей [27]. Также было показано, что дендритные клетки после применения пробиотиков выделяют интерлейкин-10 (IL-10), а это в свою очередь способствует дифференцировке и выживанию Treg, приводя к сдвигу в сторону Th1-ответа [22–29].

Клинические исследования демонстрируют строгую корреляцию между бактериальным составом желудочно-кишечного тракта в младенчестве и фенотипом бронхиальной астмы в детстве. В работе T.R. Abrahamsson показано, что низкое общее разнообразие микробиоты толстой кишки в течение первого месяца жизни имело связь с развитием астмы в возрасте 7 лет. К сожалению, авторы исследования не учитывали в своей работе, на каком вскармливании находились дети [28]. При этом похожей ассоциации с аллергическим риноконъюнктивитом и экземой не выявлено. В другом исследовании установлено, что уменьшение численности *Bifidobacteria* и увеличение *Clostridia* spp. в толстой кишке в раннем возрасте ассоциировано с развитием астмы в последующем [29]. Обращает на себя внимание значительное различие в кишечной микробиоте у детей с кистозным фиброзом (муковисцидозом) по сравнению со здоровыми лицами. В случае муковисцидоза снижается количество *Eubacterium rectale*, *Bacteroides uniformis*, *Bacteroides vulgatus*, *Bifidobacterium adolescentis*, *Bifidobacterium catenulatum* и *Faecalibacterium prausnitzii* [30], а также определяется сниженная способность бактерий к биосинтезу КЦЖК [31, 32]. У пациентов с хронической обструктивной болезнью легких трансформация кишечной микробиоты проявляется избыточным ростом *Proteobacteria*, уменьшением количества *Bacteroidetes* [33].

Исследования последних лет подтверждают, что изменения в микробном сообществе легких в свою очередь тоже влияют на состав кишечной микробиоты. Например, инфекция вирусом гриппа увеличивает содержание *Enterobacteriaceae*, уменьшает количество *Lactobacillus* и *Lactococcus* spp. в микробиоте кишечника [34]. Пневмония, вызванная *P. aeruginosa*, приводит к снижению проли-

ферации кишечного эпителия [35, 36]. Дисбиоз в микробиоте легких при ингаляционном введении липополисахарида грамотрицательных бактерий мышам сопровождается нарушениями в их микробиоте кишечника [37].

Роль короткоцепочечных жирных кислот в иммунной регуляции

Короткоцепочечные жирные кислоты, основные метаболиты кишечной микрофлоры, образуемые в результате микробной ферментации углеводов, жиров и белков, включают уксусную, пропионовую, масляную кислоты и их изоформы. Максимальная концентрация КЦЖК образуется в слепой и восходящей ободочной кишке, поскольку здесь больше субстратов для бактериального метаболизма, несмотря на меньшее количество самих бактерий по сравнению с нисходящей и сигмовидной кишкой. Соотношение КЦЖК в диапазоне ацетат: пропионат : бутират как 60:20:18 характеризуется как оптимальное. У детей первых месяцев жизни, находящихся на естественном вскармливании, концентрации бутирата и пропионата невелики, а основную часть метаболитов микробной микрофлоры составляют ацетат и лактат. При искусственном вскармливании доля лактата уменьшается, а бутирата и пропионата увеличивается, что объясняется изменением состава микрофлоры, обсуждавшимся выше, и может иметь отрицательные последствия для состояния кишечника. Это может способствовать как нарушению проницаемости кишки, так и развитию иммунологической интолерантности. КЦЖК, продуцируемые в кишечнике, распределяются системно и используются либо для обеспечения энергией колоноцитов, либо в качестве сигнальных молекул, способствуя активации и созреванию иммунных клеток [38–40]. КЦЖК снижают pH в просвете кишечника, тем самым ограничивая рост патогенных микроорганизмов. Было обнаружено, что продуцирование ацетата бифидобактериями ингибирует рост энтеропатогенов у мышей [41]. Более того, исследования *in vitro* и *in vivo* показали, что высокие уровни бутирата ассоциированы с увеличением продукции муцина и снижением бактериальной адгезии, а также с улучшением целостности эпителия [42, 43]. Экспериментальные исследования установили роль бутирата в регуляции транскрипционного фактора FOXP3, функционирующего как регулятор развития и активности клеток-регуляторов иммунного ответа (Treg), способствуя увеличению их количества. Бутират действует как ингибитор гистондеацетилаз (HDAC), влияя на ацетилирование гистона H₃ в ядрах эукариотических клеток, демонстрируя противоопухолевую активность [44]. КЦЖК влияют на развитие дендритных клеток и воспалительных цитокинов, регулируя кишечные макрофаги [45]. Таким образом, все вышеупомянутые результаты подтверждают, что ось «кишка–легкие» представляет собой двунаправленную связь, которая стимулируется изменениями в иммунитете кишечника или легких.

Нутриенты, пробиотики и функция легких

Учитывая четко прослеживаемую взаимосвязь между патологическими изменениями дыхательной системы и изменением состава кишечной микробиоты, исследователи задались вопросом, можно ли коррекцией диеты или назначением пробиотиков добиться уменьшения тяжести заболеваний. Ряд научных работ, в том числе упоминавшихся выше, показывают, что диета, богатая клетчаткой, изменяет не только кишечную микробиоту, но и влияет на иммунные реакции бронхолегочной системы. Потребление пищевых волокон повышает уровень КЦЖК в крови, обеспечивая защиту от аллергического воспаления в легких. Исследование, проведенное среди 120 тыс. человек, которые находились под наблюдением в течение 12–16 лет, показало, что приверженность здоровому питанию может привести к снижению вероятности развития хронической обструктивной болезни легких на 33% [46]. Благоприятное влияние потребления клетчатки на функцию легких клинически более значимо наблюдалось у курильщиков, что, по мнению авторов исследования, указывает на потенциал использования нутриентов, поступающих с рационом, для борьбы с респираторными расстройствами. По мнению R. Varraso, рацион с высоким содержанием клетчатки приводит к снижению смертности от респираторных заболеваний [46]. В эксперименте показано, что высокое содержание клетчатки в пищевом рационе оказывает иммуномодулирующее действие, что может быть подтверждено снижением уровней маркеров воспаления (С-реактивного белка и IL-6) [47].

Большой интерес представляет влияние пробиотических бактерий на воспалительные изменения в легких. В одном из исследований на фоне применения *Bifidobacterium longum* GT15 у мышей, инфицированных *Klebsiella pneumoniae*, достигнуто быстрое разрешение воспалительного процесса, снижение летальности, что было ассоциировано с увеличением продукции IL-10, снижением уровня фактора некроза опухоли α и IL-6 [48]. В 2015 г. опубликован систематический Кокрейновский обзор, в который вошли результаты 12 рандомизированных контролируемых исследований с участием 3720 человек (различных возрастных групп), принимавших пробиотики в среднем на протяжении 3 зимних месяцев. Было установлено, что прием пробиотиков имеет преимущество перед плацебо по ряду критериев, в том числе: число участников, перенесших хотя бы один эпизод острой респираторной инфекции, в группе принимавших пробиотики было меньшим [отношение шансов 0,53; 95% доверительный интервал (ДИ) 0,37–0,76; $p < 0,001$]; средняя продолжительность эпизода острой респираторной инфекции [средняя разница 1,89; 95% ДИ от -2,03 до -1,75; $p < 0,001$] была меньше и значительно более редкой была необходимость приема антибактериальных препаратов в этот период времени у лиц, которые принимали пробиотики [отношение рисков 0,65; 95% ДИ 0,45–0,94; $p < 0,001$] [49].

В экспериментальной работе P. Forsythe и соавт. введение пробиотических бактерий *Lactobacillus reuteri* ATCC 23272 и *Lactobacillus rhamnosus* GG (LGG) привело к достоверному снижению количества воспалительных клеток в бронхоальвеолярном лаваже. Уменьшение аллергических реакций в дыхательных путях после перорального лечения мышей с помощью *Lactobacillus reuteri* ATCC 23272 ассоциировалось со значительным увеличением доли иммунных клеток CD4⁺CD25⁺FOXP3⁺Treg в селезенке и медиастинальных лимфатических узлах [50]. Применение пробиотических бактерий LGG и *Lactobacillus casei* (штаммов Sirota и DN 114001) показало хороший эффект для профилактики и лечения как бактериальных, так и вирусных инфекций респираторного тракта [51]. В работе J.-H. Kim и соавт. результатом назначения *Lactobacillus casei* DN 114001 и *Bifidobacterium longum* KACC 91563 предупреждало развитие пищевой аллергии. На мышинных моделях продемонстрировано также, что прием в младенческом возрасте *Bifidobacterium longum* KACC 91563 способствовал снижению реактивности дыхательных путей во взрослом возрасте в результате повышенной экспрессии FOXP3 лимфоцитов, а также защищал от инфицирования *Salmonella typhimurium* [52]. Введение мышам пробиотического штамма *Enterococcus faecalis* FK-23 способствовало уменьшению частоты обострений астмы вследствие способности этих бактерий к ослаблению продукции провоспалительных цитокинов [53]. *Bifidobacterium bifidum* G9-1 уменьшал чихание и заложенность носа в моделях на мышах аллергического ринита, индуцированного IgE, а также ингибировал инфильтрацию лейкоцитами слизистой полости носа и облегчал симптомы ринита, связанного с повышенной чувствительностью, вызванной лейкотриеном D₄ (LTD₄) [54].

Применение *B. bifidum* LMG 13195 индуцирует активацию Th17 посредством высвобождения IL-17 дендритными клетками [55]. S. Koizumi и соавт. показали, что введение мышам *Lactobacillus pentosus* S-PT84 значительно повышало активность NK-клеток (Natural killer – естественные киллеры) селезенки и интерферона-γ (IFN-γ) [56].

Однако какие виды и штаммы бактерий наиболее эффективны при заболеваниях легких, пока остается неясным. Так, большинство исследователей свидетельствуют в пользу назначения мультиштаммовых препаратов, рассматривая синергизм пробиотических бактерий как дополнительный механизм их действия. Продуманная комбинация высокоактивных штаммов лакто- и бифидобактерий представлена в мультиштаммовом пробиотике «Лактобаланс®», каждая капсула которого содержит не менее 3 млрд пробиотических микроорганизмов (3,0×10⁹ КОЕ/капс.): *Lactobacillus gasseri* KS-13, *Lactobacillus gasseri* LAC-343, *Lactobacillus rhamnosus* LCS-742, *Bifidobacterium bifidum* G9-1, *Bifidobacterium longum* MM-2, *Bifidobacterium longum* BB536 strain M, *Bifidobacterium infantis* M-63, *Bifidobacterium breve* M16V тип T, *Bifidobacterium lactis* B1-04. Рандомизированными клиническими исследованиями подтверждено,

что прием *Lactobacillus gasseri* CECT5714 и *Lactobacillus coryniformis* CECT 5711 снижал уровень антигенспецифического IgE у пациентов с круглогодичным аллергическим ринитом, увеличивал количество Th1-клеток и фагоцитов, в том числе моноцитов и нейтрофилов, а также их фагоцитарную активность [57, 58].

У детей, страдающих от аллергии, прием этих пробиотических бактерий приводил к увеличению CD4⁺/CD25⁺ регуляторных Т-лимфоцитов и естественных клеток-киллеров, снижению уровня IgE и увеличению IgA [57, 58]. Было также установлено, что штамм *Bifidobacterium bifidum* G9-1, входящий в «Лактобаланс®», индуцирует синтез общего IgA и IgM в клетках мезентериальных лимфатических узлов и клетках в пейеровых бляшках, снижая выработку общего и антигенспецифического IgE [48, 59]. Прием *Lactobacillus gasseri* PA 16/8, *Bifidobacterium longum* SP 07/3, *B. bifidum* MF 20/5 (Tribion harmonis™) в течение как минимум 3 мес способствовал более высокой активации цитотоксических Т-клеток и Т-супрессорных клеток (CD8⁺), а также к усиленной активации Т-хелперов (CD4⁺) по сравнению с плацебо, что в результате дало возможность сократить эпизоды простуды до 2 дней (в сравнении с 4–5 днями при приеме плацебо) и уменьшить выраженность симптомов [60]. Рандомизированное двойное слепое плацебо-контролируемое исследование с использованием *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium bifidum* и *Bifidobacterium longum* продемонстрировало снижение случаев возникновения внутрибольничной инфекции ($p < 0,05$) у детей с гематологическими (апластическая анемия, гемофилия) и онкологическими (лейкемия, ретинобластома) заболеваниями [61].

Результаты нашего исследования, опубликованные ранее, демонстрируют взаимосвязь нарушений микрофлоры кишечника в виде избыточного бактериального роста с развитием аллергического фенотипа бронхиальной астмы (67%), высокого уровня IgE и эозинофилов мокроты ($p < 0,001$). Коррекция состава кишечной микрофлоры рифаксимин и пробиотиком, включающим композицию из 4 штаммов *Bifidobacterium bifidum* не менее 1×10⁹ КОЕ; *Bifidobacterium longum* не менее 1×10⁹ КОЕ; *Bifidobacterium infantis* не менее 1×10⁹ КОЕ; *Lactobacillus rhamnosus* не менее 1×10⁹ КОЕ, способствовала улучшению иммунологических показателей и функции внешнего дыхания, а также снижению частоты госпитализаций в течение последующего года наблюдения за больными ($p < 0,01$) [62, 63].

Новое направление исследований посвящено применению пробиотиков при опухолях легких. Результаты экспериментальных работ показывают многообещающие результаты. Пероральное введение пробиотического штамма *Lactobacillus acidophilus* мышам на модели рака легких, подвергаемой лечению цисплатином, показывает уменьшение размера опухоли и более высокую выживаемость лабораторных животных [64, 65]. По мнению A. Sivan и соавт., кишечная микробиота обладает потенциалом для борьбы с раком легких, и объясняется это изменениями противоопухолевого иммуни-

тата [66]. Интересно, что у пациентов с поздними стадиями рака легких химиоиммунотерапия лучше переносится и позволяет достичь максимального эффекта при добавлении к лечению *Enterococcus hirae* и *Barnesiella intestinihominis*, пока не оцененных в качестве пробиотиков [67]. Оба эти штамма авторы предлагают рассматривать как потенциальные онкомикробиотики для увеличения эффективности лечения злокачественных поражений легких [67].

Заключение

Кишечный микробиом изучен лучше других микробных сообществ человека, и многолетние исследования, о которых было упомянуто в обзоре, показали, что он вносит значительный вклад в формирование иммунных реакций респираторного тракта. В литературе достаточно данных и о том, что пищевой рацион определяет

таксономическую конституцию кишечного микробного сообщества и ее метаболический потенциал, что значимо в развитии и прогрессировании ряда заболеваний легких.

Применение пробиотических бактерий для профилактики и/или лечения заболеваний бронхолегочной системы показывает в эксперименте обнадеживающие результаты. Однако обоснованность этих выводов должна быть подтверждена путем дальнейших клинических рандомизированных контролируемых исследований. Необходимы дальнейшие исследования с целью определения групп пациентов, а также выбора пробиотических штаммов, оптимальных доз, длительности назначения, которые обеспечат оптимальный эффект в профилактике и/или лечении конкретного заболевания.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Сведения об авторах

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

Зольникова Оксана Юрьевна (Zolnikova Oksana Yu.) – кандидат медицинских наук, доцент кафедры пропедевтики внутренних болезней лечебного факультета

E-mail: ks.med@mail.ru

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

Ивашкин Константин Владимирович (Ivaschkin Konstantin V.) – кандидат медицинских наук, доцент кафедры пропедевтики внутренних болезней лечебного факультета

E-mail: 2135833@mail.ru

<https://orcid.org/0000-0002-5699-541X>

Бувверова Елена Леонидовна (Bueverova Elena L.) – кандидат медицинских наук, ассистент кафедры пропедевтики внутренних болезней лечебного факультета

E-mail: ele-bueverova@yandex.ru

<https://orcid.org/0000-0002-0700-9775>

Ивашкин Владимир Трофимович (Ivaschkin Vladimir T.) – академик РАН, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой пропедевтики внутренних болезней лечебного факультета, директор клиники пропедевтики внутренних болезней, гастроэнтерологии и гепатологии им. В.Х. Василенко

E-mail: kont07@yandex.ru

<https://orcid.org/0000-0002-6815-6015>

Литература

1. Agaard K., Ma J., Ganu R., Petrosino J., Versalovic J. The placenta harbors a unique microbiome // *Sci. Transl. Med.* 2014. Vol. 6. P. 237–243.
2. Rodriguez J.M. et al. The composition of the gut microbiota throughout life, with an emphasis on early life // *Health Dis.* 2015. Vol. 26. Article ID 26050.
3. Backhed F., Roswall J., Peng Y., Feng Q., Jia H., Kovatcheva-Datchary P. Dynamics and stabilization of the human gut microbiome during the first year of life // *Cell Host Microbe.* 2015. Vol. 17. P. 690–703. doi: 10.1016/j.chom.2015.04.004
4. Turnbaugh P.J., Ridaura V.K., Faith J.J., Rey F.E., Knight R., Gordon J.I. The effect of diet on the human gut microbiome: a metagenomic analysis in humanized gnotobiotic mice // *Sci. Transl. Med.* 2009. Vol. 1. P. 6–14. doi: 10.1126/scitranslmed.3000322
5. De Filippo C., Cavalieri D., Di Paola M. Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2010. Vol. 107, N 33. P. 14 691–14 696. doi: 10.1073/pnas.1005963107
6. Singh R.K., Chang H.W., Yan D. Influence of diet on the gut microbiome and implications for human health // *J. Transl. Med.* 2017. Vol. 15, N 1. P. 73. doi: 10.1186/s12967-017-1175-y
7. Schroeder B., Birchenough G., Stahlman M. Bifidobacteria or fiber protects against diet-induced microbiota-mediated colonic mucus deterioration // *Cell Host Microbe.* 2018. Vol. 23, N 1. P. 27–40.e7. PMID: 29276171.
8. Jeffery I., Lynch D., O'Toole P. Composition and temporal stability of the gut microbiota in older persons // *Int. Soc. Microb. Ecol. J.* 2016. Vol. 10. P. 170–182.
9. Camilleri M., Viramontes B., Bharucha A.E., Tangalos E.G. Insights into the pathophysiology and mechanisms of constipation, irritable bowel syndrome, and diverticulosis in older people // *J. Am. Geriatr. Soc.* 2000. Vol. 48, N 9. P. 1142–1150.
10. Cuervo A. Fiber from a regular diet is directly associated with fecal short-chain fatty acid concentrations in the elderly // *Nutr. Res.* 2013. Vol. 33, N 10. P. 811–816.

11. Odamaki T., Kato K., Sugahara H. et al. Age-related changes in gut microbiota composition from newborn to centenarian: a cross-sectional study // *BMC Microbiol.* 2016. Vol. 16. P. 90–98.
12. Sembries S., Dongowski G., Jacobasch G. et al. Dietrich effects of dietary fibre-rich juice colloids from apple pomace extraction juices on intestinal fermentation products and microbiota in rats // *Br. J. Nutr.* 2003. Vol. 90, N 3. P. 607–615.
13. Claesson M., Jeffery I., Conde S. et al. Gut microbiota composition correlates with diet and health in the elderly // *Nature.* 2012. Vol. 488, N 7410. P. 178–184.
14. Mueller S., Saunier K., Hanisch C. et al. Differences in fecal microbiota in different European study populations in relation to age, gender, and country: a cross-sectional study // *Appl. Environ. Microbiol.* 2006. Vol. 72. P. 1027–1033.
15. Anand S., Mande S.S. Diet, microbiota and gut-lung connection // *Front. Microbiol.* 2018. Vol. 9. P. 2147. doi: 10.3389/fmicb.2018.02147
16. Maier T., Lucio M., Lee L.H. et al. Impact of dietary resistant starch on the human gut microbiome, metaproteome, and metabolome // *MBio.* 2017. Vol. 8, N 5. pii: e01343-17. doi: 10.1128/mBio.01343-17
17. Sagar S., Vos A., Morgan M.E. et al. The combination of *Bifidobacterium breve* with non-digestible oligosaccharides suppresses airway inflammation in a murine model for chronic asthma // *Biochim. Biophys. Acta.* 2014. Vol. 1842, N 4. P. 573–583. doi: 10.1016/j.bbadis.2014.01.005
18. Kan H., Stevens J., Heiss G. et al. Dietary fiber, lung function, and chronic obstructive pulmonary disease in the atherosclerosis risk in communities study // *Am. J. Epidemiol.* 2008. Vol. 167, N 5. P. 570–578.
19. Kumar M., Babaei P., Ji B., Nielsen J. Human gut microbiota and healthy aging: recent developments and future prospective // *Nutr. Healthy Aging.* 2016. Vol. 4. P. 3–16. doi: 10.3233/NHA-150002
20. Nagpal R., Mainali R., Ahmadi S., Wang S., Singh R., Kavanagh K. Gut microbiome and aging: physiological and mechanistic insights // *Nutr. Healthy Aging.* 2018. Vol. 4. P. 267–285. doi: 10.3233/NHA-170030
21. Gauguet S., D'Ortona S., Ahnger-Pier K. et al. Intestinal microbiota of mice influences resistance to *Staphylococcus aureus* pneumonia // *Infect. Immun.* 2015. Vol. 83, N 10. P. 4003–4014.
22. Schuijt T.J., Lankelma J.M., Scicluna B.P. et al. The gut microbiota plays a protective role in the host defence against pneumococcal pneumonia // *Gut.* 2016. Vol. 65, N 4. P. 575–583.
23. Ichiohe T., Pang I.K., Kumamoto Y. Microbiota regulates immune defense against respiratory tract influenza A virus infection // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2011. Vol. 108, N 13. P. 5354–5359. doi: 10.1073/pnas.1019378108
24. Russel S.L., Gold M.J., Willing B.P. et al. Perinatal antibiotic treatment affects murine microbiota, immune responses and allergic asthma // *Gut Microbes.* 2013. Vol. 4, N 2. P. 158–164.
25. Ganesh B.P., Versalovic J. Luminal conversion and immunoregulation by probiotics // *Front. Pharmacol.* 2015. Vol. 6. P. 269.
26. Larsen J.M., Steen-Jensen D.B., Laursen J.M. Divergent pro-inflammatory profile of human dendritic cells in response to commensal and pathogenic bacteria associated with the airway microbiota // *PLoS One.* 2012. Vol. 7, N 2. Article ID e31976.
27. Trompette A., Gollwitzer E. et al. Gut microbiota metabolism of dietary fiber influences allergic airway disease and hematopoiesis // *Nat. Med.* 2014. Vol. 20. P. 159–166.
28. Abrahamsson T.R., Jakobsson H.E., Andersson A.F., Björkstén B., Engstrand L., Jenmalm M.C. Low gut microbiota diversity in early infancy precedes asthma at school age // *Clin. Exp. Allergy.* 2014. Vol. 44, N 6. P. 842–850.
29. Kalliomäki M., Kirjavainen P., Eerola E., Kero P., Salminen S., Isolauri E. Distinct patterns of neonatal gut microflora in infants in whom atopy was and was not developing // *J. Allergy Clin. Immunol.* 2001. Vol. 107. P. 129–134.
30. Gallaracher D.J., Kotecha S. Respiratory microbiome of new-born infants // *Front. Pediatr.* 2016. Vol. 4. P. 10.
31. Bruzzese E., Callegari M., Raia V. Disrupted intestinal microbiota and intestinal inflammation in children with cystic fibrosis and its restoration with *Lactobacillus GG*: a randomised clinical trial // *PLoS One.* 2014. Vol. 9, N 2. Article ID e87796.
32. Manor O., Levy R., Pope C.E. Metagenomic evidence for taxonomic dysbiosis and functional imbalance in the gastrointestinal tracts of children with cystic fibrosis // *Sci. Rep.* 2016. Vol. 6. Article ID 22493. doi: 10.1038/srep22493
33. Einarsson G.G., Comer D.M., McIlreavey L. Community dynamics and the lower airway microbiota in stable chronic obstructive pulmonary disease, smokers and healthy non-smokers // *Thorax.* 2016. Vol. 71, N 9. P. 795–803.
34. Looft T., Allen H. K. Collateral effects of antibiotics on mammalian gut microbiomes // *Gut Microbes.* 2012. Vol. 3. P. 463–467. doi: 10.4161/gmic.21288
35. He Y., We Q., Yao F., Xu D., Huang Y., Wang J. Gut-lung axis: the microbial contributions and clinical implications // *Crit. Rev. Microbiol.* 2017. Vol. 43. P. 81–95. doi: 10.1080/1040841X.2016.1176988
36. Coopersmith C.M., Stromberg P.E., Davis C.G., Dunne W.M., Amiot D.M., Karl I.E. Sepsis from *Pseudomonas aeruginosa* pneumonia decreases intestinal proliferation and induces gut epithelial cell cycle arrest // *Crit. Care Med.* 2003. Vol. 31. P. 1630–1637. doi: 10.1097/01.CCM.0000055385.29232.11
37. Sze M.A., Tsuruta M., Yang S.W., Oh Y., Man S.F., Hogg J.C. Changes in the bacterial microbiota in gut, blood, and lungs following acute LPS instillation into mice lungs // *PLoS One.* 2014. Vol. 9. Article ID e111228. doi: 10.1371/journal.pone.0111228
38. Bingula R., Filaire M., Radošević-Robin N., Bey M., Berthon J.Y., Bernalier-Donadille A. Desired turbulence? gut-lung axis, immunity, and lung cancer // *J. Oncol.* 2017. Article ID 5035371. doi: 10.1155/2017/5035371
39. Budden K.F., Gellatly S.L., Wood D.L., Cooper M.A., Morrison M., Hugenholtz P. Emerging pathogenic links between microbiota and the gut-lung axis // *Nat. Rev. Microbiol.* 2017. Vol. 15. P. 55–63. doi: 10.1038/nrmicro.2016.142
40. Morrison D.J., Preston T. Formation of short chain fatty acids gut microbiota and their impact on human metabolism // *Gut Microbes.* 2016. Vol. 7. P. 189–200. doi: 10.1080/19490976.2015.1134082
41. Fukuda S., Toh H., Hase K., Oshima K., Nakanishi Y., Yoshimura K. *Bifidobacteria* can protect from enteropathogenic infection through production of acetate // *Nature.* 2011. Vol. 469. P. 543–547. doi: 10.1038/nature09646
42. Jung T.H., Park J.H., Jeon W.M., Han K.S. Butyrate modulates bacterial adherence on LS174T human colorectal cells by stimulating mucin secretion and MAPK signaling pathway // *Nutr. Res. Pract.* 2015. Vol. 9. P. 343–349. doi: 10.4162/nrp.2015.9.4.343
43. Jimenez J.A., Uwiera T.C., Abbott D.W., Uwiera R.R.E., Inglis G.D. Butyrate supplementation at high concentrations alters enteric bacterial communities and reduces intestinal inflammation in mice infected with *Citrobacter rodentium* // *mSphere.* 2017. Vol. 2. Article ID e00243-17. doi: 10.1128/mSphere.00243-17
44. Zeng H., Chi H. Metabolic control of regulatory T cell development and function // *Trends Immunol.* 2015. Vol. 36. P. 3–12. doi: 10.1016/j.it.2014.08.003
45. Chauvistré H., Küstermann C., Rehage N., Klisch T., Mitzka S., Felker P. Dendritic cell development requires histone deacetylase activity // *Eur. J. Immunol.* 2014. Vol. 44. P. 2478–2488. doi: 10.1002/eji.201344150
46. Varraso R., Chiuve S.E., Fung T.T., Barr R.G., Hu F.B., Willett W.C. Alternate healthy eating index 2010 and risk of chronic obstructive pulmonary disease among US women and men: prospective study // *BMJ.* 2015. Vol. 350. Article ID h286. doi: 10.1136/bmj.h286
47. King D.E., Egan B.M., Woolson R.F., Mainous A.G., Al-Solaiman Y. Effect of a high-fiber diet vs. a fiber-supplemented diet on C-reactive protein level // *Arch. Intern. Med.* 2007. Vol. 167. P. 502–506. doi: 10.1001/archinte.167.5.502
48. Park J.H., Um J.I., Lee B.J. et al. Encapsulated *Bifidobacterium longum* potentiates intestinal IgA production // *Cell. Immunol.*

49. Hao Q., Dong B.R., Wu T. Probiotics for preventing acute upper respiratory tract infections // *Cochrane Database Syst. Rev.* 2015. Vol. 2. CD006895. doi: 10.1002/14651858.CD006895.pub3
50. Forsythe P., Inman M.D., Bienenstock J. Oral treatment with live *Lactobacillus reuteri* inhibits the allergic airway response in mice // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2007. Vol. 175, N 6. P. 561–569.
51. Feleszko W., Jaworska J., Rha R.D. et al. Probiotic-induced suppression of allergic sensitization and airway inflammation is associated with an increase of T regulatory dependent mechanisms in a murine model of asthma // *Clin. Exp. Allergy.* 2007. Vol. 37, N 4. P. 498–505.
52. Kim J.-H., Jeun E.-J., Hong C.-P. et al. Extracellular vesicle-derived protein from *Bifidobacterium longum* alleviates food allergy through mast cell suppression // *J. Allergy Clin. Immunol.* 2016. Vol. 137, N 2. P. 507–516. URL: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jaci.2015.08.016>
53. Zhang B., An J., Shimada T., Liu S., Maeyama K. Oral administration of *Enterococcus faecalis* FK-23 suppresses Th17 cell development and attenuates allergic airway responses in mice // *Int. J. Mol. Med.* 2012. Vol. 30, N 2. P. 248–254.
54. Ohno H., Tsunemine S., Isa Y., Shimakawa M., Yamamura H. Oral administration of *Bifidobacterium bifidum* G9-1 suppresses total and antigen specific immunoglobulin E production in mice // *Biol. Pharm. Bull.* 2005. Vol. 28. P. 1462–1466.
55. Lopez P., Gonza I., Gueimonde M. Immune response to *Bifidobacterium bifidum* strains support Treg/Th17 plasticity // *PLoS One.* 2011. Vol. 6, N 9. Article ID e24776.
56. Koizumi S., Wakita D., Sato T. et al. Essential role of Toll-like receptors for dendritic cell and NK1.1(+) cell-dependent activation of type 1 immunity by *Lactobacillus pentosus* strain S-PT84 // *Immunol. Lett.* 2008. Vol. 120, N 1–2. P. 14–19.
57. Olivares M., Diaz-Ropero M.P., Gomez N. et al. The consumption of two new probiotic strains, *Lactobacillus gasseri* CECT 5714 and *Lactobacillus coryniformis* CECT 5711, boosts the immune system of healthy humans // *Int. Microbiol.* 2006. Vol. 9, N 1. P. 47–52.
58. Martinez-Canavate A., Sierra S., Lara-Villoslada F., Romero J. et al. A probiotic dairy product containing *L. gasseri* CECT5714 and *L. coryniformis* CECT5711 induces immunological changes in children suffering from allergy // *Pediatr. Allergy Immunol.* 2009. Vol. 20, N 6. P. 592–600.
59. Dennis-Wall J., Culpepper T., Nieves C. Jr, Rowe C. Probiotics (*Lactobacillus gasseri* KS-13, *Bifidobacterium bifidum* G9-1, and *Bifidobacterium longum* MM-2) improve rhinoconjunctivitis-specific quality of life in individuals with seasonal allergies: a double-blind, placebo-controlled, randomized trial // *Am. J. Clin. Nutr.* 2017. Vol. 105. P. 758–767.
60. DeVrese M., Winkler P., Harder T. et al. Effect of *Lactobacillus gasseri* PA 16/8, *Bifidobacterium longum* SP 07/3, *B. bifidum* MF 20/5 on common cold episodes: a double blind, randomized, controlled trial // *Clin. Nutr.* 2005. Vol. 24, N 4. P. 481–491.
61. Simon A.G.L., Rogacion J. A randomized placebo-controlled trial on the use of probiotics the prevention of nosocomial infection in pediatric patients with hematologic and oncologic diseases // *PIDSP J.* 2005. Vol. 9, N 2. P. 12–18.
62. Поцхверашвили Н.Д., Зольникова О.Ю., Кокина Н.И., Джахая Н.Л., Седова А.В., Буеверова Е.Л. и др. Синдром избыточного бактериального роста у больных бронхиальной астмой // *Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол.* 2018. Т. 28, № 4. С. 47–54. URL: <https://doi.org/10.22416/1382-4376-2018-28-4-47-54>
63. Ivashkin V., Zolnikova O., Potskherashvili N., Trukhmanov A., Kokina N., Dzhakhaya N. A correction of a gut microflora composition for the allergic bronchial asthma complex therapy // *Ital. J. Med.* 2018. Vol. 12. P. 260–264. doi: 10.4081/ijtm.2018.1040
64. Kelly K., Crowley J., Bunn P., Presant C., Grevstad P., Moinpour C. Randomized phase III trial of paclitaxel plus carboplatin versus vinorelbine plus cisplatin in the treatment of patients with advanced non-small cell lung cancer: a Southwest Oncology Group trial // *J. Clin. Oncol.* 2001. Vol. 19. P. 3210–3218. doi: 10.1200/JCO.2001.19.13.3210
65. Gui Q.F., Lu H.F., Zhang C.X., Xu Z.R., Yang Y.H. Well-balanced commensal microbiota contributes to anti-cancer response in a lung cancer mouse model // *Genet. Mol. Res.* 2015. Vol. 14. P. 5642–5651. doi: 10.4238/2015.May.25.16
66. Sivan A., Corrales L., Hubert N., Williams J.B., Aquino-Michaels K., Earley Z.M. Commensal *Bifidobacterium* promotes antitumor immunity and facilitates anti-PD-L1 efficacy // *Science.* 2015. Vol. 350. P. 1084–1089. doi: 10.1126/science.aac4255
67. Daillère R., Vétizou M., Waldschmitt N., Yamazaki T., Isnard C., Poirier-Colame V. *Enterococcus hirae* and *Barnesiella intestinihominis* facilitate cyclophosphamide-induced therapeutic immunomodulatory effects // *Immunity.* 2016. Vol. 45. P. 931–943. doi: 10.1016/j.immuni.2016.09.009

References

1. Aagaard K., Ma J., Ganu R., Petrosino J., Versalovic J. The placenta harbors a unique microbiome. *Sci Transl Med.* 2014; 6: 237–43.
2. Rodriguez J.M., et al. The composition of the gut microbiota throughout life, with an emphasis on early life. *Health Dis.* 2015; 26: 26050.
3. Backhed F., Roswall J., Peng Y., Feng Q., Jia H., Kovatcheva-Datchary P. Dynamics and stabilization of the human gut microbiome during the first year of life. *Cell Host Microbe.* 2015; 17: 690–703. doi: 10.1016/j.chom.2015.04.004
4. Turnbaugh P.J., Ridaura V.K., Faith J.J., Rey F.E., Knight R., Gordon J.I. The effect of diet on the human gut microbiome: a metagenomic analysis in humanized gnotobiotic mice. *Sci Transl Med.* 2009; 1: 6–14. doi: 10.1126/scitranslmed.3000322
5. De Filippo C., Cavalieri D., Di Paola M. Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2010. Vol. 107, N 33. P. 14 691–14 696. doi: 10.1073/pnas.1005963107
6. Singh R.K., Chang H.W., Yan D. Influence of diet on the gut microbiome and implications for human health. *J Transl Med.* 2017; 15 (1): 73. doi: 10.1186/s12967-017-1175-y
7. Schroeder B., Birchenough G., Stahlman M. *Bifidobacteria* or fiber protects against diet-induced microbiota-mediated colonic mucus deterioration. *Cell Host Microbe.* 2018; 23 (1): 27–40.e7. PMID: 29276171
8. Jeffery I., Lynch D., O'Toole P. Composition and temporal stability of the gut microbiota in older persons. *Int Soc Microb Ecol J.* 2016; 10: 170–82.
9. Camilleri M., Viramontes B., Bharucha A.E., Tangalos E.G. Insights into the pathophysiology and mechanisms of constipation, irritable bowel syndrome, and diverticulosis in older people. *J Am Geriatr Soc.* 2000; 48 (9): 1142–50.
10. Cuervo A. Fiber from a regular diet is directly associated with fecal short-chain fatty acid concentrations in the elderly. *Nutr Res.* 2013; 33 (10): 811–6.
11. Odamaki T., Kato K., Sugahara H., et al. Age-related changes in gut microbiota composition from newborn to centenarian: a cross-sectional study. *BMC Microbiol.* 2016; 16: 90–8.
12. Sembries S., Dongowski G., Jacobasch G., et al. Dietrich effects of dietary fibre-rich juice colloids from apple pomace extraction juices on intestinal fermentation products and microbiota in rats. *Br J Nutr.* 2003; 90 (3): 607–15.
13. Claesson M., Jeffery I., Conde S., et al. Gut microbiota composition correlates with diet and health in the elderly. *Nature.* 2012; 488 (7410): 178–84.

14. Mueller S., Saunier K., Hanisch C., et al. Differences in fecal microbiota in different European study populations in relation to age, gender, and country: a cross-sectional study. *Appl Environ Microbiol.* 2006; 72: 1027–33.
15. Anand S., Mande S.S. Diet, microbiota and gut-lung connection. *Front Microbiol.* 2018; 9: 2147. doi: 10.3389/fmicb.2018.02147
16. Maier T., Lucio M., Lee L.H., et al. Impact of dietary resistant starch on the human gut microbiome, metaproteome, and metabolome. *MBio.* 2017; 8 (5). pii: e01343-17. doi: 10.1128/mBio.01343-17
17. Sagar S., Vos A., Morgan M.E., et al. The combination of Bifidobacterium breve with non-digestible oligosaccharides suppresses airway inflammation in a murine model for chronic asthma. *Biochim Biophys Acta.* 2014; 1842 (4): 573–83. doi: 10.1016/j.bbadis.2014.01.005
18. Kan H., Stevens J., Heiss G., et al. Dietary fiber, lung function, and chronic obstructive pulmonary disease in the atherosclerosis risk in communities study. *Am J Epidemiol.* 2008; 167 (5): 570–8.
19. Kumar M., Babaei P., Ji B., Nielsen J. Human gut microbiota and healthy aging: recent developments and future prospective. *Nutr Healthy Aging.* 2016; 4: 3–16. doi: 10.3233/NHA-150002
20. Nagpal R., Mainali R., Ahmadi S., Wang S., Singh R., Kavanagh K. Gut microbiome and aging: physiological and mechanistic insights. *Nutr. Healthy Aging.* 2018; 4: 267–85. doi: 10.3233/NHA-170030
21. Gauguet S., D'Ortona S., Ahnger-Pier K., et al. Intestinal microbiota of mice influences resistance to Staphylococcus aureus pneumonia. *Infect Immun.* 2015; 83 (10): 4003–14.
22. Schuijt T.J., Lankelma J.M., Scicluna B.P., et al. The gut microbiota plays a protective role in the host defence against pneumococcal pneumonia. *Gut.* 2016; 65 (4): 575–83.
23. Ichiohe T., Pang I.K., Kumamoto Y. Microbiota regulates immune defense against respiratory tract influenza A virus infection. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2011; 108 (13): 5354–9. doi: 10.1073/pnas.1019378108
24. Russel S.L., Gold M.J., Willing B.P., et al. Perinatal antibiotic treatment affects murine microbiota, immune responses and allergic asthma. *Gut Microbes.* 2013; 4 (2): 158–64.
25. Ganesh B.P., Versalovic J. Luminal conversion and immunoregulation by probiotics. *Front Pharmacol.* 2015; 6: 269.
26. Larsen J.M., Steen-Jensen D.B., Laursen J.M. Divergent pro-inflammatory profile of human dendritic cells in response to commensal and pathogenic bacteria associated with the airway microbiota. *PLoS One.* 2012; 7 (2): e31976.
27. Trompette A., Gollwitzer E., et al. Gut microbiota metabolism of dietary fiber influences allergic airway disease and hematopoiesis. *Nat Med.* 2014; 20: 159–66.
28. Abrahamsson T.R., Jakobsson H.E., Andersson A.F., Björkstén B., Engstrand L., Jenmalm M.C. Low gut microbiota diversity in early infancy precedes asthma at school age. *Clin Exp Allergy.* 2014; 44 (6): 842–50.
29. Kalliomäki M., Kirjavainen P., Eerola E., Kero P., Salminen S., Isolauri E. Distinct patterns of neonatal gut microflora in infants in whom atopy was and was not developing. *J Allergy Clin Immunol.* 2001; 107: 129–34.
30. Gallaracher D.J., Kotecha S. Respiratory microbiome of new-born infants. *Front Pediatr.* 2016; 4: 10.
31. Bruzzese E., Callegari M., Raia V. Disrupted intestinal microbiota and intestinal inflammation in children with cystic fibrosis and its restoration with Lactobacillus GG: a randomised clinical trial. *PLoS One.* 2014; 9 (2): e87796.
32. Manor O., Levy R., Pope C.E. Metagenomic evidence for taxonomic dysbiosis and functional imbalance in the gastrointestinal tracts of children with cystic fibrosis. *Sci Rep.* 2016; 6: 22493. doi: 10.1038/srep22493
33. Einarsson G.G., Comer D.M., McIlreavey L. Community dynamics and the lower airway microbiota in stable chronic obstructive pulmonary disease, smokers and healthy non-smokers. *Thorax.* 2016; 71 (9): 795–803.
34. Looft T., Allen H. K. Collateral effects of antibiotics on mammalian gut microbiomes. *Gut Microbes.* 2012; 3: 463–7. doi: 10.4161/gmic.21288
35. He Y., We Q., Yao F., Xu D., Huang Y., Wang J. Gut-lung axis: the microbial contributions and clinical implications. *Crit Rev Microbiol.* 2017; 43: 81–95. doi: 10.1080/1040841X.2016.1176988
36. Coopersmith C.M., Stromberg P.E., Davis C.G., Dunne W.M., Amiot D.M., Karl I.E. Sepsis from Pseudomonas aeruginosa pneumonia decreases intestinal proliferation and induces gut epithelial cell cycle arrest. *Crit Care Med.* 2003; 31: 1630–7. doi: 10.1097/01.CCM.0000055385.29232.11
37. Sze M.A., Tsuruta M., Yang S.W., Oh Y., Man S.F., Hogg J.C. Changes in the bacterial microbiota in gut, blood, and lungs following acute LPS instillation into mice lungs. *PLoS One.* 2014; 9: e111228. doi: 10.1371/journal.pone.0111228
38. Bingula R., Filaire M., Radosevic-Robin N., Bey M., Berthon J.Y., Bernalier-Donadille A. Desired turbulence? gut-lung axis, immunity, and lung cancer. *J Oncol.* 2017: 5035371. doi: 10.1155/2017/5035371
39. Budden K.F., Gellatly S.L., Wood D.L., Cooper M.A., Morrison M., Hugenholtz P. Emerging pathogenic links between microbiota and the gut-lung axis. *Nat Rev Microbiol.* 2017; 15: 55–63. doi: 10.1038/nrmicro.2016.142
40. Morrison D.J., Preston T. Formation of short chain fatty acids gut microbiota and their impact on human metabolism. *Gut Microbes.* 2016; 7: 189–200. doi: 10.1080/19490976.2015.1134082
41. Fukuda S., Toh H., Hase K., Oshima K., Nakanishi Y., Yoshimura K. Bifidobacteria can protect from enteropathogenic infection through production of acetate. *Nature.* 2011; 469: 543–7. doi: 10.1038/nature09646
42. Jung T.H., Park J.H., Jeon W.M., Han K.S. Butyrate modulates bacterial adherence on LS174T human colorectal cells by stimulating mucin secretion and MAPK signaling pathway. *Nutr Res Pract.* 2015; 9: 343–9. doi: 10.4162/nrp.2015.9.4.343
43. Jimenez J.A., Uwiera T.C., Abbott D.W., Uwiera R.R.E., Inglis G.D. Butyrate supplementation at high concentrations alters enteric bacterial communities and reduces intestinal inflammation in mice infected with citrobacter rodentium. *mSphere.* 2017; 2: e00243-17. doi: 10.1128/mSphere.00243-17
44. Zeng H., Chi H. Metabolic control of regulatory T cell development and function. *Trends Immunol.* 2015; 36: 3–12. doi: 10.1016/j.it.2014.08.003
45. Chauvistré H., Küstermann C., Rehage N., Klisch T., Mitzka S., Felker P. Dendritic cell development requires histone deacetylase activity. *Eur J Immunol.* 2014; 44: 2478–88. doi: 10.1002/eji.201344150
46. Varraso R., Chiuve S.E., Fung T.T., Barr R.G., Hu F.B., Willett W.C. Alternate healthy eating index 2010 and risk of chronic obstructive pulmonary disease among US women and men: prospective study. *BMJ.* 2015; 350: h286. doi: 10.1136/bmj.h286
47. King D.E., Egan B.M., Woolson R.F., Mainous A.G., Al-Solaiman Y. Effect of a high-fiber diet vs. a fiber-supplemented diet on C-reactive protein level. *Arch Intern Med.* 2007; 167: 502–6. doi: 10.1001/archinte.167.5.502
48. Park J.H., Um J.I., Lee B.J., et al. Encapsulated Bifidobacterium longum potentiates intestinal IgA production. *Cell Immunol.* 2002; 219 (1): 22–7. doi: 10.1016/S0008-8749(02)00579-8
49. Hao Q., Dong B.R., Wu T. Probiotics for preventing acute upper respiratory tract infections. *Cochrane Database Syst Rev.* 2015; 2: CD006895. doi: 10.1002/14651858.CD006895.pub3
50. Forsythe P., Inman M.D., Bienenstock J. Oral treatment with live Lactobacillus reuteri inhibits the allergic airway response in mice. *Am J Respir Crit Care Med.* 2007; 175 (6): 561–9.
51. Feleszko W., Jaworska J., Rha R.D., et al. Probiotic-induced suppression of allergic sensitization and airway inflammation is associated with an increase of T regulatory dependent mechanisms in a murine model of asthma. *Clin Exp Allergy.* 2007; 37 (4): 498–505.
52. Kim J.-H., Jeun E.-J., Hong C.-P., et al. Extracellular vesicle-derived protein from Bifidobacterium longum alleviates food allergy through mast cell suppression. *J Allergy Clin Immunol.* 2016; 137 (2): 507–16. URL: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jaci.2015.08.016>
53. Zhang B., An J., Shimada T., Liu S., Maeyama K. Oral administration of Enterococcus faecalis FK-23 suppresses Th17 cell develop-

- ment and attenuates allergic airway responses in mice. *Int J Mol Med*. 2012; 30 (2): 248–54.
54. Ohno H., Tsunemine S., Isa Y., Shimakawa M., Yamamura H. Oral administration of *Bifidobacterium bifidum* G9-1 suppresses total and antigen specific immunoglobulin E production in mice. *Biol Pharm Bull*. 2005; 28: 1462–6.
55. Lopez P., Gonza I., Gueimonde M. Immune response to *Bifidobacterium bifidum* strains support Treg/Th17 plasticity. *PLoS One*. 2011; 6 (9): e24776
56. Koizumi S., Wakita D., Sato T., et al Essential role of Toll-like receptors for dendritic cell and NK1.1(+) cell-dependent activation of type 1 immunity by *Lactobacillus pentosus* strain S-PT84. *Immunol Lett*. 2008; 120 (1–2): 14–9.
57. Olivares M., Diaz-Ropero M.P., Gomez N., et al. The consumption of two new probiotic strains, *Lactobacillus gasseri* CECT 5714 and *Lactobacillus coryniformis* CECT 5711, boosts the immune system of healthy humans. *Int Microbiol*. 2006; 9 (1): 47–52.
58. Martinez-Canavate A., Sierra S., Lara-Villoslada F., Romero J., et al. A probiotic dairy product containing *L. gasseri* CECT5714 and *L. coryniformis* CECT5711 induces immunological changes in children suffering from allergy. *Pediatr Allergy Immunol*. 2009; 20 (6): 592–600.
59. Dennis-Wall J., Culpepper T., Nieves C. Jr, Rowe C. Probiotics (*Lactobacillus gasseri* KS-13, *Bifidobacterium bifidum* G9-1, and *Bifidobacterium longum* MM-2) improve rhinoconjunctivitis-specific quality of life in individuals with seasonal allergies: a double-blind, placebo-controlled, randomized trial. *Am J Clin Nutr*. 2017; 105: 758–67.
60. DeVrese M., Winkler P., Harder T., et al. Effect of *Lactobacillus gasseri* PA 16/8, *Bifidobacterium longum* SP 07/3, *B. bifidum* MF 20/5 on common cold episodes: a double blind, randomized, controlled trial. *Clin Nutr*. 2005; 24 (4): 481–91.
61. Simon A.G.L., Rogacion J. A randomized placebo-controlled trial on the use of probiotics the prevention of nosocomial infection in pediatric patients with hematologic and oncologic diseases. *PIDSP J*. 2005; 9 (2): 12–8.
62. Potskhverashvili N.D., Zolnikova O.Yu., Kokina N.I., Dzhakhaya N.L., Sedova A.V., Bueverova E.L., et al. Small bowel bacterial overgrowth syndrome in patients with bronchial asthma. *Rossiyskiy zhurnal gastroenterologii, gepatologii, koloproktologii* [Russian Journal of Gastroenterology, Hepatology, Coloproctology]. 2018; 28 (4): 47–54. URL: <https://doi.org/10.22416/1382-4376-2018-28-4-47-54>. (in Russian)
63. Ivashkin V., Zolnikova O., Potskherashvili N., Trukhmanov A., Kokina N., Dzhakhaya N. A correction of a gut microflora composition for the allergic bronchial asthma complex therapy. *Ital J Med*. 2018; 12: 260–4. doi: 10.4081/ijm.2018.1040
64. Kelly K., Crowley J., Bunn P., Presant C., Grevstad P., Moinpour C. Randomized phase III trial of paclitaxel plus carboplatin versus vinorelbine plus cisplatin in the treatment of patients with advanced non-small cell lung cancer: a Southwest Oncology Group trial. *J Clin Oncol*. 2001; 19: 3210–8. doi: 10.1200/JCO.2001.19.13.3210
65. Gui Q.F., Lu H.F., Zhang C.X., Xu Z.R., Yang Y.H. Well-balanced commensal microbiota contributes to anti-cancer response in a lung cancer mouse model. *Genet Mol Res*. 2015; 14: 5642–51. doi: 10.4238/2015.May.25.16
66. Sivan A., Corrales L., Hubert N., Williams J.B., Aquino-Michaels K., Earley Z.M. Commensal *Bifidobacterium* promotes antitumor immunity and facilitates anti-PD-L1 efficacy. *Science*. 2015; 350: 1084–9. doi: 10.1126/science.aac4255
67. Daillère R., Vétizou M., Waldschmitt N., Yamazaki T., Isnard C., Poirier-Colame V. *Enterococcus hirae* and *Barnesiella intestini-hominis* facilitate cyclophosphamide-induced therapeutic immunomodulatory effects. *Immunity*. 2016; 45: 931–43. doi: 10.1016/j.immuni.2016.09.009

Для корреспонденции

Зорин Сергей Николаевич – 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: zorin@ion.ru
<https://orcid.org/0000-0003-2689-6098>

Зорин С.Н.

Ферментативные гидролизаты пищевых белков для специализированных пищевых продуктов диетического (лечебного и профилактического) питания

Enzymatic hydrolysates of food proteins for specialized foods for therapeutic and prophylactic nutrition

Zorin S.N.

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

В обзоре рассмотрены некоторые вопросы получения, а также физико-химической, органолептической, иммунохимической (остаточная антигенность) характеристики ферментативных гидролизатов пищевых белков (ФГПБ), широко используемых в составе пищевых продуктов различного назначения, а также оценки их биологической активности. Приводятся результаты экспериментальных работ и патентов, в которых описаны наиболее широко используемые подходы к получению ФГПБ с заданными свойствами (гидролизаты для специализированных диетических лечебных и профилактических продуктов), а также оценки их биологической активности и иммунохимических свойств. Рассматриваются вопросы использования различных ферментных препаратов (бактериального, грибкового и животного происхождения), а также одно- и двухстадийные схемы проведения гидролиза и варианты аппаратного оформления процессов ферментализации. Делается вывод, что для достижения необходимого снижения антигенности для гидролизатов, используемых в составе специализированных (гипоаллергенных) пищевых продуктов лечебного назначения, до значений не выше 10^{-5} относительно антигенности исходного белка требуются стадии мембранной ультрафильтрации. Главный недостаток таких гидролизатов – неудовлетворительные органолептические свойства (горечь и высокая осмолярность) могут быть улучшены использованием ряда дополнительных технологических подходов. Рассматриваются вопросы использования в составе специализированных пищевых продуктов лечебного и профилактического назначения частичных гидролизатов (или гидролизатов со средней степенью гидролиза, с остаточной антигенностью 10^{-4} – 10^{-5}), обладающих значительно лучшими органолептическими свойствами по сравнению с глубокими гидролизатами. Значительный интерес представляют вопросы

Для цитирования: Зорин С.Н. Ферментативные гидролизаты пищевых белков для специализированных пищевых продуктов диетического (лечебного и профилактического) питания // *Вопр. питания*. 2019. Т. 88, № 3. С. 23–31. doi: 10.24411/0042-8833-2019-10026.

Статья поступила в редакцию 14.01.2019. **Принята в печать** 20.05.2019.

For citation: Zorin S.N. Enzymatic hydrolysates of foods for therapeutic and prophylactic nutrition. *Voprosy pitaniia [Problems of Nutrition]*. 2019; 88 (3): 23–31. doi: 10.24411/0042-8833-2019-10026. (in Russian)

Received 14.01.2019. **Accepted** 20.05.2019.

иммуномодулирующих, антиоксидантных и гипоаллергенных свойств ФГПБ. Предполагается, что гидролизаты белков сои и куриного яйца могут быть перспективны в качестве добавок антимикробного, антигипертензивного и иммуномодулирующего действия в составе различных специализированных пищевых продуктов, а также при пищевой непереносимости только белков коровьего молока.

Ключевые слова: ферментативные гидролизаты, пищевые белки, остаточная антигенность, иммуномодулирующие свойства

The review considers some issues of obtaining, as well as physic-chemical, organoleptic, immunochemical (residual antigenicity) characteristics of enzymatic hydrolysates from food proteins (EHFP) that are widely used in food products for various purposes, as well as assessing their biological activity. The results of experimental works and patents, which describe the most widely used approaches to the production of EHFP with desired properties (hydrolysates for therapeutic and prophylactic products), as well as assessments of biological activity and immunochemical properties are given. The use of various enzyme preparations (of bacterial, fungal and animal origin), as well as one- and two-stage hydrolysis schemes and options for instrumentation of fermentolysis processes are considered. It is concluded that in order to achieve the required reduction in antigenicity for hydrolysates used as part of therapeutic (hypoallergenic) foods (to values not higher than 10^{-5} relative to the antigenicity of the original protein) membrane ultrafiltration stages are necessary. The main disadvantage of such hydrolysates is their unsatisfactory organoleptic properties (bitterness and high osmolarity) that can be improved using a number of additional technological approaches. The use of partial hydrolysates (or hydrolysates with an average degree of hydrolysis, with a residual antigenicity of 10^{-4} to 10^{-5}) with significantly better organoleptic properties compared with deep hydrolysates in therapeutic foods is considered. Of considerable interest are the issues of immunomodulatory, anti-oxidant and hypoallergenic properties of EHFP. It has been suggested that soybean and chicken egg hydrolysates may be promising as functional ingredients with antimicrobial, antihypertensive and immunomodulatory effects in various specialized foods, as well as in cases of food intolerance only to cow milk proteins.

Keywords: enzymatic hydrolysates, food proteins, residual antigenicity, immunomodulating properties

В настоящее время у детей (особенно первого года жизни) широко распространены пищевая аллергия и непереносимость белков пищи [1–5], а также расстройства желудочно-кишечного тракта (запор, колики и т.д.) [2, 3]. Вместе с тем возросло и число взрослых с различными нарушениями функции пищеварения, для которых в той или иной форме характерна непереносимость пищевого белка [1]. Помимо этого важны вопросы получения продуктов для энтерального зондового питания (состояния шока, посттравматического стресса, послеоперационные состояния после хирургических вмешательств на органах брюшной полости и т.д.).

В этой связи большую остроту и актуальность приобретает проблема создания специализированных пищевых продуктов, содержащих источник полноценного белка, не вызывающего пищевой непереносимости (в частном случае пищевой аллергии), при этом легкоусвояемого и обладающего удовлетворительными органолептическими свойствами. Наиболее приемлемы для этих целей ферментативные гидролизаты пищевых белков (ФГПБ) с различной степенью гидролиза, полученные с использованием современных ферментных препаратов и технологических подходов, позволяющих решить поставленные задачи. Среди таких подходов наиболее широко распространены мембранные техно-

логии (ультра- и нанофильтрация), которые позволяют в мягких условиях и с использованием в основном только воды менять пептидный профиль гидролизатов и улучшать их иммунохимические и органолептические свойства [6].

Ферментативные гидролизаты обладают рядом принципиальных преимуществ по сравнению со смесями кристаллических аминокислот с точки зрения физиологии пищеварения и всасывания. Согласно теории адекватного питания, сформулированной академиком А.М. Уголевым [7], нутритивные потребности организма в наилучшей степени удовлетворяются теми формами пищевых веществ, к которым вид был адаптирован в ходе эволюционного развития. Исходя из этих самых общих соображений можно утверждать, что питание полуэлементарной диетой, в которой белковый компонент в составе продукта представлен пептидами, более физиологично и способно лучше удовлетворить потребность организма в белке по сравнению с потреблением продуктов на основе аминокислотных смесей.

В качестве субстратов для получения ферментативных гидролизатов в составе специализированных пищевых продуктов для лечебного и профилактического питания наибольшее число работ и патентов посвящено

белкам коровьего молока (цельному белку, казеину и белкам сыворотки) как хорошо растворимым в воде, обладающим хорошими органолептическими свойствами и аминокислотным составом. Кроме того, несомненный интерес представляют белки куриного яйца и сои. Первые имеют сбалансированный аминокислотный состав [8, 9], вторые обладают гипоаллергенными и гипохолестеринемическими свойствами [10, 11] и коммерчески доступны.

В связи с вышесказанным разработка технологических подходов для получения ферментативных гидролизатов белков из различных пищевых источников представляется чрезвычайно важной. Такие технологии должны быть достаточно просты в аппаратурном оформлении, использовать коммерчески доступные и широко распространенные белковые субстраты и ферменты, а также давать возможность легко их модифицировать в целях получения гидролизатов для гипоаллергенных профилактических продуктов, а также предназначенных для лиц с нарушениями желудочно-кишечного тракта, не связанными с аллергическими реакциями.

Гидролизаты для специализированных пищевых продуктов диетического (лечебного и профилактического) питания (гипоаллергенных и профилактических) на основе белков молока

Гидролизаты для гипоаллергенных продуктов должны иметь очень высокую степень расщепления белка (их часто называют полными гидролизатами). Однако такое название не свидетельствует о том, что они представлены исключительно свободными аминокислотами. Хроматографический анализ показывает, что в этих гидролизатах большая часть белкового материала представлена не свободными аминокислотами (чего можно добиться кислотным гидролизом), а пептидами с малой и в некотором количестве даже средней длины цепи. Поэтому термин «глубокие гидролизаты» для них представляется более подходящим.

Наиболее важной характеристикой гидролизатов белков для гипоаллергенных продуктов является остаточная антигенность (ОАГ), т.е. количество нерасщепленного белка (относительно интактного), сохраняющего способность взаимодействовать с антителами (в первую очередь класса IgE), и иммуногенность, т.е. способность вызывать иммунный ответ у предрасположенных к аллергии больных [12–15]. ОАГ может выражаться либо в кратности снижения антигенности (характеризует отношение удельного содержания антигенных структур в интактном белке к таковому в гидролизате) или быть величиной, обратной кратности снижения. Для определения ОАГ обычно используют иммуноферментные методы в различных вариантах с применением гипериммунных антисывороток к пищевым белкам. Основными преимуществами иммуноферментных методов явля-

ются сравнительная дешевизна используемого оборудования, а также большая производительность при работе с сериями проб [16]. Применение иммунохимических методов для контроля содержания антигенных структур в пептидных смесях позволяет выявлять как нативные молекулы, так и антигенные детерминанты в составе фрагментов исходных макромолекул.

В целом ряде публикаций и патентов описаны иммуноферментные методы определения ОАГ в гидролизатах различных белков. Так, при использовании поликлональных антител против β -лактоглобулина кролика (GTX77272, «GeneTex», США) и конъюгата антител быка против IgG кролика с пероксидазой («Медгамал», Россия) была разработана методика определения ОАГ этого белка [17]. Рабочий диапазон определяемых концентраций варьировал от 0,03 до 2,5 мкг/см³. Иммунохимические методы оценки ОАГ белков описаны также в ряде патентов [18–20]. В последнее время наряду с иммуноферментными методами для определения антигенных эпитопов белков используют методы высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) и масс-спектрометрии (LC-MS/MS).

К настоящему времени для получения ФГПБ используется целый ряд коммерческих ферментов животного, микробиологического и грибкового происхождения [панкреатин из поджелудочной железы крупного рогатого скота или свиньи, пепсин, алкалаза (Alcalase) из штамма *Bacillus licheniformis*, нейтраза (Neutrase) из штамма *Bacillus amyloliquefaciens*, грибная комплексная протеаза Flavourzyme и др.]. Так, в работе [21] рассматриваются различные варианты ферментализации белков молочной сыворотки с использованием трипсина, пепсина, ренина, папаина с последующей ультрафильтрационной обработкой полученных продуктов. Гидролиз проводили при 5,0% белка при pH от 3 до 8 и температуре от 37 до 55 °C в течение 4 ч с последующей инактивацией остаточных количеств фермента при 90 °C и ультрафильтрацией. ОАГ определяли иммуноферментным конкурентным методом с помощью набора «ELISA RIDASCREEN® β -Lactoglobulin» (R4901, R-Biopharm, Германия). Кроме этого, гидролизаты исследовали методами ВЭЖХ и масс-спектрометрии. Оценка ОАГ показала, что наибольшее ее снижение произошло при использовании пепсина (после ультрафильтрации) и иммуноферментный метод не обнаружил антигенных структур β -лактоглобулина в конечном продукте. Однако методами ВЭЖХ и масс-спектрометрии все же были обнаружены некоторые аллергенные эпитопы. В работе [22] приводятся результаты определения остаточных количеств молочных белков в ряде пищевых продуктов на основе глубоких и частичных гидролизатов, полученные иммуноферментным методом. Делается вывод о применимости метода иммуноферментного анализа для анализа широкого спектра продуктов на основе гидролизатов белков.

Считается, что для гипоаллергенных продуктов остаточная антигенность ФГПБ должна находиться в диапазоне не выше 10^{-5} – 10^{-6} от антигенности исходного белка.

Такое снижение антигенности характерно для смесей на основе глубокого гидролизата казеина («Нутрамиген», «Прегестимил» и «Пептамен»). Примерно такие же значения ОАГ приводятся в патентах [23, 24], где описываются способы получения ферментативного гидролизата белков молочной сыворотки с высокой степенью гидролиза. Отметим, что обязательным условием получения гидролизатов с такой низкой ОАГ является использование мембранных технологий (ультра- и нанофильтрации). Ультрафильтрация позволяет удалять из гидролизата остаточные количества антигенных структур исходного белка и фермента, что позволяет еще на 2–3 порядка снизить антигенность гидролизата относительно исходного белка – этого невозможно добиться только гидролизом. Нанофильтрация дает возможность удалить из продукта соли, свободные аминокислоты и значительное количество коротких пептидов, придающих гидролизатам горечь. Аналогичные результаты приводятся в работе [25], где ОАГ гидролизатов казеина, полученных с использованием трипсина, химотрипсина, термолизина и последующей ультрафильтрации через мембрану с диаметром пор 10 кДа, лежала в пределах $3,7 \times 10^{-6}$ – $7,5 \times 10^{-6}$.

Для ФГПБ в составе профилактических пищевых продуктов не требуется такой низкой ОАГ, как для гипоаллергенных продуктов. Для них снижение антигенности лежит в пределах 10^{-3} – 10^{-5} от исходного белка, что считается средней степенью гидролиза (так называемые частичные гидролизаты) [26]. Данные продукты в сравнении с гипоаллергенными гидролизатами обладают значительно лучшими органолептическими свойствами (сниженная или практически отсутствующая горечь, низкая осмолярность). Кроме того, они способны вызывать состояние иммунологической толерантности к белкам – предшественникам данных пептидов [27, 28]. Этот эффект может быть связан с наличием в таких гидролизатах фракции «средних пептидов» (в диапазоне молекулярных масс от 1 до 10 кДа). Отечественными авторами описаны технологические подходы, использовавшиеся при получении частичных гидролизатов молочных белков с использованием целого ряда коммерческих ферментов [29]. Значения ОАГ колебались в пределах $0,058 \times 10^{-3}$ – $8,05 \times 10^{-3}$. Аналогичные значения ОАГ приводятся для импортных продуктов «PRODIET GF 006», Ingredia, Франция (ОАГ $0,84 \times 10^{-3}$) и «Hilmar 8360», Hilmar, США (ОАГ = $5,29 \times 10^{-2}$).

В работе [30] изучали ОАГ и антиоксидантную активность (АОА) экспериментальных образцов гидролизатов сывороточных белков, полученных с использованием сериновых протеаз (алкалазы, трипсина, смеси трипсина и алкалазы), металлопротеаз (термолизина и нейтразы), пепсина, папаина. В качестве образцов сравнения анализировали гидролизаты Vital Armor H 801 LB (Armor Protéines, Франция), Peptigen IF 3080 WPH (Arla Foods Ingredients Group, Дания), Optiper-80 DH 32 (Carbery Food Ingredients, Ирландия), PRODIET GF 006 (Ingredia, Франция), Hilmar 8350 (Hilmar, США). Оценивали ОАГ (иммуноферментным методом) и АОА этих

гидролизатов [по 2,2'-азино-бис-(3-этилбензтиозолин-6-сульфоукислоты) диаммониевой соли, ABTS*+]. ОАГ продуктов находилась в диапазоне ($0,38 \times 10^{-3}$ – $8,06 \times 10^{-3}$) и соответствовала значениям ОАГ зарубежных гидролизатов, предназначенных для использования в качестве компонента функциональных пищевых продуктов.

Заметим, что частичные гидролизаты также в основном выпускаются на основе белков коровьего молока [31, 32].

Гидролизаты белков куриного яйца и сои

Что касается гидролизатов из белков куриного яйца и сои, то в большинстве работ приводятся данные, свидетельствующие о наличии у них антиоксидантной, антимикробной, антигипертензивной и иммуномодулирующей активности [33–36].

Так, в работе [33] приведены результаты оценки антиокислительных и хелатирующих свойств (восстановление железа до двухвалентного) 3 гидролизатов яичного белка (полученных с использованием пепсина, трипсина и химотрипсина). Кроме этого, они проявляли антимикробное действие (в экспериментах на *B. subtilis* B172, *B. subtilis* B3; *B. cereus* B512; *B. cereus* B 3p и *B. lateosporum* B6). Степени гидролиза для этих гидролизатов составляли 19,1; 13,5 и 13,0% для пепсина, химотрипсина и трипсина соответственно. При этом наибольшую антиоксидантную и хелатирующую активность показал гидролизат, полученный с использованием пепсина. Делается вывод о перспективности использования таких гидролизатов в качестве пищевых ингредиентов для повышения антиоксидантных свойств функциональных продуктов и в качестве природных консервантов, ингибирующих рост микроорганизмов.

При использовании коммерческих ферментов Alcalase, Neutrase, Flavourzyme и Protamex, Collupulin, Ficin для гидролиза яичного белка было показано, что максимальная степень гидролиза была достигнута при использовании алкалазы (определяли по содержанию аминного азота) [34]. Этот же гидролизат показал и максимальную антиокислительную активность.

Изучение полученных с использованием вышеупомянутых ферментов и папаина гидролизатов яичного белка выявило, что продукт, полученный с использованием нейтразы, обладал максимальной АОА [35]. Сделан вывод о перспективности таких продуктов в качестве антиоксидантов.

Как вариант аппаратного оформления рассматривается схема получения гидролизатов яичных белков (с использованием алкалазы, нейтразы, папаина) в реакторе с мембранным разделительным блоком и непрерывным перемешиванием [36]. Использование такой схемы позволило получить продукты с высокой степенью гидролиза (до 60% в случае алкалазы). Максимальной АОА [определяли по DPPH (2,2-дифенил-1-пикрилгидразил) и ABTS] также обладали алкалазные гидролизаты.

В работе [37] описан пептид из сои Lunasin (43 аминокислоты), обладающий противовоспалительным действием. В гидролизатах соевого молока, полученных с использованием пепсина и панкреатина, были идентифицированы биоактивные пептиды RQRK (аргинин–глутамин–аргинин–лизин) и VIK (валин–изолейцин–лизин), которые ингибировали вызванное липополисахаридом воспаление в мышинных макрофагах [38]. Эти гидролизаты ингибировали продукцию оксида азота, интерлейкина (IL)-1 β , синтазы оксида азота и циклооксигеназы-2.

Наряду с пептидами, обладающими АОА, содержащиеся в соевом белке изофлавоноиды также обладают антиокислительными свойствами [39, 40]. Так, в опыте на растущих крысах Sprague–Dawley в ходе 5-недельного физиологического эксперимента (упражнения на беговой дорожке с приводом) было показано, что добавление в рацион изофлавоноидов (0,5% от массы рациона богатого изофлавоноидами изолята соевого белка, содержащего даидзеин 6,6 мг/г, генистеин 2,6 мг/г, глицитин 4,7 мг/г, даидзин 166,3 мг/г, генистин 33,7 мг/г и глицитин 120,3 мг/г) привело к статистически значимому увеличению активности в печени супероксиддисмутазы (96,7 \pm 4,8 против 70,4 \pm 4,5 Ед/мг белка в контроле) и каталазы (1,04 \pm 0,16 против 0,62 \pm 0,08 Ед/мг белка для контроля) и снижению уровня тиобарбитуровой кислоты (0,13 \pm 0,01 против 0,23 \pm 0,04 нМ/г) в печени [39].

В опытах *in vitro* [40] было показано, что высокая АОА бактериальных гидролизатов 4 корейских сортов сои (Cheongju, Cheongju № 3, Geomjeong № 5 и Ilpumgeomjeong) связана с высоким содержанием в их составе полифенолов.

Способы получения ферментативных гидролизатов изолята белков сои из коммерческой обезжиренной соевой муки с использованием 3 ферментов (Flavourzyme, Novozym и Alcalase) при нейтральном значении pH описаны в работе [41]. Наибольшая степень гидролиза (39,5% согласно результатам определения содержания свободных аминокислот с нингидрином) была достигнута при использовании Flavourzyme. Такой гидролизат показал хорошие функциональные свойства. Наибольшее количество свободных аминокислот, образовавшихся в процессе протеолиза, наблюдалось в случае алкалазы для гистидина (30%), лейцина (24%) и тирозина (19%), и в случае Flavourzyme для аргинина (22,1%), лейцина (10,6%) и фенилаланина (12,9%). Однако ОАГ и органолептические свойства гидролизатов в работе не описаны.

Одним из недостатков ФГПБ является горечь, обусловленная наличием гидрофобных пептидов [42]. Молекулярные массы таких пептидов лежат в основном в диапазоне 0,36–2,10 кДа [43]. Их горечь связана с наличием в их составе концевых аминокислот изолейцина, тирозина, фенилаланина и триптофана [44–48]. Для снижения горечи предложен целый ряд методических подходов [49]. Это более глубокий гидролиз горьких пептидов [50–53]. Кроме этого, удалить горечь из пептидных смесей можно хроматографической очисткой

на гидрофобных сорбентах (например, активированном угле). Однако это приводит к потере ряда незаменимых аминокислот и снижению биологической ценности таких гидролизатов [54].

Иммуномодулирующие свойства белковых гидролизатов

Большой интерес представляют иммуномодулирующие свойства белковых гидролизатов [55–65]. В обзорах [55, 56] приводится большое число экспериментальных работ, где рассматриваются в том числе иммуномодулирующие свойства ФГПБ.

В экспериментах *in vivo* на крысах было показано, что использование пепсинового гидролизата соевых белков повышает уровень селезеночных макрофагов спленоцитов (показатель стимуляции 10,141–10,811) и перитонеальных макрофагов (фагоцитарный индекс 1,285–1,721) [57]. Кроме того, концентрации IgG и IgA в сыворотке крови при введении внутрижелудочно гидролизата и изолята соевых белков в сопоставимых дозах (от 5 до 15 мг/сут) были также практически одинаковыми и составляли в случае гидролизата для IgG 0,198–0,345 и для IgA – 0,0184–0,0194 мг/мл, а для изолята белков сои соответственно 0,208–0,322 и 0,0188–0,0189 мг/мл. Это подтверждает иммуномодулирующий потенциал именно ферментативных гидролизатов соевых белков. Кроме этого, было показано отсутствие у этих гидролизатов острой токсичности. Сделан вывод о возможности использования таких компонентов в составе иммуномодулирующих или функциональных пищевых продуктов.

При исследовании низкомолекулярных структур гидролизата соевых белков, полученных с использованием ряда коммерческих ферментов (Alcalase, Flavourzyme, Trypsin, Papain, Protease A и Peptidase R) со степенью гидролиза от 42,59 до 79,87% было показано (в экспериментах *in vitro* у мышей измеряли пролиферацию лимфоцитов селезенки и фагоцитарную активность перитонеальных макрофагов), что максимальной иммуномодулирующей активностью обладают положительно заряженные пептиды (выделенные на ионообменной колонке с сефадексом «SP Sephadex C-25», полученные с использованием алкалазы при соотношении фермент: субстрат 1:50, 60 °C, pH 8,0, в течение 4 ч) [58]. Делается вывод о перспективности таких пептидных смесей для использования в специализированных продуктах с высокой иммуномодулирующей активностью. В работе [59] изучали влияние гидролизатов овальбумина, лизоцима, овомукоида и цельного белка куриного яйца на секрецию цитокинов и высвобождение активных форм кислорода. Было показано, что гидролизаты (также полученные с использованием алкалазы) обладали высокой иммуномодулирующей активностью и снижали показатели окислительного стресса (эксперименты проводили на клетках селезенки и брыжеечного лимфатического узла мышей). На моделях нарушенной проницаемости барьера желудочно-кишечного тракта (эксперимент на

свиньях с индуцированным колитом, вызванным декстраном сульфатом натрия) введение в рацион ферментативного гидролизата белка куриного яйца привело к восстановлению барьерной функции стенки кишечника, уменьшив его проницаемость и увеличив экспрессию муцина [60, 61]. Кроме того, наблюдалось значительное снижение экспрессии цитокина интерферон- γ (IFN- γ), фактора некроза опухоли α (TNF- α), интерлейкинов (IL-6, IL-1 β , IL-8 и IL-17), что указывает на то, что ферментативный гидролизат белка куриного яйца является перспективным новым средством для лечения воспалительных заболеваний кишечника.

При изучении иммуномодулирующего действия на модели сенсibilизации мышей частично гидролизированным белком молочной сыворотки было установлено: хотя уровни IgE и IgG1 в сыворотке животных были увеличены, это не вызывало клинических симптомов (в нашем случае кожный тест) [62]. Это было связано в том числе с увеличением содержания регуляторных В- и Т-клеток в селезенке и предотвращении увеличения содержания общего цитокина Th1 и активированного им Th17 в кишечнике. Все это способствовало подавлению аллергических симптомов в кишечнике и свидетельствовало о благоприятном действии ферментативного гидролизата белка куриного яйца. В работе [63] добавление в рацион (содержащий олигосахариды) частично гидролизованного β -лактоглобулина снимало клинические симптомы у мышей с аллергией на коровье молоко. Был установлен пептид, оказавший наибольшее влияние на снижение клинических проявлений и понижение уровня специфических IgG-антител (пептид LLDAQSAPLRVYVEELKP: лейцин–лейцин–аспарагиновая кислота–аланин–глутамин–серин–аланин–пролин–лейцин–аргинин–валин–тирозин–глутаминовая кислота–глутаминовая кислота–лейцин–лизин–пролин).

В эксперименте на аутбредных мышах ICR наблюдали положительное действие ферментативного гидролизата белка коровьего молока на регуляцию иммунной системы животных [64]. Введение в рацион гидролизата приводило к стимулированию иммунитета (делается предположение, что это может происходить за счет снижения уровня гемолизина в сыворотке и нормализации фагоцитоза макрофагов). Гидролизаты молочного белка также обладали способностью снижать гиперчувствительность I типа за счет снижения уровней IgE в сыворотке и высвобождения гистамина и бикарбоната в брюшных тучных клетках, а также повышения уровня трансформирующего ростового фактора (TGF- β) в сыворотке мышей, сенсibilизированных овальбумином.

В работе [65] использовали коммерческие гидролизаты белков молочной сыворотки и сои при получении фракций с отсечением по молекулярным массам 1000, 100 и 10 кДа. Было показано, что наибольшая иммуномодулирующая активность (определялась по активации толл-подобных рецепторов, TLR) у этих гидролизатов приходится на агрегированные структуры с молекулярными массами более 10 кДа и значительно превосходит показатели интактных белков.

Заключение

Глубокие гидролизаты пищевых белков (во всех случаях к настоящему времени это гидролизаты белков молочной сыворотки или казеина) должны иметь кратность снижения антигенности относительно исходного белка не ниже 100 000 раз (т.е. в составе конечного продукта должно оставаться не более 1×10^{-5} антигенных структур исходного субстрата). Достижение таких значений ОАГ невозможно без использования наряду с высокоактивными ферментами мембранных технологий (ультра- и нанофльтрации) и иммунохимических методов с чувствительностью, достаточной для уверенного определения в пептидных смесях остаточных количеств антигенных белковых структур. Недостатками таких гидролизатов являются горечь и высокая осмолярность, поэтому разработка технологических подходов для улучшения их органолептических свойств представляется важной задачей.

ОАГ частичных гидролизатов (или гидролизатов со средней степенью гидролиза) должна находиться в диапазоне 10^{-4} – 10^{-5} относительно исходного белка. Такие гидролизаты могут использоваться в составе специализированных пищевых продуктов диетического (лечебного и профилактического) назначения. Их органолептические свойства лучше (снижены горечь, осмолярность, они лучше растворимы в воде), чем у глубоких гидролизатов для гипоаллергенных продуктов и в производстве они менее затратные. В подавляющем большинстве случаев они также получены на основе белков коровьего молока.

Гидролизаты из других коммерчески доступных и имеющих высокую биологическую ценность (белки куриного яйца и сои) могут найти применение в составе специализированных пищевых продуктов для диетического (лечебного и профилактического) питания после разработки технологических схем ферментализации и последующих обработок, которые позволят снизить ОАГ таких продуктов до значений, соответствующих гидролизатам молочных белков. Они могут быть также перспективны в качестве добавок антимикробного, антигипертензивного и иммуномодулирующего действия в составе различных специализированных пищевых продуктов, а также в случаях пищевой непереносимости только к белкам коровьего молока. Однако решение таких задач требует дополнительных экспериментальных исследований.

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания на выполнение поисковых научных исследований по теме (№ 0529-2018-0113) «Развитие методической и нормативной базы для обеспечения современных требований к качеству пищевой продукции и разработка технологий оценки эффективности специализированных пищевых продуктов».

Конфликт интересов. Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Литература

1. Ногаллер А.М., Гушин И.С., Мазо В.К., Гмошинский И.В. Пищевая аллергия и непереносимость пищевых продуктов. М. : Медицина, 2008. 336 с.
2. Vandenplas Y., Abkari A., Bellaiche M., Benninga M., Chouraqui J.P. et al. Prevalence and health outcomes of functional gastrointestinal symptoms in infants from birth to 12 months of age // *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 2015. Vol. 61, N 5. P. 531–537.
3. van Tilburg M.A.L., Nyman P.E., Walker L., Rouster A. Prevalence of functional gastrointestinal disorders in infants and toddlers // *J. Pediatr.* 2015. Vol. 166, N 3. P. 684–689.
4. Балаболкин И.И. Современная концепция патогенеза и принципы терапии аллергических заболеваний у детей // Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского. 2003. Т. 82, № 4. С. 52–57.
5. Wahn U. Environmental factors facilitating allergic sensitization and atopic manifestation in early childhood // *Nutr. Res.* 1998. Vol. 18, N 8. P. 1363–1371.
6. Гмошинский И. В., Зилова И.С., Зорин С.Н., Демкина Е.Ю. Мембранные технологии—инновационный метод повышения биологической ценности белка для питания детей раннего возраста // *Вопр. соврем. педиатрии.* 2012. Т. 11, № 3. С. 57–64.
7. Уголев А.М. Теория адекватного питания и трофология. СПб. : Наука, 1991. 272 с.
8. Pellet P.L., Young V.R. Nutritional Evaluation of Protein Foods. The United Nation's University Hunger Programme. Food and Nutrition Bulletin. Tokyo : The United University, 1980. Suppl. 4. 154 p.
9. Protein Quality Evaluation. Rep. of Joint FAO/WHO Expert Consultation. FAO of UN. Rome, 1990. 66 p.
10. Chatterjee C., Gleddie S., Xiao C.W. Soybean bioactive peptides and their functional properties // *Nutrients.* 2018. Vol. 10, N 9. pii: E1211. doi: 10.3390/nu10091211
11. Christensen H.R., Brix S., Frokiaer H. Immune response in mice to ingested soya protein: antibody production, oral tolerance and maternal transfer // *Br. J. Nutr.* 2004. Vol. 91, N 5. P. 725–732.
12. Cantani A., Micera M. Immunogenicity of hydrolysate formulas in children (part 1): analysis of 202 reactions // *J. Investig. Allergol. Clin. Immunol.* 2000. Vol. 10, N 5. P. 261–276.
13. Cantani A., Micera M. Immunogenicity of hydrolysate formulas in children (part 2): 41 case reports // *J. Investig. Allergol. Clin. Immunol.* 2001. Vol. 11, N 1. P. 21–26.
14. Niggemann B., Binder C., Klettke U., Wahn U. In vivo and in vitro studies on the residual allergenicity of partially hydrolysed infant formulae // *Acta Paediatr.* 1999. Vol. 88, N 4. P. 394–398.
15. Rosendal A., Barkholt V. Detection of potentially allergenic material in 12 hydrolyzed milk formulas // *J. Dairy Sci.* 2000. Vol. 83, N 10. P. 2200–2210.
16. Егоров А.М, Осипов А.П., Дзантиев Б.Б., Гаврилов Е.М. Теория и практика иммуноферментного анализа. М. : Высшая школа, 1991. 288 с.
17. Зверева Е.А., Смирнова Н.И., Жердев А.В., Дзантиев Б.Б., Юрова Е.А. и др. Разработка методики определения бета-лактоглобулина в молоке и молочных продуктах с применением метода иммуноферментного анализа // *Соврем. пробл. науки и образования.* 2013. № 5. С. 477.
18. Круглик В.И., Зорин С.Н., Гмошинский И.В. и др. Способ получения ферментативного гидролизата сывороточных белков со средней степенью гидролиза: пат. RU 2375910 С1. Заявка: 2008122014/13, 03.06.2008; Опубли.: 20.12.2009. Бюл. № 35. 19 с.
19. Affolter M., Bureau-Franz I., Maynard F., Mercenier A., Panchaud A. Milk-based protein hydrolysates and infant formulae and nutritional compositions made thereof: pat. 9486004 США. 2016. Date of publication: 04.04.2012. Bulletin 2012/14. Application number: 10186222.5. Date of filing: 01.10.2010. 15 p.
20. Гидролизированные яичные белки; пат. RU 2460310 С2 / Фритче Родольф (CH), Скаллер Рафаэль (CH), Карту Изабель (2012). Заявка: 2009101021/10, 14.06.2007. Опубликовано: 10.09.2012 Бюл. № 25 Конвенционный приоритет: 15.06.2006 EP 06115545.3. 12 с.
21. Quintieri L., Monaci L., Baruzzi F., Giuffrida M.G. et al. Reduction of whey protein concentrate antigenicity by using a combined enzymatic digestion and ultrafiltration approach // *J. Food Sci. Technol.* 2017. Vol. 54, N 7. P. 1910–1916.
22. Docena G., Rozenfeld P., Fernández R., Fossati C.A. Evaluation of the residual antigenicity and allergenicity of cow's milk substitutes by in vitro tests // *Allergy.* 2002. Vol. 57, N 2. P. 83–91.
23. Круглик В.И., Зорин С.Н., Гмошинский И.В. и др. Способ получения гидролизата сывороточных белков с высокой степенью гидролиза: пат. RU 2428047 С1. Дата подачи заявки 19.02.2010; опубли.: 10.09.2011. Бюл. № 25. 20 с.
24. Свириденко Ю.Я., Абрамов Д.В., Мяконосов Д.С. и др. Способ производства гидролизата сывороточных белков с высокой степенью гидролиза и низкой остаточной антигенностью: пат. RU 2529707 С2. Дата подачи заявки: 28.12.2012: опубли.: 10.07.2014. Бюл. № 19. 16 с.
25. Остроумов Л.А., Бабич О.О., Миленьева И.С. Оценка состава и физико-химических свойств ферментативных гидролизатов казеина // *Вестн. Вост.-Сибир. гос. ун-та технологий и управления.* 2013. № 1 (40). С. 82–85.
26. Специализированные продукты питания для детей с различной патологией / под ред. К.С. Ладодо, Г.Ю. Сажина. М., 2000. 200 с.
27. Renz H., Herz U. Immune mechanisms of peripheral tolerance // *Nutr. Res.* 1998. Vol. 18, N 8. P. 1327–1333.
28. Fritsché R. Induction of oral tolerance to cow's milk proteins in rats fed with a whey protein hydrolysate // *Nutr. Res.* 1998. Vol. 18, N 8. P. 1335–1341.
29. Курченко В.П., Головач Т.Н., Круглик В.И., Харитонов В.Д., Агаркова Е.Ю. Снижение аллергенных свойств белков молока. Технологические подходы // *Мол. пром-сть.* 2012. №. 4. С. 73–75.
30. Головач Т.Н, Курченко В.П., Кравцова О.И., До Чунг Ши. Антигенные свойства и антирадикальная активность ферментативных гидролизатов белков молочной сыворотки // *Труды Белорусского государственного университета. Физиологические, биохимические и молекулярные основы функционирования биосистем.* 2014. Т. 9, ч. 1. С. 172–179.
31. Martinez S.B., Leary H.L. Jr, Nichols D.J. Milk protein partial hydrolysate and infant formula containing same: пат. 5405637 США. 1995. 6 с.
32. Szajewska H., Horvath A. A partially hydrolyzed 100% whey formula and the risk of eczema and any allergy: an updated meta-analysis // *World Allergy Organ. J.* 2017. Vol. 10, N 1. P. 27.
33. Zambrowicz A., Pokora M., Eckert E., Szołtyś M., Dąbrowska A., Chrzanowska J. et al. Antioxidant and antimicrobial activity of lecithin free egg yolk protein preparation hydrolysates obtained with digestive enzymes // *Funct. Foods Health Dis.* 2012. Vol. 2, N 12. P. 487–500.
34. Noh D.O., Suh H.J. Preparation of egg white liquid hydrolysate (ELH) and its radical-scavenging activity // *Prev. Nutr. Food Sci.* 2015. Vol. 20, N 3. P. 183–189.
35. Cho D.Y., Jo K., Cho S.Y., Kim J.M., Lim K., Suh H.J. et al. Antioxidant effect and functional properties of hydrolysates derived from egg-white protein // *Korean J. Food Sci. Anim. Resour.* 2014. Vol. 34, N 3. P. 362–371.
36. Jakovetić S., Luković N., Jugović B., Gvozdenović M., Grbavčić S. Production of antioxidant egg white hydrolysates in a continuous stirred tank enzyme reactor coupled with membrane separation unit // *Food Bioprocess Technol.* 2015. Vol. 8, N 2. P. 287–300.
37. Lule V.K., Garg S., Pophaly S.D., Tomar, S.K. Potential health benefits of lunasin: a multifaceted soy-derived bioactive peptide // *J. Food Sci.* 2015. Vol. 80. P. R485–R494.
38. Dia V.P., Bringe N.A., deMejia E.G. Peptides in pepsin-pancreatin hydrolysates from commercially available soy products that inhibit lipopolysaccharide-induced inflammation in macrophages // *Food Chem.* 2014. Vol. 152. P. 423–431.
39. Yoon G.A., Park S. Antioxidant action of soy isoflavones on oxidative stress and antioxidant enzyme activities in exercised rats // *Nutr. Res. Pract.* 2014. Vol. 8, N 6. P. 618–624. doi: 10.4162 / nrp.2014.8.6.618
40. Haque A., Hwang C.E., Lee H.Y., Ahn M.J., Sin E.C. Comparison of isoflavone contents and antioxidant effect in Cheonggukjang with black soybean cultivars by *Bacillus subtilis* CSY191 // *Korean J. Environ. Agric.* 2016. Vol. 35, N 1. P. 62–71.
41. Hrckova M., Rusnakova M., Zemanovic J. Enzymatic hydrolysis of defatted soy flour by three different proteases and their effect on

- the functional properties of resulting protein hydrolysates // *Czech J. Food Sci.* 2002. Vol. 20, N 1. P. 7–14.
42. Ney K.H. Bitterness of peptides: amino acid composition and chain length [Taste of foods] // *ACS Symposium series American Chemical Society.* 1979. P. 149–173.
 43. Kim M.R., Choi S.Y., Lee C.H. Molecular characterization and bitter taste formation of tryptic hydrolysis of 11S glycinin // *J. Microbiol. Biotechnol.* 1999. Vol. 9, N 4. P. 509–513.
 44. Won Yeom H.A.E., Kim K.S., Rhee J.S. Soy protein hydrolysate debittering by lysine-acetylation // *J. Food Sci.* 1994. Vol. 59, N 5. P. 1123–1126.
 45. Saha B.C., Hayashi K. Debittering of protein hydrolysates // *Biotechnol. Adv.* 2001. Vol. 19, N 5. P. 355–370.
 46. Xiaowei L., Deshou J., Devin G. P. Identification of bitter peptides in whey protein hydrolysate // *J. Agric. Food Chem.* 2014. Vol. 62, N 25. P. 5719–5725.
 47. Ying H., Changlu G., Zhengyu Y., Feng J., Jie J., Zhizhou Z. A proteome-based design of bitter peptide digestion regime to attenuate cod-bone soup bitterness: comparison with a rainbow trout extract-mediated bitter taste masking approach. doi: <https://doi.org/10.1101/279265>. bioRxiv preprint first posted online Mar. 21, 2018.
 48. Maehashi K., Huang L. Bitter peptides and bitter taste receptors // *Cell. Mol. Life Sci.* 2009. Vol. 66, N 10. P. 1661–1671. doi: 10.1007/s00018-009-8755-9.
 49. Saha B.C., Hayashi K. Debittering of protein hydrolysates // *Biotechnol. Adv.* 2001. Vol. 19, N 5. P. 355–370.
 50. Aubes-Dufau I., Combes D. Effect of different proteases on bitterness of hemoglobin hydrolysates // *Appl. Biochem. Biotechnol.* 1997. Vol. 67, N 1–2. P. 127–138.
 51. Tchobanov B., Marinova M., Grozeva L. Debittering of protein hydrolysates by Lactobacillus LBL-4 aminopeptidase // *Enzyme Res.* 2011. Vol. 2011. Article ID 538676. doi: 10.4061/2011/538676
 52. Izawa N., Tokuyasu K., Hayashi K. Debittering of protein hydrolysates using *Aeromonas caviae* aminopeptidase // *J. Agric. Food Chem.* 1997. Vol. 45, N 3. P. 543–545.
 53. Meinschmidt P., Schweiggert-Weisz U., Eisner P. Soy protein hydrolysates fermentation: Effect of debittering and degradation of major soy allergens // *LWT Food Sci. Technol.* 2016. Vol. 71. P. 202–212.
 54. Pedersen B. Removing bitterness from protein hydrolysates // *Food Technol.* 1994. Vol. 48, N 10. P. 67–98.
 55. Kiewiet M.B.G., Faas M.M., de Vos P. Immunomodulatory protein hydrolysates and their application // *Nutrients.* 2018. Vol. 10, N 7. P. 904. doi: 10.3390/nu10070904
 56. Chalamaiah M., Yu W., Wu J. Immunomodulatory and anticancer protein hydrolysates (peptides) from food proteins: a review // *Food Chem.* 2018. Vol. 245. P. 205–222.
 57. Ashaolu T.J., Yantiam N., Yupanqui C.T. Immunomodulatory effects of pepsin-educed soy protein hydrolysate in rats and murine cells // *Funct. Foods Health Dis.* 2017. Vol. 7, N 11. P. 889–900.
 58. Kong X., Guo M., Hua Y., Cao D., Zhang C. Enzymatic preparation of immunomodulating hydrolysates from soy proteins // *Bioresour. Technol.* 2008. Vol. 99, N 18. P. 8873–8879.
 59. Lozano-Ojalvo D., Molina E., López-Fandiño R. Hydrolysates of egg white proteins modulate T-and B-cell responses in mitogen-stimulated murine cells // *Food Funct.* 2016. Vol. 7, N 2. P. 1048–1056.
 60. Mine Y., Lee M., Kovacs-Nolan J., Archbold T. Therapeutic potential of hen egg white peptides for the treatment of intestinal inflammation // *J. Funct. Foods.* 2009. Vol. 1, N 2. P. 161–169.
 61. Egusa S., Otani H. Soybean protein fraction digested with neutral protease preparation, «Peptidase R», produced by *Rhizopus oryzae*, stimulates innate cellular immune system in mouse // *Int. Immunopharmacol.* 2009. Vol. 9, N 7–8. P. 931–936.
 62. Kiewiet M.B.G., van Esch B.C., Garssen A.M., Faas J.M., de Vos P. Partially hydrolyzed whey proteins prevent clinical symptoms in a cow's milk allergy mouse model and enhance regulatory T and B cell frequencies // *Mol. Nutr. Food Res.* 2017. Vol. 61, N 11. Article ID 1700340.
 63. Meulenbroek L.A., van Esch B.C., Hofman G.A., den Hartog Jager C.F., Nauta A.J. et al. Oral treatment with β -lactoglobulin peptides prevents clinical symptoms in a mouse model for cow's milk allergy // *Pediatr. Allergy Immunol.* 2013. Vol. 24, N 7. P. 656–664.
 64. Pan D.D., Wu Z., Liu J., Cao X.Y., Zeng X.Q. Immunomodulatory and hypoallergenic properties of milk protein hydrolysates in ICR mice // *J. Dairy Sci.* 2013. Vol. 96, N 8. P. 4958–4964.
 65. Kiewiet M.B.G., Faas M.M., de Vos P. Immunomodulating protein aggregates in soy and whey hydrolysates and their resistance to digestion in an in vitro infant gastrointestinal model: new insights in the mechanism of immunomodulatory hydrolysates // *Food Funct.* 2018. Vol. 9, N 1. P. 604–613.

References

1. Nogaller A.M., Gushchin I.S., Mazo V.K., Gmshinsky I.V. Food allergy and food intolerance. Moscow: Meditsina, 2008. 336 p. (in Russian)
2. Vandenas Y., Abkari A., Bellaiche M., Benninga M., Chourraqui J.P., et al. Prevalence and health outcomes of functional gastrointestinal symptoms in infants from birth to 12 months of age. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 2015; 61 (5): 531–7.
3. van Tilburg M.A.L., Hyman P.E., Walker L., Rouster A. Prevalence of functional gastrointestinal disorders in infants and toddlers. *J. Pediatr.* 2015; 166 (3): 684–9.
4. Balabolkin I.I. The modern concept of pathogenesis and principles of treatment of allergic diseases in children. *Pediatriya. Zhurnal im. G.N. Speranskogo* [Pediatrics. Journal named after G.N. Speransky]. 2003; 82 (4): 52–7. (in Russian)
5. Wahn U. Environmental factors facilitating allergic sensitization and atopic manifestation in early childhood. *Nutr. Res.* 1998; 18 (8): 1363–71.
6. Gmshinsky I.V., Zilova I.S., Zorin S.N., Demkina E.U. Membrane technologies — an innovative method for increasing the biological value of protein for nutrition of young children. *Voprosy sovremennoy pediatrii* [Problems of Modern Pediatrics]. 2012; 11 (3): 57–64. (in Russian)
7. Ugolev A.M. The theory of adequate nutrition and trophology. Saint Petersburg: Nauka, 1991. 272 p. (in Russian)
8. Pellet P.L., Young V.R. Nutritional Evaluation of Protein Foods. The United Nation's University Hunger Programme. Food and Nutrition Bulletin. Tokyo: The United University, 1980; 4: 154 p.
9. Protein Quality Evaluation. Rep. of Joint FAO/WHO Expert Consultation. FAO of UN. Rome, 1990: 66 p.
10. Chatterjee C., Gleddie S., Xiao C.W. Soybean bioactive peptides and their functional properties. *Nutrients.* 2018; 10 (9). pii: E1211. doi: 10.3390/nu10091211
11. Christensen H.R., Brix S., Frokiaer H. Immune response in mice to ingested soya protein: antibody production, oral tolerance and maternal transfer. *Br J Nutr.* 2004; 91 (5): 725–32.
12. Cantani A., Micera M. Immunogenicity of hydrolysate formulas in children (part 1): analysis of 202 reactions. *J. Investig Allergol Clin Immunol.* 2000; 10 (5): 261–76.
13. Cantani A., Micera M. Immunogenicity of hydrolysate formulas in children (part 2): 41 case reports. *J. Investig Allergol Clin Immunol.* 2001; 11 (1): 21–6.
14. Niggemann B., Binder C., Klettke U., Wahn U. In vivo and in vitro studies on the residual allergenicity of partially hydrolysed infant formulae. *Acta Paediatr.* 1999; 88 (4): 394–8.
15. Rosendal A., Barkholt V. Detection of potentially allergenic material in 12 hydrolyzed milk formulas. *J. Dairy Sci.* 2000; 83 (10): 2200–10.
16. Egorov A.M., Osipov A.P., Dzantiyev B.B., Gavrilo E.M. Theory and practice of enzyme immunoassay. Moscow: Visshaya shkola, 1991: 288 p. (in Russian)
17. Zvereva E.A., Smirnova N.I., Zherdev A.V., Dzantiyev B.B., Yurova E.A., et al. Developing a method for determining beta-lactoglobulin in milk and dairy products using an enzyme immunoassay method. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya* [Modern Problems of Science and Education]. 2013; 5: 477. (in Russian)
18. Kruglik V.I., Zorin S.N., Gmshinsky I.V., et al. A method for producing an enzymatic hydrolyzate of whey proteins with an average degree of hydrolysis: Pat. RU 2375910 C1. Appl.: 2008122014/13, 03.06.2008; Publ.: December 20, 2009. Bull. No. 35. 19 p. (in Russian)
19. Affolter M., Bureau-Franz I., Maynard F., Mercenier A., Panchaud A. Milk-based protein hydrolysates and infant formula and nutritional compositions made: Pat. 9486004 United States. 2016. Publ.: 04.04.2012. Bull. 2012/14. Appl.: 10186222.5. Filing: 10.01.2010. 15 p.

20. Hydrolyzed egg whites: Pat RU 2460310 C2 / Fritsche Rodolphe (CH), Scaller Raphael (CH), Map Isabel (2012). Appl.: 2009101021/10, 14.06.2007. Publ.: 10.09.2012. Bull. No. 25 Convention priority: 15.06.2006 EP 06115545.3. 12 p.
21. Quintieri L., Monaci L., Baruzzi F., Giuffrida M.G. et al. Reduction of whey protein concentrate antigenicity by using a combined enzymatic digestion and ultrafiltration approach. *J Food Sci Technol*. 2017; 54 (7): 1910–6.
22. Docena G., Rozenfeld P., Fernández R., Fossati C.A. Evaluation of the residual antigenicity and allergenicity of cow's milk substitutes by in vitro tests. *Allergy*. 2002; 57 (2): 83–91.
23. Kruglik V.I., Zorin S.N., Gmshinsky I.V., et al. A method for producing a hydrolyzate of whey proteins with a high degree of hydrolysis: Pat RU 2428047 C1. Application submission: 19.02.2010; publ.: 10.09.2011. Bull. No. 25. 20 p. (in Russian)
24. Sviridenko Yu. Ya., Abramov D.V., Myagkonosov D.S., et al. Method for the production of whey protein hydrolyzate with a high degree of hydrolysis and low residual antigenicity: Pat. RU 2529707 C2. Filing: 28.12.2012; Publ.: 10.07.2014. Bul. No. 19. 16 p. (in Russian)
25. Ostroumov L.A., Babich O.O., Milentyeva I.S. Evaluation of the composition and physicochemical properties of enzymatic casein hydrolysates. *Vestnik Vostochno-Sibirskogo gosudarstvennogo universiteta tekhnologii i upravleniia [Bulletin of the East Siberian State University of Technology and Management]*. 2013; 1 (40): 82–5. (in Russian)
26. Specialized foods for children with various pathologies. Edited by K.S.Ladodo, G.Yu.Sazhinov. Moscow, 2000: 200 p. (in Russian)
27. Renz H., Herz U. Immune mechanisms of peripheral tolerance. *Nutr Res*. 1998; 18 (8): 1327–33.
28. Fritsché R. Induction of oral tolerance to cow's milk proteins in rats fed with a whey protein hydrolysate. *Nutr Res*. 1998; 18 (8): 1335–41.
29. Kurchenko V.P., Golovach T.N., Kruglik I.I., Kharitonov V.D., Agarkova E.Yu., et al. Reducing the allergenic properties of milk proteins. Technological approaches. *Molochnaya promyshlennost' [Dairy Industry]*. 2012; (4): 73–5. (in Russian)
30. Golovach T.N., Kurchenko V.P., Kravtsova O.I., Do Chung Shi. Antigenic properties and antiradical activity of enzymatic hydrolysates of whey proteins. In: *Proceedings of the Belarusian State University. Physiological, biochemical and molecular bases of the functioning of biosystems*. 2014; 9 (pt 1): 172–9. (in Russian)
31. Martinez S.B., Leary H.L. Jr, Nichols D.J. Milk protein partial hydrolysate and infant formula containing same: Pat. US 5405637. 1995. 6 p.
32. Szajewska H., Horvath A. A partially hydrolyzed 100% whey formula and the risk of eczema and any allergy: an updated meta-analysis. *World Allergy Organ J*. 2017; 10 (1): 27.
33. Zambrowicz A., Pokora M., Eckert E., Szołtyś M., Dąbrowska A., Chrzanoska J., et al. Antioxidant and antimicrobial activity of lecithin free egg yolk protein preparation hydrolysates obtained with digestive enzymes. *Funct Foods Health Dis*. 2012; 2 (12): 487–500.
34. Noh D.O., Suh H.J. Preparation of egg white liquid hydrolysate (ELH) and its radical-scavenging activity. *Prev Nutr Food Sci*. 2015; 20 (3): 183–9.
35. Cho D.Y., Jo K., Cho S.Y., Kim J.M., Lim K., Suh H.J., et al. Antioxidant effect and functional properties of hydrolysates derived from egg-white protein. *Korean J Food Sci Anim Resour*. 2014; 34 (3): 362–71.
36. Jakovetić S., Luković N., Jugović B., Gvozdenović M., Grbavčić S. Production of antioxidant egg white hydrolysates in a continuous stirred tank enzyme reactor coupled with membrane separation unit. *Food Bioprocess Technol*. 2015; 8 (2): 287–300.
37. Lule V.K., Garg S., Pophaly S.D., Tomar, S.K. Potential health benefits of lunasin: a multifaceted soy-derived bioactive peptide. *J Food Sci*. 2015; 80: R485–94.
38. Dia V.P., Bringe N.A., deMejia E.G. Peptides in pepsin-pancreatin hydrolysates from commercially available soy products that inhibit lipopolysaccharide-induced inflammation in macrophages. *Food Chem*. 2014; 152: 423–31.
39. Yoon G.A., Park S. Antioxidant action of soy isoflavones on oxidative stress and antioxidant enzyme activities in exercised rats. *Nutr Res Pract*. 2014; 8 (6): 618–24. doi: 10.4162/nrp.2014.8.6.618
40. Haque A., Hwang C.E., Lee H.Y., Ahn M.J., Sin E.C. Comparison of isoflavone contents and antioxidant effect in Cheonggukjang with black soybean cultivars by *Bacillus subtilis* CSY191. *Korean J Environ Agric*. 2016; 35 (1): 62–71.
41. Hrečkova M., Rusnakova M., Zemanovic J. Enzymatic hydrolysis of defatted soy flour by three different proteases and their effect on the functional properties of resulting protein hydrolysates. *Czech J Food Sci*. 2002; 20 (1): 7–14.
42. Ney K.H. Bitterness of peptides: amino acid composition and chain length [Taste of foods]. In: *ACS Symposium series American Chemical Society*. 1979: 149–73.
43. Kim M.R., Choi S.Y., Lee C.H. Molecular characterization and bitter taste formation of tryptic hydrolysis of 11S glycinin. *J Microbiol Biotechnol*. 1999; 9 (4): 509–13.
44. Won Yeom H.A.E., Kim K.S., Rhee J.S. Soy protein hydrolysate debittering by lysine-acetylation. *J Food Sci*. 1994; 59 (5): 1123–6.
45. Saha B.C., Hayashi K. Debittering of protein hydrolysates. *Biotechnol Adv*. 2001; 19 (5): 355–70.
46. Xiaowei L., Deshou J., Devin G. P. Identification of bitter peptides in whey protein hydrolysate. *J Agric Food Chem*. 2014; 62 (25): 5719–25.
47. Ying H., Changlu G., Zhengyu Y., Feng J., Jie J., Zhizhou Z. A proteome-based design of bitter peptide digestion regime to attenuate cod-bone soup bitterness: comparison with a rainbow trout extract-mediated bitter taste masking approach. doi: <https://doi.org/10.1101/279265>. bioRxiv preprint first posted online Mar. 21, 2018.
48. Maehashi K., Huang L. Bitter peptides and bitter taste receptors. *Cell Mol Life Sci*. 2009; 66 (10): 1661–71. doi: 10.1007/s00018-009-8755-9
49. Saha B.C., Hayashi K. Debittering of protein hydrolysates. *Biotechnol Adv*. 2001; 19 (5): 355–70.
50. Aubes-Dufau I., Combes D. Effect of different proteases on bitterness of hemoglobin hydrolysates. *Appl Biochem Biotechnol*. 1997; 67 (1–2): 127–38.
51. Tchobanov B., Marinova M., Grozeva L. Debittering of protein hydrolysates by *Lactobacillus* LBL-4 aminopeptidase. *Enzyme Res*. 2011; 2011: 538676. doi: 10.4061/2011/538676
52. Izawa N., Tokuyasu K., Hayashi K. Debittering of protein hydrolysates using *Aeromonas caviae* aminopeptidase. *J Agric Food Chem*. 1997; 45 (3): 543–5.
53. Meinschmidt P., Schweiggert-Weisz U., Eisner P. Soy protein hydrolysates fermentation: Effect of debittering and degradation of major soy allergens. *LWT Food Sci Technol*. 2016; 71: 202–12.
54. Pedersen B. Removing bitterness from protein hydrolysates. *Food Technol*. 1994; 48 (10): 67–98.
55. Kiewiet M.B.G., Faas M.M., de Vos P. Immunomodulatory protein hydrolysates and their application. *Nutrients*. 2018; 10 (7): 904. doi: 10.3390/nu10070904
56. Chalamaiah M., Yu W., Wu J. Immunomodulatory and anticancer protein hydrolysates (peptides) from food proteins: a review. *Food Chem*. 2018; 245: 205–22.
57. Ashaolu T.J., Yantiam N., Yupanqui C.T. Immunomodulatory effects of pepsin-educed soy protein hydrolysate in rats and murine cells. *Funct Foods Health Dis*. 2017; 7 (11): 889–900.
58. Kong X., Guo M., Hua Y., Cao D., Zhang C. Enzymatic preparation of immunomodulating hydrolysates from soy proteins. *Bioreour Technol*. 2008; 99 (18): 8873–9.
59. Lozano-Ojalvo D., Molina E., López-Fandiño R. Hydrolysates of egg white proteins modulate T- and B-cell responses in mitogen-stimulated murine cells. *Food Funct*. 2016; 7 (2): 1048–56.
60. Mine Y., Lee M., Kovacs-Nolan J., Archbold T. Therapeutic potential of hen egg white peptides for the treatment of intestinal inflammation. *J Funct Foods*. 2009; 1 (2): 161–9.
61. Egusa S., Otani H. Soybean protein fraction digested with neutral protease preparation, «Peptidase R», produced by *Rhizopus oryzae*, stimulates innate cellular immune system in mouse. *Int Immunopharmacol*. 2009; 9 (7–8): 931–6.
62. Kiewiet M.B.G., van Esch B.C., Garssen A.M., Faas J.M., de Vos P. Partially hydrolyzed whey proteins prevent clinical symptoms in a cow's milk allergy mouse model and enhance regulatory T and B cell frequencies. *Mol Nutr Food Res*. 2017; 61 (11): 1700340.
63. Meulenbroek L.A., van Esch B.C., Hofman G.A., den Hartog Jager C.F., Nauta A.J., et al. Oral treatment with β -lactoglobulin peptides prevents clinical symptoms in a mouse model for cow's milk allergy. *Pediatr Allergy Immunol*. 2013; 24 (7): 656–64.
64. Pan D.D., Wu Z., Liu J., Cao X.Y., Zeng X.Q. Immunomodulatory and hypoallergenic properties of milk protein hydrolysates in ICR mice. *J Dairy Sci*. 2013; 96 (8): 4958–64.
65. Kiewiet M.B.G., Faas M.M., de Vos P. Immunomodulating protein aggregates in soy and whey hydrolysates and their resistance to digestion in an in vitro infant gastrointestinal model: new insights in the mechanism of immunomodulatory hydrolysates. *Food Funct* 2018; 9 (1): 604–13.

Для корреспонденции

Юшина Юлия Константиновна – кандидат технических наук, заведующая лабораторией «Гигиена производства и микробиология» ФГБНУ «Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН
 Адрес: 109316, Россия, г. Москва, ул. Талалихина, д. 26
 Телефон: (495) 676-95-11
 E-mail: Yu.yushina@fncps.ru
<https://orcid.org/0000-0001-9265-5511>

Тутельян А.В.¹⁻³, Юшина Ю.К.⁴, Соколова О.В.⁴, Батаева Д.С.⁴, Фесюн А.Д.⁵, Датий А.В.⁵

Образование биологических пленок микроорганизмов на пищевых производствах

Formation of biological films by microorganisms in food productions

Tutelyan A.V.¹⁻³, Yushina Yu.K.⁴, Sokolova O.V.⁴, Bataeva D.S.⁴, Fesyun A.D.⁵, Datiy A.V.⁵

- 1 ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Роспотребнадзора, Москва, Россия
- 2 ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Д. Рогачева» Минздрава России, Москва, Россия
- 3 ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский университет), Москва, Россия
- 4 ФГБНУ «Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН, Москва, Россия
- 5 ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр реабилитации и курортологии» Минздрава России, Москва, Россия
- 1 Central Research Institute of Epidemiology of the Russian Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Moscow, Russia
- 2 Dmitry Rogachev National Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology of Ministry of Health of Russian Federation, Moscow, Russia
- 3 I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia
- 4 V.M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems of RAS, Moscow, Russia
- 5 National Medical Research Center for Rehabilitation and Balneology of the Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia

Цель данного обзора – анализ проблемы био пленкообразования патогенными бактериями на предприятиях пищевой промышленности и рисков, связанных с этим явлением.

Рассмотрены аспекты формирования био пленок патогенными микроорганизмами на предприятиях пищевой промышленности с точки зрения потенци-

Для цитирования: Тутельян А.В., Юшина Ю.К., Соколова О.В., Батаева Д.С., Фесюн А.Д., Датий А.В. Образование биологических пленок микроорганизмов на пищевых производствах // *Вопросы питания*. 2019. Т. 88, № 3. С. 32–43. doi: 10.24411/0042-8833-2019-10027.

Статья поступила в редакцию 06.03.2019. **Принята в печать** 20.05.2019.

For citation: Tutelyan A.V., Yushina Yu.K., Sokolova O.V., Bataeva D.S., Fesyun A.D., Datiy A.V. Formation of biological films by microorganisms in food productions. *Voprosy pitaniia* [Problems of Nutrition]. 2019; 88 (3): 32–43. doi: 10.24411/0042-8833-2019-10027. (in Russian)

Received 06.03.2019. **Accepted** 20.05.2019.

альной опасности заражения и колонизации перерабатывающих предприятий биопленкообразующими штаммами. Биопленки являются предпочтительной формой существования бактерий. Известно, что бактерии в состоянии биопленки защищены от неблагоприятных факторов внешней среды и антибактериальных веществ, они часто устойчивы к стандартным процедурам очистки и дезинфекции. Образование биопленок на биотических и абиотических поверхностях является потенциальной опасностью, способствуя постоянной циркуляции патогенов в условиях пищевых производств и контаминации пищевой продукции. Проблема биопленкообразования характерна для всех пищевых предприятий.

Ключевые слова: пищевые продукты, технологическое оборудование, патогенные бактерии, биологические пленки, здоровье

The aim of this review is to analyze the problem of biofilm formation by pathogenic bacteria in food enterprises and the risks associated with this phenomenon.

The aspects of the formation of biofilms by pathogenic microorganisms at food industry enterprises have been considered from the point of view of the potential danger of infection and colonization of processing plants by biofilm-forming strains. Biofilms are the preferred form of bacteria existence. It is known that bacteria in a state of biofilm are protected from adverse environmental factors and antibacterial substances, they are often resistant to standard cleaning and disinfection procedures. The formation of biofilms on biotic and abiotic surfaces is a potential hazard, contributing to the constant circulation of pathogens in the conditions of food production and contamination of foods. The problem of biofilm formation is characteristic of all food enterprises.

Keywords: food products, technological equipment, pathogenic bacteria, biofilms, health

Во всем мире регистрируются вспышки инфекций, вызванные пищевыми патогенами. В нашей стране частота обнаружения пищевых патогенов, в том числе *Listeria monocytogenes*, *Salmonella*, в сырье, полученном от сельскохозяйственных животных и птицы, свидетельствует о значительной циркуляции патогенов на перерабатывающих предприятиях и о высоких рисках контаминации ими пищевых продуктов.

Полученные результаты доказывают наличие благоприятных условий на предприятиях пищевой промышленности для выживания патогенных микроорганизмов и потенциальную опасность пищевых продуктов. Кроме того, использование интенсивных технологий при выращивании сельскохозяйственных животных, плохо контролируемое использование антибактериальных препаратов и химиотерапевтических средств, низкие санитарные условия получения, первичной обработки и хранения сырья становятся основной причиной появления устойчивых форм патогенных микроорганизмов, обладающих множественными факторами патогенности и антибиотикорезистентностью. Такие штаммы, как правило, способны к формированию биопленок и переходу в некультивируемые формы.

Идентификация основных путей распространения микроорганизмов на предприятиях пищевой промышленности и отслеживание механизмов колонизации ими пищевых предприятий имеют важное эпидемиологическое значение для предотвращения контаминации продуктов пищевыми патогенами.

В настоящее время тот факт, что популяции бактерий существуют на биотических и абиотических поверхностях в основном (99% бактерий) в состоянии

биологических пленок, широко обсуждается во всем мире. Известно, что бактерии в состоянии биопленки защищены от неблагоприятных факторов внешней среды и антибактериальных веществ. Однако при проведении санитарных мероприятий на перерабатывающих предприятиях абсолютно не учитывается тот факт, что бактерии на различных абиотических поверхностях находятся в состоянии биопленок, в результате чего контроль наличия патогенов часто неэффективен.

Некоторые патогены (например, *L. monocytogenes*) обладают способностью к адгезии с последующим формированием биопленок, которые, как известно, повышают устойчивость клеток к дезинфицирующим средствам или препятствуют физическому удалению микроорганизмов с обрабатываемых поверхностей.

Изучение способности возбудителей пищевых токсикоинфекций формировать биопленки и переходить в некультивируемое состояние представляет огромный интерес для совершенствования контроля производства безопасной пищевой продукции.

Цель данного обзора – анализ проблемы биопленкообразования патогенными бактериями на предприятиях пищевой промышленности и рисков, связанных с этим явлением.

Микроорганизмы образуют биопленки как на биотических, так и на абиотических поверхностях [1]. Для пищевой отрасли наиболее опасное явление – развитие биопленок на абиотических поверхностях. Большинство основного и вспомогательного оборудования на предприятиях пищевой отрасли имеет абиотическую поверхность, зачастую шероховатую или по-

ристую, со стыками, швами и прочими труднодоступными участками, т.е. имеются хорошие условия для локализации биопленок, образованных микроорганизмами [2–4].

В отличие от планктонных клеток биопленки устойчивы к воздействиям дезинфицирующих средств [5, 6]. Исследования последних лет доказывают, что способность патогенов образовывать биопленки взаимосвязана с их антибиотикорезистентностью [7–9]. Более того, гены толерантности микроорганизмов играют существенную роль в механизме формирования биопленок [10].

Явление биопленкообразования было открыто в середине 1980-х гг. [11–13], при этом концепция бактериальных биопленок впервые сформулирована в 1923 г. в США [14]. Свойство образования биопленок сначала относили только к водным микроорганизмам. Однако в течение последующих лет исследований биопленок было доказано, что биопленкообразование присуще большому количеству патогенных и условно-патогенных микроорганизмов [15–17], а некоторые исследователи из Китая позиционируют биопленкообразование как фактор патогенности [18].

Изначально микробные биопленки позиционировали как механизм, позволяющий выживать бактериям в сложных условиях. Однако последние исследования указывают на то, что биопленки являются естественной формой существования микробов, в то время как планктонные (свободноживущие) формы представляют собой промежуточную стадию [19].

Наиболее сложной и малоизученной стадией называют высвобождение планктонных культур из биопленки (дисперсия). Ряд исследователей предполагают, что причинами разрушения биопленок и дисперсии микроорганизмов являются как внешние факторы, так и внутренние, к которым относится энзиматическая деградация, происходящая в результате снижения количества необходимых для развития микроорганизмов веществ, после чего они переходят в планктонное состояние [20–23].

Из вышесказанного следует, что совокупность особенностей формирования биопленок позволяет патогенным микроорганизмам прикрепляться и образовывать матрикс на любых поверхностях, в том числе на поверхностях пищевых продуктов, оборудования пищевых производств и упаковочных материалов.

Кроме того, бактерии, находящиеся в форме биологических пленок, при достижении определенной плотности начинают обмениваться между собой сигналами [23–26]. Это свойство, называемое Quorum sensing («чувство кворума»), позволяет одноклеточным микроорганизмам проявлять свойства многоклеточных организмов и создавать сообщества внутри одного каркаса биопленки. Биопленка, образованная одним видом микроорганизмов, например непатогенным, может содержать патогенный штамм, что в свою очередь способствует выживаемости последнего [27].

Так, виду протеобактерий *Ralstonia insidiosa*, обитающему в окружающей среде (речная и прудовая вода,

почва, системы водораспределения, предприятия по переработке свежесрезанных растительных продуктов), свойственна высокая способность к образованию биопленок, обладающих свойствами «мостиковой бактерии», приводящих к включению нескольких пищевых бактериальных патогенов в биологические пленки. При совместном культивировании с *R. insidiosa* количество *E. coli* O157: H7, *L. monocytogenes* в биопленках значительно увеличивается при различных условиях испытаний [28].

Температурный диапазон, оптимальный для процесса образования биологических пленок, до сих пор не является общепризнанным и постоянно обсуждается. Так, по данным одних авторов [29, 30], формирование биопленок происходит наиболее интенсивно при температурах от 8 до 37 °С. Другие же исследователи [31], наоборот, отмечают, что интенсивное биопленкообразование происходит лишь в интервале от 15 до 37 °С, а при температуре ниже 10 °С биопленкообразования не происходит.

При этом все авторы сходятся во мнении, что температура активного формирования биопленок зависит от вида биопленкообразующего микроорганизма и поверхности, на которой происходит адгезия.

Тем не менее многочисленные зарубежные исследования доказывают, что температуры, применяемые при производстве пищевых продуктов (в большинстве случаев низкие положительные), не являются ограничением для образования биопленок микроорганизмами на объектах производственной среды пищевых предприятий.

Ряд исследователей предполагают, что биопленки образуются непосредственно в пищевых продуктах [32–34].

Формирование биопленки сопровождается образованием экзополисахаридного матрикса, который вырабатывается самими клетками и является базовым структурным компонентом биопленки. Экзопполисахаридный матрикс составляет порядка 85% массы биопленки, а бактерии – 15% [35, 36].

Цикл биопленкообразования описан в многочисленных исследованиях и представляет собой 5-ступенчатый процесс:

1. Первичное прикрепление микроорганизмов к поверхности (адгезия, адсорбция) из окружающей среды (обычно жидкости). Эта стадия обратима.

2. Окончательное (необратимое) прикрепление, иначе называемое фиксацией. На этой стадии бактерии выделяют внеклеточные полимеры, обеспечивающие прочную адгезию.

3. Созревание. Клетки, прикрепившиеся к поверхности, облегчают прикрепление последующих клеток, внеклеточный матрикс удерживает вместе всю колонию. Накапливаются питательные вещества, клетки начинают делиться.

4. Рост. Образована зрелая биопленка, и теперь она изменяет свои размер и форму. Внеклеточный матрикс служит защитой клеток от внешних угроз.

5. Дисперсия (выброс бактерий). В результате деления от биопленки периодически отрываются отдельные клетки, способные через некоторое время прикрепиться к поверхности и образовать новую колонию.

Важным условием для образования биопленки является наличие у бактерий жгутиков и пилей, обеспечивающих их подвижность. Ключевым фактором образования биопленки является адгезия, или прикрепление бактерий к различным поверхностям [37].

В результате жизнедеятельности нескольких микроорганизмов происходит «сливание» и уплотнение экзополисахаридных образований, т.е. созревание биопленки. В зрелой биопленке микроорганизмы долгое время могут существовать, не проявляя активность. Стадия дисперсии микроорганизмов при разрушении биопленки наступает при образовании клетками ферментов, т.е. из биопленок выходят планктонные клетки, которые образуют новые биопленки. Таким образом, цикл образования биопленок повторяется [38].

Для мясоперерабатывающей отрасли биопленки представляют колоссальную опасность в связи с тем, что мясо, в том числе мясной сок, содержит большое количество питательных веществ и является идеальной средой для размножения большинства микроорганизмов [39, 40], а также инициирует биопленкообразование [41].

Биопленки образуются на поверхностях основного и вспомогательного оборудования [42, 43]. Хотя температура производственных помещений мясоперерабатывающих производств, как правило, поддерживается не выше 12 °С [44, 45], этого оказывается вполне достаточно для активного формирования биологических пленок, и риск их возникновения на мясоперерабатывающих предприятиях значительно повышается. В случаях если биопленки образуются в труднодоступных местах технологического оборудования, они могут стать постоянным источником контаминации [46].

В ряде случаев образование биопленок ассоциировано с процессами порчи мясной продукции [47].

Устойчивость к антимикробным препаратам усугубляет опасность биопленкообразующих патогенов. Опасность биопленок состоит в том, что их прикрепление может происходить как на поверхностях оборудования, пищевых продуктов или полуфабрикатов, так и на слизистых оболочках кишечника, вызывая клинические проявления инфекций [51, 52].

Так, в 2012 г. в Индии были проведены исследования, в результате которых установлено, что у штаммов *E. coli*, вызвавших вспышку геморрагической диареи у детей, образование биопленки связано с несколькими генами вирулентности. Важной характеристикой патогенности штаммов является быстрая возможность микроорганизмов образовывать зрелую биопленку [53].

В Бразилии проведено исследование по определению биопленкообразования бактерий – возбудителей диареи, которыми являлись *E. coli*. Выделенные изоляты обладали способностью образовывать биопленки. При этом образование биопленок ингибировалось в присутствии цинка [54].

Исследования, проведенные совместно сербскими и английскими учеными [55], продемонстрировали особенности и пути перекрестной контаминации мясных продуктов патогенными листериями. В результате исследованы 240 смывов из различных производственных зон мясоперерабатывающего предприятия, в 53 были идентифицированы бактерии рода *Listeria*. Они были обнаружены на линиях убоя, обвалки, нарезки, упаковки, зоны отгрузки, холодильных камерах, на поверхности трапов цеха упаковки в условиях модифицированной газовой атмосферы. 8 штаммов идентифицированы как *Listeria monocytogenes*. Молекулярное генотипирование с использованием полногеномного секвенирования показало, что эти изоляты *L. monocytogenes* были представлены тремя разными серотипами. Кроме того, все изученные изоляты обладали способностью к биопленкообразованию. Следует отметить, что наиболее выраженным биопленкообразованием обладал штамм, выделенный из смыва с каркасной пилы, в то время как наиболее слабое биопленкообразование было отмечено у штамма *L. monocytogenes*, выделенного из трапа зоны упаковки в модифицированной газовой атмосфере.

Можно предположить, что формирование биопленки более интенсивно протекало под воздействием неблагоприятных факторов внешней среды, совокупность которых в цехе убоя выше, чем на окончательной стадии технологического процесса при упаковке продукции.

В целом *L. monocytogenes*, обладавшие способностью к биопленкообразованию, выделенные из смывов с линии убоя, были генетически аналогичны изолятам, полученным в смывах в зоне упаковки в МГА, холодильных камерах и зоне отгрузки.

Таким образом, попадание *L. monocytogenes*, обладающих способностью к биопленкообразованию, в начале переработки мяса приводит к контаминации всей производственной цепочки.

Для птицеперерабатывающей отрасли микроорганизмы рода *Salmonella* являются доминирующими контаминантами продуктов переработки мяса птицы. Их способность образовывать биопленки не только при переработке, но и на птицефермах представляет серьезную эпидемиологическую проблему.

Выделенные с объектов птицеперерабатывающих предприятий более 40 штаммов и идентифицированные как *Salmonella typhimurium*, *Salmonella enteritidis* и *Salmonella typhi* в большинстве своем обладали биопленкообразующими свойствами [56]. Исследователи из Китая в своих работах доказали, что большое значение в образовании биопленок играет последовательность обвалки тушек, а также вид упаковки [48]. В настоящее время основной упор исследователи делают на обнаружение биопленок сальмонелл в целях предотвращения контаминации [49]. В результате исследования биопленкообразующей способности бактерий рода *Arcobacter*, выделенных из птицы, оказалось, что более двух третей выделенных штаммов обладают свойством образовывать биопленки [50].

В ряде исследований была определена генетическая взаимосвязь между биопленкообразованием и антибиотикорезистентностью *Salmonella* spp., т.е. с большей долей вероятности биопленки образуют микроорганизмы, обладающие устойчивостью к антибиотикам [58].

На птицеперерабатывающих предприятиях в качестве биопленкообразующих микроорганизмов стоит рассматривать бактерии рода *Campylobacter* [60–61]. Более половины идентифицированных кампилобактерий, выделенных из продуктов переработки птицы в 2017 г. корейскими исследователями, обладали свойством образовывать биопленки [62]. Согласно исследованиям, проведенным в ряде нигерийских университетов, биопленкообразующие штаммы *Campylobacter* обнаруживаются практически на всех объектах производственной среды птицеперерабатывающих предприятий (пол, столы, мойка и т.д.), а также в сточных водах [63]. Результаты исследований, полученные российскими учеными, также свидетельствуют о высокой циркуляции биопленкообразующих штаммов *Campylobacter* в условиях птицеперерабатывающих предприятий РФ [64].

Согласно отчетам исследовательской группы Campden BRI в рамках проекта № 123483, биопленкообразующие кампилобактерии являются наиболее распространенной причиной проявления пищевых токсикоинфекций с гастроэнтеритом. Так, например, в Великобритании ежегодно регистрируют около 321 тыс. случаев кампилобактериоза. Исследования доказали, что причиной перекрестного загрязнения пищевых продуктов является образование биопленок [65].

Для **молочной промышленности** проблема биопленкообразующих микроорганизмов начинается с этапа получения молока. Оборудование, используемое на молокоперерабатывающих предприятиях, имеет много труднодоступных мест, в которых могут локализоваться биопленки, способствуя повторному заражению.

Наиболее характерными биопленкообразователями для молочной отрасли являются стафилококки, попадающие на предприятия с молоком (например, от больных маститом коров) [66]. Также большую опасность представляют бактерии рода *Listeria* [67, 68].

Образование биопленок представляет угрозу для сыроделия. Биопленкообразующие бактерии часто выявляют как на поверхности сыров, так и на оборудовании, контактирующем с ними [69, 70]. Контаминация продукции происходит на промежуточных стадиях производства, например при переворачивании сырных головок. В исследовании, проведенном в Италии на сыродельном заводе, были выделены 72 вида бактерий *Pseudomonas*, которые обладали способностью образовывать биопленки [71].

Патогены могут попадать на поверхность **продуктов растительного происхождения** (овощи, фрукты, салаты, зелень, ягоды) как в процессе выращивания или созревания, так и при сборе и транспортировке [72]. На объектах растительного происхождения обнаруживают почти все патогенные бактерии и вирусы, а также грибы [73].

Мониторинг бактериальных патогенов в пищевых продуктах растительного происхождения с 2007 по 2017 г. показал, что наиболее распространены микроорганизмы *Salmonella* spp., *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* [74]. Чаще всего патогены обнаруживали в различных видах салатов, а также на поверхности яблок, томатов, огурцов, ягод [75]. На поверхности салатов выявляли патогенные виды эшерихий, в том числе *E. coli* O157:H7 [76–78]. Широко распространены в свежих продуктах *Listeria monocytogenes*. Их обнаруживают в капусте [78], кукурузе [79], моркови [80], зелени [81, 82]. На поверхности некоторых овощей обнаруживали биопленки *Helicobacter pylori* [83]. Способность образовывать биопленки позволяет хеликобактерам длительное время выживать во внегастроэнтеральной среде [84].

Учитывая, что большинство продуктов растительного происхождения употребляют в сыром виде, биопленки на их поверхности повышают опасность как самих продуктов растительного происхождения, так и блюд, в составе которых они использованы. Опасность усугубляется тем, что биопленки сохраняются при замораживании и, как было указано выше, устойчивы к воздействиям дезинфицирующих средств [85, 86].

По данным портала rapidmicrobiology.com, с 2015 г. случаи листериоза, зафиксированные в ряде европейских стран, были вызваны зараженными замороженными овощами. Попадая на поверхность овощей естественным путем, листерии размножаются при пониженных температурах, образуют биопленки и сохраняются при замораживании. Секвенирование генома подтвердило, что изоляты *Listeria*, выделенные из замороженных овощей, и детектированные возбудители листериоза в Европе имели одинаковый геном. Это исследование подтверждает важность исследований вспышек заболеваний пищевого происхождения, отслеживания и предупреждения потенциальных заражений, включая анализ роли в этом биопленкообразующих штаммов [87].

Исследования ученых из Новой Зеландии доказывают, что патогенные листерии могут попадать из почвы и других природных объектов на поверхность овощей, фруктов, салатов и проч. и образовывать на них биопленки. Сохраняясь на поверхности сырой продукции, биопленки листерий способны колонизировать всю производственную цепочку и продукцию, в состав которой входят зараженные овощи, фрукты, зелень или салаты. Это представляет особую опасность для готовой к употреблению продукции (Ready To Eat), поскольку в ее состав входят и не подвергающиеся технологической обработке растительные компоненты [88].

Для **рыбоперерабатывающей отрасли** основную опасность представляют бактерии рода *Vibrio* [89, 90]. Зачастую на первичных этапах переработки рыбной продукции применяют не пресную воду, а обработанную морскую [91]. Несмотря на процедуру обеззараживания, в воде могут сохраняться живые клетки, которые образуют биопленки. «Чувство кворума» способствует контаминации производства не только бактериями, которые образовали биопленку, но и другими

патогенами [92]. Так, образование биопленок бактериями рода *Vibrio* может провоцировать вовлечение в данный процесс и патогенов, таких как *Listeria*, *Salmonella*, *Escherichia*. Как и в отношении производства других пищевых продуктов, в рыбоперерабатывающей сфере биопленки наиболее часто обнаруживают на поверхностях, с которыми контактирует продукция [93]. Часто комплекс общепринятых дезинфицирующих мер не позволяет полностью избавиться от биопленок [94].

Перспективы использования полногеномного секвенирования для выявления биопленкообразующих патогенов

Весьма перспективным представляется использование метода полногеномного секвенирования при реализации мер по предотвращению распространения и циркуляции патогенных микроорганизмов на предприятиях пищевой промышленности, определения путей их передачи в рамках эпидемиологического надзора за патогенами.

В настоящее время как за рубежом, так и в нашей стране метод полногеномного секвенирования достаточно широко внедрен для решения различных задач в медицинской сфере. За рубежом данный метод начали использовать сравнительно недавно для установления источников микробного загрязнения, в том числе и биопленкообразующими микроорганизмами, а также для определения генов вирулентности и устойчивости к антибиотикам патогенных штаммов [95, 96]. Методом полногеномного секвенирования достаточно хорошо изучен ряд микроорганизмов, таких как *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enterica* и *Escherichia coli*, ставших причиной вспышек пищевых заболеваний.

Многочисленные исследования касались и других патогенных микроорганизмов, выделенных из пищевых продуктов и объектов производственной среды. Так, полногеномное секвенирование *Campylobacter jejuni*, выделенных из кормов и объектов окружающей среды животноводческих комплексов, выявило детерминанты устойчивости к противомикробным препаратам [97–100].

М. Stasiewicz и соавт. показали, что *L. monocytogenes*, выделенные из объектов производственной среды, отличались между собой единичными однонуклеотидными полиморфизмами [в среднем от 2 до 11 SNP

(Single nucleotide polymorphism – однонуклеотидный полиморфизм)], и пришли к выводу, что идентичные или почти идентичные штаммы *L. monocytogenes* могут встречаться на разных этапах технологической цепочки [101]. Точно так же схожие изоляты *L. monocytogenes* были выявлены на заводах по переработке лосося в Дании и Норвегии в период, охватывающий более 10 лет, с помощью полногеномного секвенирования [102, 103]. Проведение метагеномных микробиологических исследований с использованием данного метода дает исчерпывающую информацию о важных таксонах биопленки [104].

Заключение

В настоящее время во всем мире проблеме биопленкообразования уделяется пристальное внимание. В Российской Федерации существуют различные теоретические и практические исследования, связанные с феноменом биопленкообразования, однако все они носят разрозненный характер и связаны в основном с изучением данного явления в области медицины. Комплексных исследований данной проблемы в области переработки пищевых продуктов не проводилось. Актуальность проблемы связана с растущим распространением пищевых патогенов и тем, что часто заражение возбудителем происходит через пищевые продукты. Исследования распространенности, выявление критических точек, изучение особенностей формирования биопленок в условиях пищевых предприятий патогенными микроорганизмами, а также изучение механизмов индукции, подбора и действия эффективных дезинфицирующих средств необходимы для снижения возможной высокой эпидемиологической опасности ряда пищевых продуктов.

Таким образом, биопленки представляют большую опасность. Они связаны с риском контаминации объектов производственной среды пищевых предприятий, готовой пищевой продукции патогенными микроорганизмами, а значит, могут являться причиной неблагоприятной эпидемиологической обстановки по ряду заболеваний пищевого происхождения у людей.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Сведения об авторах

Тутельян Алексей Викторович (Tutelyan Aleksey V.) – член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук, заведующий лабораторией инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Роспотребнадзора, руководитель отдела молекулярной иммунологии, инфектологии и фармакотерапии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Д. Рогачева» Минздрава России, профессор кафедры эпидемиологии Института профессионального образования ФГАОУ «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский университет) (Москва, Россия)

E-mail: bio-tav@yandex.ru

<https://orcid.org/0000-0002-2706-6689>

Юшина Юлия Константиновна (*Yushina Yuliya K.*) – кандидат технических наук, заведующая лабораторией «Гигиена производства и микробиология» ФГБНУ «Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН (Москва, Россия)

E-mail: Yu.yushina@fncps.ru

<https://orcid.org/0000-0001-9265-5511>

Соколова Ольга Вячеславовна (*Sokolova Olga V.*) – кандидат технических наук, старший научный сотрудник лаборатории «Гигиена производства и микробиология» ФГБНУ «Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН (Москва, Россия)

E-mail: o.sokolova@fncps.ru

<https://orcid.org/0000-0001-9516-6123>

Батаева Дагмара Султановна (*Bataeva Dagmara S.*) – кандидат технических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории «Гигиена производства и микробиология» ФГБНУ «Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН (Москва, Россия)

E-mail: d.bataeva@fncps.ru

<https://orcid.org/0000-0002-1374-2746>

Фесюн Анатолий Дмитриевич (*Fesyun Anatoliy D.*) – доктор медицинских наук, и.о. директора ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр реабилитации и курортологии» Минздрава России (Москва, Россия)

E-mail: fad68@yandex.ru

<https://orcid.org/0000-0003-3097-8889>

Датий Алексей Васильевич (*Datiy Aleksey V.*) – доктор медицинских наук, ведущий специалист научно-организационного отдела ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр реабилитации и курортологии» Минздрава России (Москва, Россия)

E-mail: 525252s@mail.ru

<https://orcid.org/0000-0002-7339-9230>

Литература

1. Silva V.O., Soares L.O., Silva Júnior A., Mantovani H.C., Chang Y.F., Moreira M.A. Biofilm formation on biotic and abiotic surfaces in the presence of antimicrobials by *Escherichia coli* isolates from cases of bovine mastitis // *Appl. Environ. Microbiol.* 2014. Vol. 80, N 19. P. 6136–6145. doi: 10.1128/AEM.01953-14
2. Tomaras A.P., Dorsey C.W., Edelmann R.E., Actis L.A. Attachment to and biofilm formation on abiotic surfaces by *Acinetobacter baumannii*: Involvement of a novel chaperone-usher pili assembly system // *Microbiology.* 2003. Vol. 149, N 12. P. 3473–3484. doi: 10.1099/mic.0.26541-0
3. Huhu Wang, Xinxiao Zhang, Qiuqin Zhang, Keping Y. Xinglian, Xu Guanghong Zhou. Comparison of microbial transfer rates from *Salmonella* spp. biofilm growth on stainless steel to selected processed and raw meat // *Food Control.* 2015. Vol. 50. P. 574–580. URL: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.09.049>
4. Кравченко Х.Ю. Кухтин М.Д., Лазарюк В.В. Формирование биопленки *E. coli* на поверхности нержавеющей стали AISI 321, в зависимости от шероховатости поверхности // *Вестн. Херсонского нац. техн. ун-та.* 2016. № 1 (56). С. 95–100.
5. Akinbobola A.B., Sherryra L., McKay W.G., Ramage G., Williams C. Tolerance of *Pseudomonas aeruginosa* in in-vitro biofilms to high-level peracetic acid disinfection // *J. Hosp. Infect.* 2017. Vol. 97, N 2. P. 162–168. doi: 10.1016/j.jhin.2017.06.024
6. Wang H., Cai L., Li Y., Xu X., Zhou G. Biofilm formation by meat-borne *Pseudomonas fluorescens* on stainless steel and its resistance to disinfectants. *Food Control.* 2018. Vol. 91. P. 397–403. URL: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.04.035>
7. Murakami K., Ono T., Noma Y., Minase I., Amoh T., Irie Y. et al. Explorative gene analysis of antibiotic tolerance-related genes in adherent and biofilm cells of *Pseudomonas aeruginosa* // *J. Infect. Chemother.* 2017. Vol. 23, N 5. P. 271–277. doi: 10.1016/j.jiac.2017.01.004
8. Frieri M., Kumar K., Boutin A. Antibiotic resistance. Review // *J. Infect. Public Health.* 2017. Vol. 10, N 4. P. 369–378. doi: 10.1016/j.jiph.2016.08.007
9. Hoiby N., Bjarnsholt T., Givskov M., Molin S., Ciofu O. Antibiotic resistance of bacterial biofilms // *Int. J. Antimicrob. Agents.* 2010. Vol. 35, N 4. P. 322–332. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2009.12.011
10. Rossi Gonçalves I., Dantas R.C.C., Ferreira M.L., Batistão D.W.D.F., Gontijo-Filho P.P., Ribas R.M. Carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: association with virulence genes and biofilm formation // *Braz. J. Microbiol.* 2017. Vol. 48, N 2. P. 211–217. doi: 10.1016/j.bjm.2016.11.004
11. Characklis W.G., Cooksey K.E. Biofilms and microbial fouling // *Adv. Appl. Microbiol.* 1983. Vol. 29. P. 93–137. URL: [https://doi.org/10.1016/S0065-2164\(08\)70355-1](https://doi.org/10.1016/S0065-2164(08)70355-1).
12. Marshag P.A., Loeb G.I., Cowan M.M., Fletcher M. Response of microbial adhesives and biofilm matrix polymers to chemical treatments as determined by interference reflection microscopy and light section microscopy // *Appl. Environ. Microbiol.* 1989. Vol. 55. P. 2827–2831
13. Bryers J.D. Biofilms and the technological implications of microbial cell adhesion // *Colloids Surfaces B Biointerfaces.* 1994. Vol. 2, N 1–3. P. 9–23. URL: [https://doi.org/10.1016/0927-7765\(94\)80013-8](https://doi.org/10.1016/0927-7765(94)80013-8)
14. Angst E. The Fouling of Ships Bottoms by Bacteria. Report, Bureau Construction and Repair. Washington, DC : United States Navy Department, 1923.
15. Somers E.B., Jean L., Schoeni, Wong A.C.L. Effect of trisodium phosphate on biofilm and planktonic cells of *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella typhimurium* // *Int. J. Food Microbiol.* 1994. Vol. 22, N 4. P. 269–276. URL: [https://doi.org/10.1016/0168-1605\(94\)90178-3](https://doi.org/10.1016/0168-1605(94)90178-3)
16. Costerton J.W., Stewart P.S., Greenberg E.P. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections // *Science.* 1999. Vol. 284, N 5418. P. 1318–1322.
17. Gristina A.G. Biofilms and chronic bacterial infections // *Clin. Microbiol. Newslett.* 1994. Vol. 16, N 22. P. 171–176. URL: [https://doi.org/10.1016/0196-4399\(94\)90037-X](https://doi.org/10.1016/0196-4399(94)90037-X)
18. Lin S., Yang L., Chen G., Li B., Xu Z. Pathogenic features and characteristics of food borne pathogens biofilm: biomass, viability and matrix // *Microb. Pathog.* 2017. Vol. 111. P. 285–291. doi: 10.1016/j.micpath
19. Глушанова Н.А., Блинов А.И., Алексеева Н.Б. Бактериальные биопленки в инфекционной патологии человека // *Медицина в Кузбассе.* 2015. Спецвып. 2. С. 30–35.
20. Hunt S.M., Werner E.M., Huang B., Hamilton M.A., Stewart P.S. Hypothesis for the role of nutrient starvation in biofilm detachment // *Appl. Environ. Microbiol.* 2004. Vol. 70, N 12. P. 7418–7425. doi: 10.1128/AEM.70.12.7418-7425.2004
21. Petrova O.E., Sauer K. Escaping the biofilm in more than one way: desorption, detachment or dispersion // *Curr. Opin. Microbiol.* 2016. Vol. 30. P. 67–78. doi: 10.1016/j.mib.2016.01.004
22. Хмель И.А. Биопленки бактерий и связанные с ними трудности медицинской практики. URL: <https://img.ras.ru/files/center/biofilms.doc>

23. Swaminathan B., Gerner-Smidt P. The epidemiology of human listeriosis // *Microbes Infect.* 2007. Vol. 9, N 10. P. 1236–1243. doi: 10.1016/j.micinf.2007.05.011
24. Николаев Ю.А., Плакунов В.К. Биопленка – «город микробов» или аналог многоклеточного организма? // *Микробиология.* 2007. Т. 76, № 2. С. 149–163.
25. Solano C., Echeverz M., Lasa I. Biofilm dispersion and quorum sensing // *Curr. Opin. Microbiol.* 2014. Vol. 18. P. 96–104. doi: 10.1016/j.mib.2014.02.008
26. de Almeida F.A., Vargas E.L.G., Carneiro D.G., Pinto U.M., Vanetti M.C.D. Virtual screening of plant compounds and nonsteroidal anti-inflammatory drugs for inhibition of quorum sensing and biofilm formation in *Salmonella* // *Microb. Pathog.* 2018. Vol. 121. P. 369–388. doi: 10.1016/j.micpath.2018.05.014
27. Хмель И.А., Белик А.С., Зайцева Ю.В., Данилова Н.Н. QUORUMSENSING и коммуникация бактерий // *Вестн. Моск. ун-та.* 2008. Т. 16, № 1. С. 28–35.
28. Liu N.T., Bauchan G.R., Francoeur C.B., Shelton D.R., Lo Y.M., Nou X. *Ralstonia insidiosa* serves as bridges in biofilm formation by foodborne pathogens *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enterica*, and *Enterohemorrhagic Escherichia coli* // *Food Control.* 2016. Vol. 65. P. 14–20. URL: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.01.004>
29. Bridier A., Sanchez-Vizuete P., Guilbaud M., Piard J.-C., Naïtali M., Briandet R. Biofilm-associated persistence of food-borne pathogens // *Food Microbiol.* 2015. Vol. 45. P. 167–178. doi: 10.1016/j.fm.2014.04.015
30. Пономарева А.Л. Исследование интенсивности образования биопленок *Listeria monocytogenes* при различных температурах // *Здоровье. Медицинская экология. Наука.* 2016. № 2 (65). С. 38–39.
31. Han N., Mizan M.F.R., Jahid I.K., Ha S.-D. Biofilm formation by *Vibrio parahaemolyticus* on food and food contact surfaces increases with rise in temperature // *Food Control.* 2016. Vol. 70. P. 161–166. URL: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.05.054>
32. Zottola E.A., Sasahara K.C. Microbial biofilms in the food processing industry – should they be a concern? // *Int. J. Food Microbiol.* 1994. Vol. 23, N 2. P. 125–148. URL: [https://doi.org/10.1016/0168-1605\(94\)90047-7](https://doi.org/10.1016/0168-1605(94)90047-7)
33. Hood S.K., Zottola E.A. Biofilms in food processing // *Food Control.* 1995. Vol. 6, N 1. P. 9–18. URL: [https://doi.org/10.1016/0956-7135\(95\)91449-U](https://doi.org/10.1016/0956-7135(95)91449-U)
34. Wirtanen G., Mattila-Sandhohn T. Removal of foodborne biofilms – comparison of surface and suspension tests. Part I // *Lebensm. Wissensch. Technol.* 1992. Vol. 25. P. 43–49.
35. Мальцев С.В., Мансурова Г.Ш. Что такое биопленка? // *Практическая медицина.* 2011. № 5 (53). С. 7–10.
36. Марданова А.М., Кабанов Д.А., Рудакова Н.Л., Шарипова М.Р. Биопленки: основные методы исследования: учебно-методическое пособие. Казань: К(П)ФУ, 2016. 42 с.
37. Monroe D. Looking for chinks in the armor of bacterial biofilms // *PLoS Biol.* 2007. Vol. 5, N 11. P. 2458–2461. doi: 10.1371/journal.pbio.0050307
38. Окулич В.К., Кабанова А.А., Плотников Ф.В. Микробные биопленки в клинической микробиологии и антибактериальной терапии: монография. Витебск: ВГМУ, 2017. 300 с.
39. Drosinos E.H., Board R.G. Growth of *Listeria monocytogenes* in meat juice under a modified atmosphere at 4°C with or without members of a microbial association from chilled lamb under a modified atmosphere // *Lett. Appl. Microbiol.* 1994. Vol. 19, N 3. P. 134–137. doi: 10.1111/j.1472-765X.1994.tb00925.x
40. Brown H.L., Reuter M., Salt L.J., Cross K.L., Betts R.P., van Vliet A.H.M. Chicken juice enhances surface attachment and biofilm formation of *Campylobacter jejuni* // *Appl. Environ. Microbiol.* 2014. Vol. 80, N 22. P. 7053–7060. doi: 10.1128/AEM.02614-14
41. Li J., Feng J., Ma L., de la Fuente Nunez C., Gözl G., Lu X. Effects of meat juice on biofilm formation of *Campylobacter* and *Salmonella* // *Int. J. Food Microbiol.* 2017. Vol. 253. P. 20–28. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2017.04.013
42. Wang H., Zhang X., Zhang Q., Xinglian K.Y., Zhou X.G. Comparison of microbial transfer rates from *Salmonella* spp. biofilm growth on stainless steel to selected processed and raw meat // *Food Control.* 2015. Vol. 50. P. 574–580. URL: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.09.049>
43. Xianqin Yang, Hui Wang, Annie He, Frances Tran Biofilm formation and susceptibility to biocides of recurring and transient *Escherichia coli* isolated from meat fabrication equipment // *Food Control.* 2018. Vol. 90. P. 205–211. URL: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.02.050>
44. Iliadis I., Daskalopoulou A., Simões M., Giaouris E. Integrated combined effects of temperature, pH and sodium chloride concentration on biofilm formation by *Salmonella enterica* ser. Enteritidis and Typhimurium under low nutrient food-related conditions // *Food Res. Int.* 2018. Vol. 107. P. 10–18. URL: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.02.015>
45. Puga C.H., San Jose C., Orgaz B. Biofilm development at low temperatures enhances *Listeria monocytogenes* resistance to chitosan // *Food Control.* 2016. Vol. 65. P. 143–151. URL: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.01.012>
46. Fraticamo P.M., Annous B.A., Gunther N.W. Biofilms in the Food and Beverage Industries (Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition). 2009. 600 p.
47. Wang H., Qi J., Dong Y., Li Y., Xu X., Zhou G. Characterization of attachment and biofilm formation by meat-borne Enterobacteriaceae strains associated with spoilage // *LWT. Food Sci. Technol.* 2017. Vol. 86. P. 399–407. URL: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.08.025>
48. Wang H., Wang H., Liang L., Xu X., Zhou G. Prevalence, genetic characterization and biofilm formation in vitro of staphylococcus aureus isolated from raw chicken meat at retail level in Nanjing, China // *Food Control.* 2018. Vol. 86. P. 11–18. URL: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.10.028>
49. Merino L., Procura F., Trejo F.M., Bueno D.J., Golowczyk M.A. Biofilm formation by *Salmonella* sp. in the poultry industry: detection, control and eradication strategies // *Food Res. Int.* 2019. Vol. 119. P. 530–540. URL: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.11.024>
50. Nair A., Ranwool D.B., Dojjad S., Poharkar K., Mohan V., Barbudhe S.B. et al. Biofilm formation and genetic diversity of *Salmonella* isolates recovered from clinical, food, poultry and environmental sources // *Infect. Genet. Evol.* 2015. Vol. 36. P. 424–433. doi: 10.1016/j.meegid.2015.08.012
51. Ferreira S., Fraqueza M.J., Queiroz J.A., Domingues F.C., Oleastro M. Genetic diversity, antibiotic resistance and biofilm-forming ability of *Arcobacter butzleri* isolated from poultry and environment from a Portuguese slaughterhouse // *Int. J. Food Microbiol.* 2015. Vol. 162, N 1. P. 82–88. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2013.01.003
52. Lebeaux D., Ghigo J.M. Management of biofilm-associated infections: what can we expect from recent research on biofilm lifestyles? // *Med. Sci. (Paris).* 2012. Vol. 28, N 8–9. P. 727–739. doi: 10.1051/medsci/2012288015
53. Lebeaux D., Ghigo J.-M., Beloin C. Biofilm-related infections: bridging the gap between clinical management and fundamental aspects of recalcitrance toward antibiotics // *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2014. Vol. 78, N 3. P. 510–543. doi: 10.1128/MMBR.00013-14
54. Wani S.A., Hussain I., Rather M.A., Kabli Z.A., Nagamani K., Nishikawa Y. et al. Putative virulence genes and biofilm production among typical enteroaggregative *Escherichia coli* isolates from diarrhoeic children in Kashmir and Andhra Pradesh // *Indian J. Microbiol.* 2012. Vol. 52. P. 587–592. doi: 10.1007/s12088-012-0284-9
55. Pereira A.L., Silva T.N., Gomes A.C., Araújo A.C., Giugliano L.G. Diarrhea-associated biofilm formed by enteroaggregative *Escherichia coli* and aggregative *Citrobacter freundii*: a consortium mediated by putative F pili // *BMC Microbiol.* 2010. Vol. 10. P. 57. URL: <https://doi.org/10.1186/1471-2180-10-57>
56. Nastasijevic I., Milanov D., Velebit B., Djordjevic V., Lakicevic B. Tracking of *Listeria monocytogenes* in meat establishment using Whole Genome Sequencing as a food safety management tool: a proof of concept // *Int. J. Food Microbiol.* 2017. Vol. 257, N 18. P. 157–164. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2017.06.015
57. Nair A., Rawool D.B., Dojjad S., Poharkar K., Mohan V., Barbudhe S.B. et al. Biofilm formation and genetic diversity of *Salmonella* isolates recovered from clinical, food, poultry and environmental sources // *Infect. Genet. Evol.* 2015. Vol. 36. P. 424–433. doi: 10.1016/j.meegid.2015.08.012
58. Chuah L.-O., Shamila Syuhada A.-K., Mohamad Suhaimi I., Farah Hanim T., Rusul G. Genetic relatedness, antimicrobial resistance and biofilm formation of *Salmonella* isolated from naturally contaminated poultry and their processing environment in northern Malaysia // *Food Res. Int.* 2018. Vol. 105. P. 743–751. URL: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.11.066>

59. Merino L., Procura F., Trejo F.M., Bueno D.J., Golowczyc M.A. Biofilm formation by *Salmonella* spp. in the poultry industry: detection, control and eradication strategie // *Food Res. Int.* 2019. Vol. 119. P. 530–540. doi: 10.1016/j.foodres.2017.11.024
60. The Global View of Campylobacteriosis. Report of an Expert Consultation. WHO, 2013.
61. Информационный бюллетень ВОЗ. № 255. Октябрь 2011.
62. Kim S.-H., Park C., Lee E.-J., Bang W.-S., Kim Y.-J., Kim J.-S. Biofilm formation of *Campylobacter* strains isolated from raw chickens and its reduction with DNase I treatment // *Food Control.* 2017. Vol. 71. P. 94–100. URL: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.06.038>
63. Balogu T.V., Nwaugo V.O., Onyeagba R.A. Persistence and biofilm assessment of *Campylobacter jejuni* in poultry abattoir // *Nigerian Food J.* 2014. Vol. 32, N 1. P. 54–61. URL: [https://doi.org/10.1016/S0189-7241\(15\)30096-5](https://doi.org/10.1016/S0189-7241(15)30096-5)
64. Шевелева С.А., Ефимочкина Н.Р., Козак С.С., Минаева Л.П., Быкова И.Б., Пичугина Т.В. и др. Влияние традиционных технологий охлаждения на профиль патогенных микробных контаминантов мяса птицы отечественного производства // *Вопр. питания.* 2016. Т. 85, № S2. С. 38–39.
65. Campden BRI project No. 123483, May 2011 – April 2015.
66. Xue T., Chen X., Shang F. Short communication: Effects of lactose and milk on the expression of biofilm-associated genes in *Staphylococcus aureus* strains isolated from a dairy cow with mastitis // *J. Dairy Sci.* 2014. Vol. 97, N 10. P. 6129–6134. doi: 10.3168/jds.2014-8344
67. Latorre A.A., Van Kessel J.S., Karns J.S., Zurakowski M.J., Pradhan A.K., Boor K.J. et al. Biofilm in milking equipment on a dairy farm as a potential source of bulk tank milk contamination with *Listeria monocytogenes* // *J. Dairy Sci.* 2010. Vol. 93, N 6. P. 2792–2802. doi: 10.3168/jds.2009-2717
68. Weiler C., Iffland A., Naumann A., Kleta S., Noll M. Incorporation of *Listeria monocytogenes* strains in raw milk biofilms // *Int. J. Food Microbiol.* 2013. Vol. 161, N 2. P. 61–68. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2012.11.027
69. Speranza B., Sinigaglia M., Corbo M.R. Non-starter lactic acid bacteria biofilms: a means to control the growth of *Listeria monocytogenes* in soft cheese // *Food Control.* 2009. Vol. 20, N 11. P. 1063–1067. URL: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2009.01.006>
70. Costa A., Lourenco A., Civera T., Brito L. *Listeria innocua* and *Listeria monocytogenes* strains from dairy plants behave similarly in biofilm sanitizer testing // *LWT Food Sci. Technol.* 2018. Vol. 92. P. 477–483. URL: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.02.073>
71. Rossi C., Serio A., Chaves-López C., Anniballi F., Auricchio B., Goffredo E. et al. Biofilm formation, pigment production and motility in *Pseudomonas* spp. isolated from the dairy industry // *Food Control.* 2017. Vol. 86. P. 241–248. URL: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.11.018>
72. Alegbeleye O.O., Singleton I., Sant'Ana A.S. Sources and contamination routes of microbial pathogens to fresh produce during field cultivation: a review // *Food Microbiol.* 2018. Vol. 73. P. 177–208. doi: 10.1016/j.fm.2018.01.003
73. Brackett R.E. Microbiological spoilage and pathogens in minimally processed refrigerated fruits and vegetables // *Minimally Processed Refrigerated Fruits and Vegetables* / Wiley R.C. (eds). Boston, MA : Springer, 1994. P. 269–312.
74. List of Selected Multistate Foodborne Outbreak Investigations: Centers for Disease Control and Prevention, 2014.
75. Olaimat A.N., Holley R.A. Factors influencing the microbial safety of fresh produce: a review // *Food Microbiol.* 2012. Vol. 32, N 1. P. 1–19. doi: 10.1016/j.fm.2012.04.016
76. Cui H., Bai M., Yuan L., Surendhiran D., Lin L. Sequential effect of phages and cold nitrogen plasma against *Escherichia coli* O157:H7 biofilms on different vegetables // *Int. J. Food Microbiol.* 2018. Vol. 268, N 2. P. 1–9. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2018.01.004
77. Adator E.H., Cheng M., Holley R., McAllister T., Narvaez-Bravo C. Ability of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* to survive within dry-surface biofilms and transfer to fresh lettuce // *Int. J. Food Microbiol.* 2018. Vol. 269, N 23. P. 52–59. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2018.01.014
78. Johannessen G.S., Loncarevic S., Kruse H. Bacteriological analysis of fresh produce in Norway // *Int. J. Food Microbiol.* 2002. Vol. 77, N 3. P. 199–204.
79. Aureli P., Fiorucci G.C., Caroli D., Marchiaro G., Novara O., Leone L. et al. An outbreak of febrile gastroenteritis associated with corn contaminated by *Listeria monocytogenes* // *N. Engl. J. Med.* 2000. Vol. 342, N 17. P. 1236–1241. doi: 10.1056/NEJM200004273421702
80. Ruiz-Cruz S., Acedo-Félix E., Díaz-Cinco M., Islas-Osuna M.A., González-Aguilar G.A. Efficacy of sanitizers in reducing *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes* populations on fresh-cut carrots // *Food Control.* 2007. Vol. 18. P. 1383–1390. URL: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2006.09.008>
81. Ding T., Iwahori J., Kasuga F., Wang J., Forghani F., Park M.-S. et al. Risk assessment for *Listeria monocytogenes* on lettuce from farm to table in Korea // *Food Control.* 2013. Vol. 30. P. 190–199. URL: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.07.014>
82. Althaus D., Hofer E., Corti S., Julmi A., Stephan R. Bacteriological survey of ready-to-eat lettuce, fresh-cut fruit, and sprouts collected from the Swiss market // *J. Food Prot.* 2012. Vol. 75, N 7. P. 1338–1341. doi: 10.4315/0362-028X.JFP-12-022
83. Ng C.G., Loke M.F., Goh K.L., Vadivelu J., Ho B. Biofilm formation enhances *Helicobacter pylori* survivability in vegetables // *Food Microbiol.* 2017. Vol. 62. P. 68–76. doi: 10.1016/j.fm.2016.10.010
84. Dubois A. Intracellular *Helicobacter pylori* and gastric carcinogenesis: an «old» frontier worth revisiting // *Gastroenterology.* 2007. Vol. 132, N 3. P. 1177–1180. doi: 10.1053/j.gastro.2007.01.068
85. Machado I., Meireles A., Fulgêncio R., Mergulhão F., Simões M., Melo L.F. Disinfection with neutral electrolyzed oxidizing water to reduce microbial load and to prevent biofilm regrowth in the processing of fresh-cut vegetables // *Food Bioprod. Proces.* 2016. Vol. 98. P. 333–340. URL: <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2016.02.008>
86. Amrutha B., Sundar K., Shetty P.H. Effect of organic acids on biofilm formation and quorum signaling of pathogens from fresh fruits and vegetables // *Microb. Pathog.* 2017. Vol. 111. P. 156–162. doi: 10.1016/j.micpath.2017.08.042
87. Портал rapidmicrobiology.com. URL: <https://www.rapidmicrobiology.com/news/frozen-veg-cause-deaths-in-multi-country-listeria-outbreak>
88. Zhu Q., Gooneratne R., Hussain M.A. *Listeria monocytogenes* in fresh produce: outbreaks, prevalence and contamination levels // *Foods.* 2017. Vol. 6, N 3. doi: 10.3390/foods6030021
89. Song X., Ma Y., Fu J., Zhao A., Guo Z., Malakar P.K. et al. Effect of temperature on pathogenic and non-pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* biofilm formation // *Food Control.* 2017. Vol. 73. P. 485–491. URL: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.08.041>
90. Beshiru E.A., Igbinosa E.O. Characterization of extracellular virulence properties and biofilm-formation capacity of *Vibrio* species recovered from ready-to-eat (RTE) shrimps // *Microb. Pathog.* 2018. Vol. 119. P. 93–102. doi: 10.1016/j.micpath.2018.04.015
91. Сборник технологических инструкций по обработке рыбы : в 2 т. Т. 1. Утв. приказом Минрыбхоза СССР от 5 сентября 1991. № 272. 2012. 740 с.
92. Liu L., Yan Y., Feng L., Zhu J. Quorum sensing *asaI* mutants affect spoilage phenotypes, motility, and biofilm formation in a marine fish isolate of *Aeromonas salmonicida* // *Food Microbiol.* 2018. Vol. 76. P. 40–51. URL: <https://doi.org/10.1016/j.fm.2018.04.009>
93. Papaioannou E., Giaouris E.D., Berillis P., Boziaris I.S. Dynamics of biofilm formation by *Listeria monocytogenes* on stainless steel under mono-species and mixed-culture simulated fish processing conditions and chemical disinfection challenges // *Int. J. Food Microbiol.* 2018. Vol. 267. P. 9–19. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2017.12.020
94. Tuulaikhuu B.-A., Bonet B., Guasch H. Effects of low arsenic concentration exposure on freshwater fish in the presence of fluvial biofilms // *Sci. Total Environ.* 2016. Vol. 544. P. 467–475. doi: 10.1016/j.scitotenv.2015.11.126
95. Frey K.G., Bishop-Lilly K.A. Chapter 15. Next-generation sequencing for pathogen detection and identification // *Methods in Microbiology.* 2015. Vol. 42. P. 525–554. URL: <https://doi.org/10.1016/bs.mim.2015.06.004>
96. Tang S., Stasiewicz M. J., Wiedmann M., Boor K.J., Bergholz T.M. Efficacy of different antimicrobials on inhibition of *Listeria monocytogenes* growth in laboratory medium and on cold-smoked salmon // *Int. J. Food Microbiol.* 2013. Vol. 3, N 1. P. 265–275. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2013.05.018
97. Chen H.-M., Wang Y., Su L.-H., Chiu C.-H. Nontyphoid *Salmonella* infection: microbiology, clinical features, and antimicrobial therapy // *Pediatr. Neonatol.* 2013. Vol. 54, N 3. P. 147–152. doi: 10.1016/j.pedneo.2013.01.010
98. Dutta A., Bhattacharyya S., Kundu A., Dutta D., Das A.K. Macroscopic amyloid fiber formation by staphylococcal biofilm associated SuhB protein // *Biophys. Chem.* 2016. Vol. 217. P. 32–41. doi: 10.1016/j.bpc.2016.07.006

99. Qin H., Cao H., Zhao Y., Zhu C., Cheng T., Wang Q. et al. In vitro and in vivo anti-biofilm effects of silver nanoparticles immobilized on titanium // *Biomaterials*. 2014. Vol. 35, N 33. P. 9114–9125. doi: 10.1016/j.biomaterials.2014.07.040
100. Zhao Y.L., Zhou Y.H., Chen J.Q., Huang Q.Y., Han Q., Liu B. et al. Quantitative proteomic analysis of sub-MIC erythromycin inhibiting biofilm formation of *S. suis* in vitro // *J. Proteomics*. 2015. Vol. 116. P. 1–14. doi: 10.1016/j.jprot.2014.12.019
101. Stasiewicz M.J., den Bakker H.C., Wiedmann M. Genomics tools in microbial food safety // *Curr. Opin. Food Sci.* 2015. Vol. 4. P. 105–110. URL: <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2015.06.002>
102. Rantsiou K., Kathariou S., Winkler A., Skandamis P., Jimmy M., Saint-Cyr J. et al. Next generation microbiological risk assessment: opportunities of whole genome sequencing (WGS) for foodborne pathogen surveillance, source tracking and risk assessment // *Int. J. Food Microbiol.* 2018. Vol. 287. P. 3–9. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2017.11.007
103. Moretro T., Schirmerab B.C.T., Heira E., Fagerlunda A., Hjemli P., Langrud S. Tolerance to quaternary ammonium compound disinfectants may enhance growth of *Listeria monocytogenes* in the food industry // *Int. J. Food Microbiol.* 2017. Vol. 241. P. 215–224. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2016.10.025
104. Shaw J.L.A., Monis P., Fabris R., Ho L., Braun K., Driks M. et al. Assessing the impact of water treatment on bacterial biofilms in drinking water distribution systems using high-throughput DNA sequencing // *Chemosphere*. 2014. Vol. 117. P. 185–192. doi: 10.1016/j.chemosphere.2014.06.077

References

1. Silva V.O., Soares L.O., Silva Júnior A., Mantovani H.C., Chang Y.F., Moreira M.A. Biofilm formation on biotic and abiotic surfaces in the presence of antimicrobials by *Escherichia coli* isolates from cases of bovine mastitis. *Appl Environ Microbiol.* 2014; 80 (19): 6136–45. doi: 10.1128/AEM.01953-14
2. Tomaras A.P., Dorsey C.W., Edelmann R.E., Actis L.A. Attachment to and biofilm formation on abiotic surfaces by *Acinetobacter baumannii*: Involvement of a novel chaperone-usher pili assembly system. *Microbiology*. 2003; 149 (12): 3473–84. doi: 10.1099/mic.0.26541-0
3. Huhu Wang, Xinxiao Zhang, Qiuqin Zhang, Keping Y. Xinglian, Xu Guanghong Zhou. Comparison of microbial transfer rates from *Salmonella* spp. biofilm growth on stainless steel to selected processed and raw meat. *Food Control*. 2015; 50: 574–80. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.09.049>
4. Kravchenyuk H.Yu., Kukhtin M.D., Lazaryuk V.V. Formation of *E. coli* biofilm on the surface of AISI 321 stainless steel, depending on the surface roughness. *Vestnik Khersonskogo natsional'nogo tekhnicheskogo universiteta [Bulletin of Kherson National Technical University]*. 2016; 1 (56): 95–100. (in Russian)
5. Akinbobola A.B., Sherrya L., McKay W.G., Ramage G., Williams C. Tolerance of *Pseudomonas aeruginosa* in in-vitro biofilms to high-level peracetic acid disinfection. *J Hosp Infect.* 2017; 97 (2): 162–68. doi: 10.1016/j.jhin.2017.06.024
6. Wang H., Cai L., Li Y., Xu X., Zhou G. Biofilm formation by meat-borne *Pseudomonas fluorescens* on stainless steel and its resistance to disinfectants. *Food Control*. 2018. Vol. 91. P. 397–403. URL: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.04.035>
7. Murakami K., Ono T., Noma Y., Minase I., Amoh T., Irie Y. et al. Explorative gene analysis of antibiotic tolerance-related genes in adherent and biofilm cells of *Pseudomonas aeruginosa*. *J Infect Chemother.* 2017; 23 (5): 271–7. doi: 10.1016/j.jiac.2017.01.004
8. Frieri M., Kumar K., Boutin A. Antibiotic resistance. *Review. J Infect Public Health.* 2017; 10 (4): 369–78. doi: 10.1016/j.jiph.2016.08.007
9. Hoiby N., Bjarnsholt T., Givskov M., Molin S., Ciofu O. Antibiotic resistance of bacterial biofilms. *Int J Antimicrob Agents.* 2010; 35 (4): 322–32. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2009.12.011
10. Rossi Gonçalves I., Dantas R.C.C., Ferreira M.L., Batistão D.W.D.F., Gontijo-Filho P.P., Ribas R.M. Carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: association with virulence genes and biofilm formation. *Braz J Microbiol.* 2017; 48 (2): 211–7. doi: 10.1016/j.bjm.2016.11.004
11. Characklis W.G., Cooksey K.E. Biofilms and microbial fouling. *Adv Appl Microbiol.* 1983; 29: 93–137. [https://doi.org/10.1016/S0065-2164\(08\)70355-1](https://doi.org/10.1016/S0065-2164(08)70355-1)
12. Marshag P.A., Loeb G.I., Cowan M.M., Fletcher M. Response of microbial adhesives and biofilm matrix polymers to chemical treatments as determined by interference reflection microscopy and light section microscopy. *Appl Environ Microbiol.* 1989; 55: 2827–31.
13. Bryers J.D. Biofilms and the technological implications of microbial cell adhesion. *Colloids Surfaces B Biointerfaces.* 1994; 2 (1–3): 9–23. [https://doi.org/10.1016/0927-7765\(94\)80013-8](https://doi.org/10.1016/0927-7765(94)80013-8)
14. Angst E. The fouling of ships bottoms by bacteria. Report, Bureau Construction and Repair. Washington, DC: United State Navy Department, 1923.
15. Somers E.B., Jean L., Schoeni, Wong A.C.L. Effect of trisodium phosphate on biofilm and planktonic cells of *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella typhimurium*. *Int J Food Microbiol.* 1994; 22 (4): 269–76. URL: [https://doi.org/10.1016/0168-1605\(94\)90178-3](https://doi.org/10.1016/0168-1605(94)90178-3)
16. Costerton J.W., Stewart P.S., Greenberg E.P. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science.* 1999; 284 (5418): 1318–22.
17. Gristina A.G. Biofilms and chronic bacterial infections. *Clin Microbiol Newslett.* 1994; 16 (22): 171–6. URL: [https://doi.org/10.1016/0196-4399\(94\)90037-X](https://doi.org/10.1016/0196-4399(94)90037-X)
18. Lin S., Yang L., Chen G., Li B., Xu Z. Pathogenic features and characteristics of food borne pathogens biofilm: biomass, viability and matrix. *Microb Pathog.* 2017; 111: 285–91. doi: 10.1016/j.micpath
19. Glushanova N.A., Blinov A.I., Alekseeva N.B. Bacterial biofilms in human infectious pathology. *Meditina v Kuzbasse [Medicine in Kuzbass]*. 2015; (Spec ed 2): 30–35. (in Russian)
20. Hunt S.M., Werner E.M., Huang B., Hamilton M.A., Stewart P.S. Hypothesis for the role of nutrient starvation in biofilm detachment. *Appl Environ Microbiol.* 2004; 70 (12): 7418–25. doi: 10.1128/AEM.70.12.7418-7425.2004
21. Petrova O.E., Sauer K. Escaping the biofilm in more than one way: desorption, detachment or dispersion. *Curr Opin Microbiol.* 2016; 30: 67–78. doi: 10.1016/j.mib.2016.01.004
22. Khmel I.A. Biofilm bacteria and the associated difficulties of medical practice. URL: <https://img.ras.ru/files/center/biofilms.doc>. (in Russian)
23. Swaminathan B., Gerner-Smidt P. The epidemiology of human listeriosis. *Microbes Infect.* 2007; 9 (10): 1236–43. doi: 10.1016/j.micinf.2007.05.011
24. Nikolaev Yu.A., Plakunov V.K. Is biofilm a «city of microbes» or an analogue of a multicellular organism? *Mikrobiologiya [Microbiology]*. 2007; 76 (2): 149–63. (in Russian)
25. Solano C., Echeverez M., Lasa I. Biofilm dispersion and quorum sensing. *Curr Opin Microbiol.* 2014; 18: 96–104. doi: 10.1016/j.mib.2014.02.008
26. de Almeida F.A., Vargas E.L.G., Carneiro D.G., Pinto U.M., Vanetti M.C.D. Virtual screening of plant compounds and nonsteroidal anti-inflammatory drugs for inhibition of quorum sensing and biofilm formation in *Salmonella*. *Microb Pathog.* 2018; 121: 369–88. doi: 10.1016/j.micpath.2018.05.014
27. Khmel I.A., Belik A.S., Zaitseva Yu.V., Danilova N.N. QUORUM SENSING and Bacteria Communication. *Vestnik Moskovskogo universiteta [Bulletin of Moscow University]*. 2008; 16 (1): 28–35. (in Russian)
28. Liu N.T., Bauchan G.R., Francoeur C.B., Shelton D.R., Lo Y.M., Nou X. *Ralstonia insidiosa* serves as bridges in biofilm formation by foodborne pathogens *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enterica*, and Enterohemorrhagic *Escherichia coli*. *Food Control.* 2016; 65: 14–20. URL: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.01.004>
29. Bridier A., Sanchez-Vizuete P., Guilbaud M., Piard J.-C., Naitali M., Briandet R. Biofilm-associated persistence of food-borne pathogens. *Food Microbiol.* 2015; 45: 167–78. doi: 10.1016/j.fm.2014.04.015
30. Ponomareva A.L. Study of the intensity of formation of biofilms of *Listeria monocytogenes* at different temperatures. *Zdorov'e*.

- Meditsinskaya ekologiya. Nauka [Health. Medical Ecology. Science]. 2016; 2 (65): P. 38–9. (in Russian)
31. Han N., Mizan M.F.R., Jahid I.K., Ha S.-D. Biofilm formation by *Vibrio parahaemolyticus* on food and food contact surfaces increases with rise in temperature. *Food Control*. 2016; 70: 161–6. URL: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.05.054>
 32. Zottola E.A., Sasahara K.C. Microbial biofilms in the food processing industry – should they be a concern? *Int J Food Microbiol*. 1994; 23 (2): 125–48. [https://doi.org/10.1016/0168-1605\(94\)90047-7](https://doi.org/10.1016/0168-1605(94)90047-7)
 33. Hood S.K., Zottola E.A. Biofilms in food processing. *Food Control*. 1995; 6 (1): 9–18. [https://doi.org/10.1016/0956-7135\(95\)91449-U](https://doi.org/10.1016/0956-7135(95)91449-U)
 34. Wirtanen G., Mattila-Sandhohn T. Removal of foodborne biofilms – comparison of surface and suspension tests. Part I. *Lebensm Wissensch Technol*. 1992; 25: 43–9.
 35. Maltsev S.V., Mansurova G.S. What is biofilm? *Prakticheskaya meditsina* [Practical Medicine]. 2011; 5 (53): 7–10. (in Russian)
 36. Mardanov A.M., Kabanov D.A., Rudakova N.L., Sharipov M.R. Biofilms: basic research methods: a teaching aid. Kazan: K(P)FU, 2016: 42 p. (in Russian)
 37. Monroe D. Looking for chinks in the armor of bacterial biofilms. *PLoS Biol*. 2007; 5 (11): 2458–61. doi: 10.1371/journal.pbio.0050307
 38. Okulich V.K., Kabanova A.A., Plotnikov F.V. Microbial biofilms in clinical microbiology and antibacterial therapy: Monograph. Vitebsk: Vitebsk State Medical University, 2017: 300 p.
 39. Drosinos E.H., Board R.G. Growth of *Listeria monocytogenes* in meat juice under a modified atmosphere at 4 °C with or without members of a microbial association from chilled lamb under a modified atmosphere. *Lett Appl Microbiol*. 1994; 19 (3): 134–7. doi: 10.1111/j.1472-765X.1994.tb00925.x
 40. Brown H.L., Reuter M., Salt L.J., Cross K.L., Betts R.P., van Vliet A.H.M. Chicken juice enhances surface attachment and biofilm formation of *Campylobacter jejuni*. *Appl Environ Microbiol*. 2014; 80 (22): 7053–60. doi: 10.1128/AEM.02614-14
 41. Li J., Feng J., Ma L., de la Fuente Nunez C., Gözl G., Lu X. Effects of meat juice on biofilm formation of *Campylobacter* and *Salmonella*. *Int J Food Microbiol*. 2017; 253: 20–8. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2017.04.013
 42. Wang H., Zhang X., Zhang Q., Xinglian K.Y., Zhou X.G. Comparison of microbial transfer rates from *Salmonella* spp. biofilm growth on stainless steel to selected processed and raw meat. *Food Control*. 2015; 50: 574–80. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.09.049>
 43. Xianqin Yang, Hui Wang, Annie He, Frances Tran. Biofilm formation and susceptibility to biocides of recurring and transient *Escherichia coli* isolated from meat fabrication equipment. *Food Control*. 2018; 90: 205–11. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.02.050>
 44. Iliadis I., Daskalopoulou A., Simões M., Giaouris E. Integrated combined effects of temperature, pH and sodium chloride concentration on biofilm formation by *Salmonella enterica* ser. Enteritidis and Typhimurium under low nutrient food-related conditions. *Food Res Int*. 2018; 107: 10–8. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.02.015>
 45. Puga C.H., San Jose C., Orgaz B. Biofilm development at low temperatures enhances *Listeria monocytogenes* resistance to chitosan. *Food Control*. 2016; 65: 143–51. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.01.012>
 46. Fratamico P.M., Annous B.A., Gunther N.W. Biofilms in the food and beverage industries (Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition). 2009: 600 p.
 47. Wang H., Qi J., Dong Y., Li Y., Xu X., Zhou G. Characterization of attachment and biofilm formation by meat-borne *Enterobacteriaceae* strains associated with spoilage. *LWT. Food Sci Technol*. 2017; 86: 399–407. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.08.025>
 48. Wang H., Wang H., Liang L., Xu X., Zhou G. Prevalence, genetic characterization and biofilm formation in vitro of staphylococcus aureus isolated from raw chicken meat at retail level in Nanjing, China. *Food Control*. 2018; 86: 11–8. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.10.028>
 49. Merino L., Procura F., Trejo F.M., Bueno D.J., Golowczyk M.A. Biofilm formation by *Salmonella* sp. in the poultry industry: detection, control and eradication strategie. *Food Res Int*. 2019; 119: 530–40. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.11.024>
 50. Nair A., Ranwool D.B., Doijad S., Poharkar K., Mohan V., Barbudhe S.B., et al. Biofilm formation and genetic diversity of *Salmonella* isolates recovered from clinical, food, poultry and environmental sources. *Infect Genet Evol*. 2015; 36: 424–33. doi: 10.1016/j.meegid.2015.08.012
 51. Ferreira S., Fraqueza M.J., Queiroz J.A., Domingues F.C., Oleastro M. Genetic diversity, antibiotic resistance and biofilm-forming ability of *Arcobacter butzleri* isolated from poultry and environment from a Portuguese slaughterhouse. *Int J Food Microbiol*. 2015; 162 (1): 82–8. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2013.01.003
 52. Lebeaux D., Ghigo J.M. Management of biofilm-associated infections: what can we expect from recent research on biofilm lifestyles? *Med Sci (Paris)*. 2012; 28 (8–9): 727–39. doi: 10.1051/medsci/2012288015
 53. Lebeaux D., Ghigo J.-M., Beloin C. Biofilm-related infections: bridging the gap between clinical management and fundamental aspects of recalcitrance toward antibiotics. *Microbiol Mol Biol Rev*. 2014; 78 (3): 510–43. doi: 10.1128/MMBR.00013-14
 54. Wani S.A., Hussain I., Rather M.A., Kabli Z.A., Nagamani K., Nishikawa Y., et al. Putative virulence genes and biofilm production among typical enteroaggregative *Escherichia coli* isolates from diarrhoeic children in Kashmir and Andhra Pradesh. *Indian J Microbiol*. 2012; 52: 587–92. doi: 10.1007/s12088-012-0284-9
 55. Pereira A.L., Silva T.N., Gomes A.C., Araújo A.C., Giugliano L.G. Diarrhea-associated biofilm formed by enteroaggregative *Escherichia coli* and aggregative *Citrobacter freundii*: a consortium mediated by putative F pili. *BMC Microbiol*. 2010; 10: 57. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-10-57>
 56. Nastasijevic I., Milanov D., Velebit B., Djordjevic V., Lakicevic B. Tracking of *Listeria monocytogenes* in meat establishment using Whole Genome Sequencing as a food safety management tool: a proof of concept. *Int J Food Microbiol*. 2017; 257 (18): 157–64. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2017.06.015
 57. Nair A., Rawool D.B., Doijad S., Poharkar K., Mohan V., Barbudhe S.B. et al. Biofilm formation and genetic diversity of *Salmonella* isolates recovered from clinical, food, poultry and environmental sources. *Infect Genet Evol*. 2015; 36: 424–33. doi: 10.1016/j.meegid.2015.08.012
 58. Chuah L.-O., Shamila Syuhada A.-K., Mohamad Suhaimi I., Farah Hanim T., Rusul G. Genetic relatedness, antimicrobial resistance and biofilm formation of *Salmonella* isolated from naturally contaminated poultry and their processing environment in northern Malaysia. *Food Res Int*. 2018; 105: 743–51. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.11.066>
 59. Merino L., Procura F., Trejo F.M., Bueno D.J., Golowczyk M.A. Biofilm formation by *Salmonella* spp. in the poultry industry: detection, control and eradication strategie. *Food Res Int*. 2019; 119: 530–40. doi: 10.1016/j.foodres.2017.11.024
 60. The Global View of *Campylobacteriosis*. Report of an Expert Consultation. WHO, 2013.
 61. WHO newsletter. No. 255. October 2011. (in Russian)
 62. Kim S.-H., Park C., Lee E.-J., Bang W.-S., Kim Y.-J., Kim J.-S. Biofilm formation of *Campylobacter* strains isolated from raw chickens and its reduction with DNase I treatment. *Food Control*. 2017; 71: 94–100. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.06.038>
 63. Balogu T.V., Nwaugo V.O., Onyeagba R.A. Persistence and biofilm assessment of *Campylobacter jejuni* in poultry abattoir. *Nigerian Food J*. 2014; 32 (1): 54–61. [https://doi.org/10.1016/S0189-7241\(15\)30096-5](https://doi.org/10.1016/S0189-7241(15)30096-5)
 64. Sheveleva S.A., Efimochkina N.R., Kozak S.S., Minaeva L.P., Bykova I.B., Pichugina T.V., et al. The influence of traditional cooling technologies on the profile of pathogenic microbial contaminants of domestic poultry meat. *Voprosy pitaniia* [Problems of Nutrition]. 2016; 85 (S2): 38–9. (in Russian)
 65. Campden BRI project No. 123483, May 2011 – April 2015.
 66. Xue T., Chen X., Shang F. Short communication: Effects of lactose and milk on the expression of biofilm-associated genes in *Staphylococcus aureus* strains isolated from a dairy cow with mastitis. *J Dairy Sci*. 2014; 97 (10): 6129–34. doi: 10.3168/jds.2014-8344
 67. Latorre A.A., Van Kessel J.S., Karns J.S., Zurakowski M.J., Pradhan A.K., Boor K.J., et al. Biofilm in milking equipment on a dairy farm as a potential source of bulk tank milk contamination with *Listeria monocytogenes*. *J Dairy Sci*. 2010; 93 (6): 2792–802. doi: 10.3168/jds.2009-2717
 68. Weiler C., Iland A., Naumann A., Kleta S., Noll M. Incorporation of *Listeria monocytogenes* strains in raw milk biofilms. *Int J Food Microbiol*. 2013; 161 (2): 61–8. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2012.11.027
 69. Speranza B., Sinigaglia M., Corbo M.R. Non-starter lactic acid bacteria biofilms: a means to control the growth of *Listeria mono-*

- cytogenes in soft cheese. *Food Control*. 2009; 20 (11): 1063–7. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2009.01.006>
70. Costa A., Lourenco A., Civera T., Brito L. *Listeria innocua* and *Listeria monocytogenes* strains from dairy plants behave similarly in biofilm sanitizer testing. *LWT Food Sci Technol*. 2018; 92: 477–83. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.02.073>
 71. Rossi C., Serio A., Chaves-López C., Anniballi F., Auricchio B., Goffredo E., et al. Biofilm formation, pigment production and motility in *Pseudomonas* spp. isolated from the dairy industry. *Food Control*. 2017; 86: 241–8. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.11.018>
 72. Alegbeleye O.O., Singleton I., Sant'Ana A.S. Sources and contamination routes of microbial pathogens to fresh produce during field cultivation: a review. *Food Microbiol*. 2018; 73: 177–208. doi: 10.1016/j.fm.2018.01.003
 73. Brackett R.E. Microbiological spoilage and pathogens in minimally processed refrigerated fruits and vegetables. In: Wiley R.C. (eds). *Minimally Processed Refrigerated Fruits and Vegetables*. Boston, MA: Springer, 1994: 269–312.
 74. List of Selected Multistate Foodborne Outbreak Investigations: Centers for Disease Control and Prevention, 2014.
 75. Olaimat A.N., Holley R.A. Factors influencing the microbial safety of fresh produce: a review. *Food Microbiol*. 2012; 32 (1): 1–19. doi: 10.1016/j.fm.2012.04.016
 76. Cui H., Bai M., Yuan L., Surendhiran D., Lin L. Sequential effect of phages and cold nitrogen plasma against *Escherichia coli* O157:H7 biofilms on different vegetables. *Int J Food Microbiol*. 2018; 268 (2): 1–9. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2018.01.004
 77. Adator E.H., Cheng M., Holley R., McAllister T., Narvaez-Bravo C. Ability of Shiga toxicogenic *Escherichia coli* to survive within dry-surface biofilms and transfer to fresh lettuce. *Int J Food Microbiol*. 2018; 269 (23): 52–9. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2018.01.014
 78. Johannessen G.S., Loncarevic S., Kruse H. Bacteriological analysis of fresh produce in Norway. *Int J Food Microbiol*. 2002; 77 (3): 199–204.
 79. Aureli P., Fiorucci G.C., Caroli D., Marchiaro G., Novara O., Leone L., et al. An outbreak of febrile gastroenteritis associated with corn contaminated by *Listeria monocytogenes*. *N Engl J Med*. 2000; 342 (17): 1236–41. doi: 10.1056/NEJM200004273421702
 80. Ruiz-Cruz S., Acedo-Félix E., Díaz-Cinco M., Islas-Osuna M.A., González-Aguilar G.A. Efficacy of sanitizers in reducing *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes* populations on fresh-cut carrots. *Food Control*. 2007; 18: 1383–90. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2006.09.008>
 81. Ding T., Iwahori J., Kasuga F., Wang J., Forghani F., Park M.-S., et al. Risk assessment for *Listeria monocytogenes* on lettuce from farm to table in Korea. *Food Control*. 2013; 30: 190–9. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.07.014>
 82. Althaus D., Hofer E., Corti S., Julmi A., Stephan R. Bacteriological survey of ready-to-eat lettuce, fresh-cut fruit, and sprouts collected from the Swiss market. *J Food Prot*. 2012; 75 (7): 1338–41. doi: 10.4315/0362-028X.JFP-12-022
 83. Ng C.G., Loke M.F., Goh K.L., Vadivelu J., Ho B. Biofilm formation enhances *Helicobacter pylori* survivability in vegetables. *Food Microbiol*. 2017; 62: 68–76. doi: 10.1016/j.fm.2016.10.010
 84. Dubois A. Intracellular *Helicobacter pylori* and gastric carcinogenesis: an «old» frontier worth revisiting. *Gastroenterology*. 2007; 132 (3): 1177–80. doi: 10.1053/j.gastro.2007.01.068
 85. Machado I., Meireles A., Fulgêncio R., Mergulhão F., Simões M., Melo L.F. Disinfection with neutral electrolyzed oxidizing water to reduce microbial load and to prevent biofilm regrowth in the processing of fresh-cut vegetables. *Food Bioprod Proces*. 2016; 98: 333–40. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2016.02.008>
 86. Amrutha B., Sundar K., Shetty P.H. Effect of organic acids on biofilm formation and quorum signaling of pathogens from fresh fruits and vegetables. *Microb Pathog*. 2017; 111: 156–62. doi: 10.1016/j.micpath.2017.08.042
 87. Portal rapidmicrobiology.com. <https://www.rapidmicrobiology.com/news/frozen-veg-cause-deaths-in-multi-country-listeriosis-outbreak>. (in Russian)
 88. Zhu Q., Gooneratne R., Hussain M.A. *Listeria monocytogenes* in fresh produce: outbreaks, prevalence and contamination levels. *Foods*. 2017; 6 (3). doi: 10.3390/foods6030021
 89. Song X., Ma Y., Fu J., Zhao A., Guo Z., Malakar P.K., et al. Effect of temperature on pathogenic and non-pathogenic *Vibrio* para-haemolytic biofilm formation. *Food Control*. 2017; 73: 485–91. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.08.041>
 90. Beshiru E.A., Igbinsosa E.O. Characterization of extracellular virulence properties and biofilm-formation capacity of *Vibrio* species recovered from ready-to-eat (RTE) shrimps. *Microb Pathog*. 2018; 119: 93–102. doi: 10.1016/j.micpath.2018.04.015
 91. Collection of technological instructions for processing fish. In 2 vols. Vol. 1. Approved Order of the USSR Ministry of Fishery on September 5, 1991. No. 272. 2012: 740 p. (in Russian)
 92. Liu L., Yan Y., Feng L., Zhu J. Quorum sensing *asaI* mutants affect spoilage phenotypes, motility, and biofilm formation in a marine fish isolate of *Aeromonas salmonicida*. *Food Microbiol*. 2018; 76: 40–51. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2018.04.009>
 93. Papaioannou E., Giaouris E.D., Berillis P., Boziaris I.S. Dynamics of biofilm formation by *Listeria monocytogenes* on stainless steel under mono-species and mixed-culture simulated fish processing conditions and chemical disinfection challenges. *Int J Food Microbiol*. 2018; 267: 9–19. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2017.12.020
 94. Tuulaikehuu B.-A., Bonet B., Guasch H. Effects of low arsenic concentration exposure on freshwater fish in the presence of fluvial biofilms. *Sci Total Environ*. 2016; 544: 467–75. doi: 10.1016/j.scitotenv.2015.11.126
 95. Frey K.G., Bishop-Lilly K.A. Chapter 15. Next-generation sequencing for pathogen detection and identification. In: *Methods in Microbiology*. 2015; 42: 525–54. <https://doi.org/10.1016/bs.mim.2015.06.004>
 96. Tang S., Stasiewicz M. J., Wiedmann M., Boor K.J., Bergholz T.M. Efficacy of different antimicrobials on inhibition of *Listeria monocytogenes* growth in laboratory medium and on cold-smoked salmon. *Int J Food Microbiol*. 2013; 3 (1): 265–75. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2013.05.018
 97. Chen H.-M., Wang Y., Su L.-H., Chiu C.-H. Nontyphoid *Salmonella* infection: microbiology, clinical features, and antimicrobial therapy. *Pediatr Neonatol*. 2013; 54 (3): 147–52. doi: 10.1016/j.pedneo.2013.01.010
 98. Dutta A., Bhattacharyya S., Kundu A., Dutta D., Das A.K. Macroscopic amyloid fiber formation by staphylococcal biofilm associated SuhB protein. *Biophys Chem*. 2016; 217: 32–41. doi: 10.1016/j.bpc.2016.07.006
 99. Qin H., Cao H., Zhao Y., Zhu C., Cheng T., Wang Q., et al. In vitro and in vivo anti-biofilm effects of silver nanoparticles immobilized on titanium. *Biomaterials*. 2014; 35 (33): 9114–25. doi: 10.1016/j.biomaterials.2014.07.040
 100. Zhao Y.L., Zhou Y.H., Chen J.Q., Huang Q.Y., Han Q., Liu B., et al. Quantitative proteomic analysis of sub-MIC erythromycin inhibiting biofilm formation of *S. suis* in vitro. *J Proteomics*. 2015; 116: 1–14. doi: 10.1016/j.jprot.2014.12.019
 101. Stasiewicz M.J., den Bakker H.C., Wiedmann M. Genomics tools in microbial food safety. *Curr Opin Food Sci*. 2015; 4: 105–10. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2015.06.002>
 102. Rantsiou K., Kathariou S., Winkler A., Skandamis P., Jimmy M., Saint-Cyr J., et al. Next generation microbiological risk assessment: opportunities of whole genome sequencing (WGS) for foodborne pathogen surveillance, source tracking and risk assessment. *Int J Food Microbiol*. 2018; 287: 3–9. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2017.11.007
 103. Moretro T., Schirmerab B.C.T., Heira E., Fagerlunda A., Hjemli P., Langsrud S. Tolerance to quaternary ammonium compound disinfectants may enhance growth of *Listeria monocytogenes* in the food industry. *Int J Food Microbiol*. 2017; 241: 215–24. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2016.10.025
 104. Shaw J.L.A., Monis P., Fabris R., Ho L., Braun K., Driks M., et al. Assessing the impact of water treatment on bacterial biofilms in drinking water distribution systems using high-throughput DNA sequencing. *Chemosphere*. 2014; 117: 185–92. doi: 10.1016/j.chemosphere.2014.06.077

Для корреспонденции

Ригер Николай Александрович – доктор медицинских наук,
старший научный сотрудник лаборатории иммунологии
ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии»
Адрес: 109240, Россия, г. Москва, Устьинский проезд, д. 2/14
Телефон: (495) 698-53-68
E-mail: riger@ion.ru
<https://orcid.org/0000-0001-7149-2485>

Ригер Н.А., Шипелин В.А., Апрытин С.А., Гмошинский И.В.

Иммунологические маркеры алиментарно-индуцированной гиперлипидемии у крыс линии Вистар

Immunological markers
of alimentary-induced
hyperlipidemia in Wistar rats

Riger N.A., Shipelin V.A., Apryatin S.A.,
Gmoshinski I.V.

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

Изменения концентраций основных групп цитокинов и адипокинов в плазме крови при гиперлипидемии и ожирении могут коррелировать с выраженностью обменных нарушений.

Цель исследования – оценка значимости грелина, лептина, их соотношения (L/Gh), а также цитокинового профиля в качестве биомаркеров при алиментарно-индуцированной гиперлипидемии.

Материал и методы. В работе использовали 48 самок крыс линии Вистар с исходной массой тела 123 ± 1 г, которые были разделены на 6 групп. Животные 1-й группы (контроль) получали сбалансированный полусинтетический рацион по AIN93; 2-й группы – рацион с избытком жиров (30% по массе); 3-й группы – рацион с добавлением 20% раствора фруктозы вместо питьевой воды; 4-й группы – рацион с избытком жиров и фруктозой; 5-й группы – рацион с добавкой холестерина (0,5%), 6-й группы – рацион с холестерином и фруктозой. На 64-й день эксперимента определяли массу внутренних органов, концентрацию цитокинов и адипокинов в плазме крови методом мультиплексного иммуноанализа.

Результаты и обсуждение. Выявлено снижение концентрации лептина в плазме крови животных 5-й группы по сравнению с животными контрольной, 2, 4 и 6-й групп ($p < 0,05$). Самый низкий уровень грелина обнаружен у крыс 2-й группы ($p < 0,05$) на фоне высоких концентраций лептина. Выявлены корреляционные связи между L/Gh и общей массой животных ($r = 0,321$; $p = 0,034$), относительной массой жировой ткани ($r = 0,439$; $p = 0,003$) и относительной массой селезенки ($r = -0,460$; $p = 0,003$). У крыс 2-й группы при максимальном отношении L/Gh выявлено статистически значимо большее количество жировой ткани, тогда как у животных 3-й и 5-й групп при самом низком L/Gh относительное количество общего жира было наименьшим. Значения L/Gh коррелировали с концентрацией моноцитарного хемотаксического протеина-1 (MCP-1), регулятора актива-

Для цитирования: Ригер Н.А., Шипелин В.А., Апрытин С.А., Гмошинский И.В. Иммунологические маркеры алиментарно-индуцированной гиперлипидемии у крыс линии Вистар // *Вопросы питания*. 2019. Т. 88, № 3. С. 44–52. doi: 10.24411/0042-8833-2019-10028.

Статья поступила в редакцию 13.03.2019. **Принята в печать** 20.05.2019.

For citation: Riger N.A., Shipelin V.A., Apryatin S.A., Gmoshinski I.V. Immunological markers of alimentary-induced hyperlipidemia in Wistar rats. *Voprosy pitaniia* [Problems of Nutrition]. 2019; 88 (3): 44–52. doi: 10.24411/0042-8833-2019-10028. (in Russian)

Received 13.03.2019. **Accepted** 20.05.2019.

ции экспрессии и секреции нормальных Т-клеток (RANTES), интерлейкина-18 и макрофагального колониестимулирующего фактора (M-CSF). Концентрации интерлейкинов-17, -18, -4, -5; макрофагального белка воспаления-3а, интерферона- γ , M-CSF и RANTES были снижены по сравнению с контролем в опытных группах, причем в наибольшей степени в 5-й группе на фоне самого низкого значения L/Gh.

Заключение. Наличие значимой корреляционной зависимости между L/Gh и изменениями массы тела, селезенки, жировой ткани крыс, а также уровнями цитокинов, участвующих в регуляции воспаления, подтверждает информативность L/Gh в качестве биомаркера на *in vivo* модели дислипидемии.

Ключевые слова: гиперлипидемия, холестерин, лептин, грелин, цитокины, крысы

Changes in plasma levels of the main groups of cytokines and adipokines may correlate with the severity of metabolic disorders in hyperlipidemia and obesity.

The aim of the study was to assess the significance of ghrelin, leptin, their ratio (L/Gh), and the cytokine profile as biomarkers at dietary-induced hyperlipidemia.

Material and methods. We used 48 female Wistar rats with an initial body weight of 123 ± 1 g, which were divided into 6 groups. Group 1 (control) received a balanced semi-synthetic diet according to AIN93; group 2 – diet with excess fat (30% by weight); group 3 – a diet with the addition of 20% fructose solution instead of drinking water, group 4 – a diet with excess fat and fructose, group 5 – a diet with added cholesterol (0.5%), group 6 – a diet with cholesterol and fructose. On the 64th day of the experiment, the mass of internal organs was determined; the levels of cytokines and adipokines in blood plasma were measured by multiplex immunoassay.

Results and discussion. A decrease in the level of leptin was found in group 5 compared with the control and with groups 2, 4 and 6 groups ($p < 0.05$). The lowest level of ghrelin was found in group 2 ($p < 0.05$) against the background of high concentrations of leptin. Significant correlations were found between L/Gh and the total mass of animals ($r = 0.321$; $p = 0.034$), the relative mass of adipose tissue ($r = 0.439$; $p = 0.003$) and with the relative mass of the spleen ($r = -0.460$; $p = 0.003$). In group 2, at the maximum L/Gh ratio, a significantly higher weight of adipose tissue was found, whereas in groups 3 and 5, at the lowest L/Gh ratio, the relative amount of total fat was the lowest. L/Gh ratio correlated with the level of monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1), RANTES, IL-18 and macrophage colony-stimulating factor (M-CSF). The concentrations of IL-17, IL-18, IL-4, IL-5, MIP-3a, IFN- γ , M-CSF and RANTES in the experimental groups were reduced compared with the control, with the most pronounced effect in group 5 together with the lowest L/Gh ratio.

Conclusion. The presence of a significant correlation between L/Gh ratio and changes in the weight of rats' body, spleen, adipose tissue, as well as levels of cytokines involved in inflammation regulation, confirms the importance of L/Gh ratio as a biomarker in an *in vivo* model of dyslipidemia.

Keywords: hyperlipidemia, cholesterol, leptin, ghrelin, cytokines, rats

Метаболический синдром (МС) представляет собой состояние, характеризующее висцеральным ожирением, артериальной гипертензией, дислипидемией, гипергликемией и резистентностью к инсулину. Избыток жировой ткани и прогрессирование МС ведут к нарушению соотношения уровней ряда групп цитокинов и адипокинов [1, 2], список которых постоянно расширяется, а их экспрессия взаимосвязана с количеством резидентных лейкоцитов, мигрирующих из сосудистого русла в жировую клетчатку, и ее гетерогенностью [3]. Выработка провоспалительных цитокинов [4, 5], маркеров прооксидантного статуса (продукты окисления липидов, мочевая кислота) [6, 7] и факторов тромбогенного риска [8], увеличивается при ожирении вместе с повышением концентрации лептина и нарастанием резистентности к нему [1]. Вместе с тем экспрессия противовоспалительных цитокинов [в частности интерлейкина-10

(IL-10)], грелина, адипонектина и продукция антиоксидантных факторов (параоксоназа/арилэстераза-1 – PON-1) уменьшаются при прогрессировании МС [9, 10].

Важнейшими белковыми гормоноподобными факторами, участвующими в поддержании энергетического гомеостаза организма, являются лептин, грелин и адипонектин. Механизмы взаимодействия лептина и грелина в регуляции метаболизма и расходования энергии менее изучены по сравнению с совместным действием лептина и адипонектина [11–14]. Анорексическое действие лептина обусловлено угнетением грелин-индуцированной экспрессии нейропептида Y нейронами дугообразных ядер гипоталамуса (NPY-нейроны), играющими основную роль в стимуляции аппетита [15]. В исследованиях по оценке программ уменьшения массы тела было отмечено, что увеличение отношения лептин/грелин (L/Gh) является предвестником сниже-

ния эффективности лечения и последующего нарастания жировой массы [16]. В связи с этим представляется целесообразной оценка изменения концентрации и соотношения лептина и грелина в крови в качестве биомаркеров развития нарушений метаболизма, обусловленных дислипидемией и ожирением.

Цель данного исследования – экспериментальная оценка значимости уровней грелина, лептина, их соотношения, а также цитокинового профиля в качестве биомаркеров при алиментарно-индуцированной гиперлипидемии у крыс.

Материал и методы

Исследования проведены на 48 крысах-самках линии Вистар с исходной массой тела 123 ± 1 г ($M \pm m$), полученных из питомника лабораторных животных Филиал «Столбовая» ФГБНУ «Научный центр биомедицинских технологий» ФМБА России. Работу с животными выполняли в соответствии с руководством [17] и Правилами надлежащей лабораторной практики (приказ Минздрава России от 01.04.2016 № 199н). Животных содержали по 2 особи в клетке при температуре 20–22 °С и режиме освещения 12/12 ч.

Животных распределили на 6 групп по 8 особей. Исходная масса тела животных в группах не различалась ($p > 0,05$, ANOVA). В течение 63 дней по ранее описанной методике [18] животные 1-й группы (контроль) получали стандартный полусинтетический рацион по AIN93 [19];

2-й группы – модифицированный рацион с избытком жиров (30% по массе сухого корма) за счет сниженного количества крахмала; 3-й группы – стандартный рацион с добавлением 20% раствора фруктозы вместо воды, 4-й группы – рацион с избытком жиров с добавлением 20% раствора фруктозы, 5-й группы – модифицированный рацион с избытком холестерина (0,5% по массе сухого корма), 6-й группы – рацион с избытком холестерина и добавлением 20% раствора фруктозы вместо воды. Все исследуемые рационы были низкокалорийными в потребляемых количествах. Животных выводили из эксперимента путем декапитации под эфирной анестезией. Кровь собирали в пробирки с добавлением 10% по объему антикоагулянта – 1% раствора гепарина в стерильном 0,15 М NaCl. После этого кровь центрифугировали при 600g в течение 15 мин для отделения плазмы. Образцы плазмы хранили при температуре -24 °С. У всех животных определяли массу внутренних органов (печень, селезенка, сердце, почки, тимус, легкие, головной мозг, жир подкожно-паховый, брыжеечный и забрюшинный) на электронных весах с точностью $\pm 0,01$ г.

Для определения уровня цитокинов и ростовых факторов использовали набор «Bio-Plex Pro Rat Cytokine Grp I Panel 24-Plex»; для определения уровня маркеров диабета (лептин, грелин) – набор «Bio-Plex Pro™ Reagent Kit», дополняемый реагентами: Pro-Rat 33-Plex Standards, Rat Diabetes Ghrelin SET и Rat Diabetes Leptin SET (Bio-Rad Laboratories, Inc., США). Исследования проводили на мультиплексном анализаторе «Luminex 200» (Luminex Corporation, США) с использованием программного обеспечения Luminex xPONENT Version 3.1.

Статистическую обработку полученных данных и корреляционный анализ выполняли с помощью программы SPSS 20.0 (SPSS Inc., США). Концентрацию адипокинов и цитокинов оценивали по медиане (*Me*) и интервалом изменений (*min-max*). Достоверность различия эмпирической функции распределения в группах животных оценивали с помощью непараметрического рангового критерия Манна–Уитни. Пороговое значение вероятности отклонения нулевой гипотезы было принято равным $p < 0,05$. Статистически значимыми коэффициенты корреляции (*r*) принимали при $p < 0,05$.

Результаты

У животных, получавших экспериментальные рационы, содержащие избыток жира, фруктозы, холестерина и их сочетания, были выявлены увеличение массы жировой ткани, накопление липидов в печени и характерные изменения в биохимических показателях плазмы крови, данные о которых были представлены в ранее опубликованной работе [18]. При сравнении показателей большинства опытных групп с контролем не выявлено значимых различий концентрации лептина и грелина, за исключением 5-й группы, у животных которой уровень лептина был достоверно снижен (рис. 1). Обнаруженное

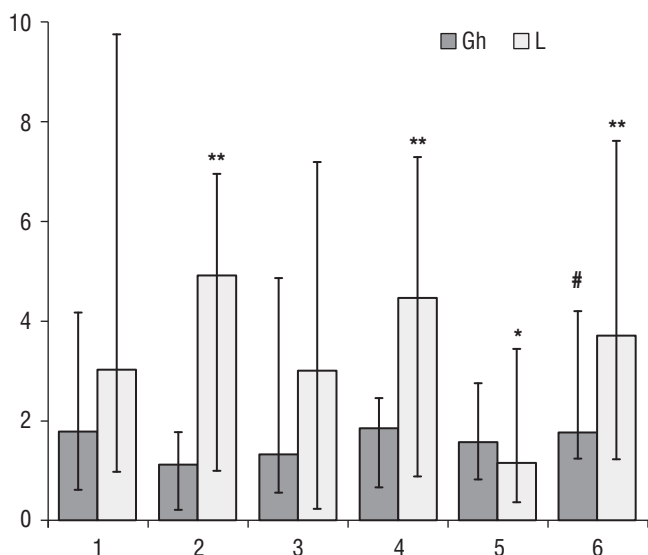


Рис. 1. Концентрация грелина (Gh) и лептина (L) в плазме крови крыс

По оси абсцисс: номера групп животных (1-я – контроль; 2-я – избыток жира; 3-я – избыток фруктозы; 4-я – избыток жира и фруктозы; 5-я – избыток холестерина; 6-я – избыток холестерина и фруктозы); по оси ординат – концентрация, пг/мл, *Me*, *min-max*. Статистически значимые отличия ($p < 0,05$) согласно критерию Манна–Уитни от показателя животных: * – из 1-й группы; ** – 5-й группы; # – 2-й группы.

снижение уровня лептина в 5-й группе было статистически значимым не только по сравнению с контролем, но и с показателями крыс 2, 4 и 6-й групп ($p < 0,05$).

Статистически значимые различия концентрации грелина выявлены между 2-й и 6-й группами ($p < 0,05$), причем при избытке жира в рационе выявлен самый низкий уровень грелина [$Me = 1,11$ (0,22–1,79) пг/мл] и наиболее высокая медиана концентрации лептина [$Me = 4,9$ (1,01–6,98) пг/мл]. При избытке холестерина отмечен самый низкий уровень лептина в плазме [$Me = 1,17$ (0,39–3,46) пг/мл] (см. рис. 1).

Изменения соотношения концентраций лептина и грелина (L/Gh) и относительной массы общего жира в зависимости от рационов сопоставлены на рис. 2. При избытке жирового компонента в рационе (2-я группа) медиана соотношения L/Gh в плазме была выше по сравнению с контролем и большинством опытных групп, однако различия не достигали уровня статистической значимости. Избыток фруктозы, холестерина и сочетание этих компонентов способствовали снижению отношения L/Gh. При избытке холестерина (5-я группа) показатель L/Gh был статистически значимо ниже по сравнению с таковым при избытке жира в рационе (2-я группа, $p < 0,05$).

Участие лептина и грелина в метаболических процессах накопления липидов и энергетических ресурсов подтверждается обнаружением положительной корреляции между индивидуальными значениями отношения L/Gh и показателями общей массы животных ($r = 0,321$; $p = 0,034$) и относительной массы жировой ткани ($r = 0,439$; $p = 0,003$). У животных 2-й группы при максимальном отношении L/Gh [$Me = 3,1$ (0,26–7,21)] выявлено достоверно большее относительное количество жировой ткани, а в 3-й и 5-й группах при самом низком отношении L/Gh относительное количество общего жира было, соответственно, наименьшим, причем у животных 5-й группы относительная масса общего жира была статистически значимо меньше по сравнению с показателем у крыс 2-й и 4-й групп (рис. 2).

Выявлены корреляционные связи между значениями L/Gh, массой органов и тканей и концентрациями ряда цитокинов в плазме. Так, в частности:

- отношение L/Gh коррелировало с концентрацией моноцитарного хемотаксического протеина-1 (MCP-1) ($r = 0,36$; $p = 0,015$) и регулятора активации экспрессии и секреции нормальных Т-клеток (RANTES) ($r = 0,37$; $p = 0,014$);
- общая масса тела в конце эксперимента – с концентрацией IL-18 ($r = 0,32$; $p = 0,036$) и RANTES ($r = 0,32$; $p = 0,036$);
- относительная масса селезенки – с концентрацией макрофагального колониестимулирующего фактора (M-CSF) ($r = -0,33$; $p = 0,031$) и отношением L/Gh ($r = -0,460$; $p = 0,003$).

Наряду с этим установлены групповые различия по концентрациям в плазме эритропоэтина, IL-4, IL-5, IL-17, интерферона- γ (IFN- γ), макрофагального белка воспаления-3а (MIP-3а), фактора некроза опухоли α (TNF- α), IL-18, макрофагального колониестимули-

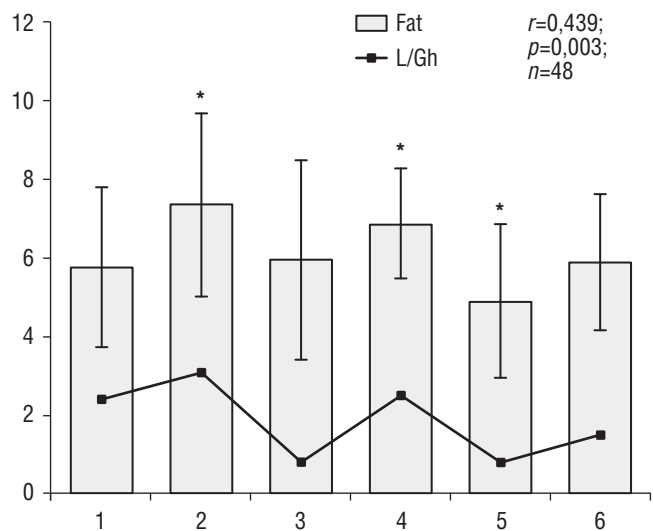


Рис. 2. Связь между соотношением концентраций лептина и грелина (L/Gh) и относительной жировой массой у крыс разных групп

По оси абсцисс: номера групп животных (1-я – контроль; 2-я – избыток жира; 3-я – избыток фруктозы; 4-я – избыток жира и фруктозы; 5-я – избыток холестерина; 6-я – избыток холестерина и фруктозы); по оси ординат – L/Gh (ломаная линия) и жировая масса (Fat), $M \pm m$ (гистограмма) в относительных единицах; * – статистически значимое отличие ($p < 0,05$) согласно критерию Манна–Уитни от показателя животных 5-й группы.

рующего фактора (M-CSF и RANTES) (см. таблицу). Отмечено статистически значимое по сравнению с контролем снижение уровня M-CSF в плазме животных 3, 5 и 6-й групп. Среди других провоспалительных цитокинов по сравнению с контролем на фоне индуцированной гиперлипидемии достоверно ($p < 0,05$) уменьшились концентрации IL-17 (3-я и 5-я группы), MIP-3а, IFN- γ и RANTES (5-я группа), TNF- α (6-я группа). Наиболее выраженное снижение большинства провоспалительных пептидов выявлено в 5-й группе на фоне самых низких показателей отношения L/Gh и относительной массы общего жира (см. таблицу; см. рис. 2). Концентрация IL-18 была статистически значимо ниже у крыс 5-й группы по сравнению с уровнем у животных 2-й и 6-й групп (см. таблицу). Уровень противовоспалительного цитокина IL-5 у крыс 5-й группы был достоверно ниже по сравнению с крысами контрольной и 6-й групп.

Обсуждение

В настоящее время растет число доказательств, что воспаление на фоне висцерального ожирения является важнейшим патогенетическим фактором развития резистентности к инсулину при MC [20]. Избыточно накапливаемая жировая ткань выступает в роли эндокринного органа, активно продуцирующего ряд гормонов и цитокинов [3, 21]. Увеличение продукции провоспалитель-

Уровни цитокинов в плазме крови крыс, пг/мл

Цитокин		Группа животных (n=8)					
		1-я	2-я	3-я	4-я	5-я	6-я
EPO	Me	0,11	0,17 ⁵	0,08	0,20 ⁵	0,04 ^{2, 4, 6}	0,19 ⁵
	min-max	0,08–0,63	0,03–0,93	0,03–0,38	0,00–0,83	0,00–0,30	0,00–0,59
IL-4	Me	0,07	0,04 ⁶	0,03 ⁶	0,05	0,04 ⁶	0,07 ^{2, 3, 5}
	min-max	0,00–0,23	0,00–0,10	0,02–0,08	0,02–0,07	0,01–0,49	0,03–1,01
IL-5	Me	0,15 ⁵	0,10	0,10	0,12	0,09 ^{1, 6}	0,12 ⁵
	min-max	0,06–0,22	0,05–0,18	0,05–0,23	0,08–0,22	0,01–0,12	0,09–0,78
IL-17	Me	0,05 ^{3, 5}	0,04 ⁵	0,02 ^{1, 4, 6}	0,04 ³	0,02 ^{1, 2}	0,05 ³
	min-max	0,02–0,26	0,02–0,10	0,01–0,05	0,02–0,19	0,00–0,07	0,01–0,39
IFN- γ	Me	0,09 ⁵	0,04 ⁵	0,04	0,04 ⁵	0,1 ^{2, 4, 6}	0,15 ⁵
	min-max	0,00–0,50	0,00–0,30	0,00–0,14	0,00–0,14	0,00–0,05	0,03–1,87
MIP-3a	Me	0,15 ⁵	0,10	0,10	0,12	0,09 ^{1, 6}	0,12 ⁵
	min-max	0,06–0,22	0,05–0,18	0,05–0,23	0,08–0,22	0,01–0,12	0,09–0,78
TNF- α	Me	0,05 ⁶	0,03	0,03	0,07 ⁶	0,04	0,01 ^{1, 4}
	min-max	0,01–0,14	<0,006–0,09	<0,006–0,08	<0,006–1,80	<0,006–0,07	<0,006–0,07
IL-18	Me	0,14	0,41 ⁵	0,29	0,45	0,17 ^{2, 6}	0,43 ⁵
	min-max	0,06–0,73	0,00–1,11	0,11–0,98	0,00–1,44	0,00–0,57	0,00–0,85
M-CSF	Me	1,07 ^{3, 5, 6}	0,91	0,88 ^{1, 6}	0,83 ⁶	0,78 ¹	0,64 ^{1, 3, 4}
	min-max	0,88–1,27	0,29–1,32	0,70–1,14	0,72–1,24	0,51–0,89	0,52–0,91
RANTES	Me	1,19 ⁵	0,67	0,62	0,77	0,37 ¹	0,55
	min-max	0,43–2,43	0,26–0,99	0,21–1,21	0,32–2,04	0,20–1,28	0,35–2,84
MCP-1	Me	1,17	0,68	1,06	1,41	0,94	0,81
	min-max	0,59–2,03	0,49–2,02	0,35–2,08	0,13–3,60	0,43–1,65	0,46–1,49

Примечание. Надстрочные индексы – номера групп, различия между показателями которых статистически значимы ($p < 0,05$) согласно критерию Манна–Уитни; EPO – эритропоэтин; IL – интерлейкин; IFN- γ – интерферон- γ ; MIP-3a – макрофагальный белок воспаления-3a; TNF- α – фактор некроза опухоли α ; M-CSF – макрофагальный колониестимулирующий фактор; RANTES – регулятор активации экспрессии и секреции нормальных T-клеток; MCP-1 – моноцитарный хемотаксический протеин-1.

тельных цитокинов [4, 5], повышение концентрации лептина и нарастание резистентности к нему коррелируют с выраженностью обменных нарушений [1, 9, 10].

В полученных нами данных из 24 цитокинов и ростовых факторов в плазме крыс статистически значимые различия между показателями животных контрольной и опытных групп были выявлены для EPO, IL-4, IL-5, IL-17, IFN- γ , MIP-3a, TNF- α , IL-18, M-CSF и RANTES (см. таблицу). Однако взаимосвязь с накоплением жировых отложений и динамикой отношения L/Gh, массы тела и органов обнаружена только для MCP-1, M-CSF, IL-18 и RANTES. По своему иммунологическому механизму индуцированное ожирением воспаление имеет много общего с классическими воспалительными реакциями, вызванными патогенами различной природы. Однако при вялотекущем воспалении в жировой ткани продуцируется значительно меньшее количество цитокинов [20].

Иммунокомпетентным клеткам, мигрирующим в жировую клетчатку из периферической крови, отводится главная роль в регуляции индуцированного ожирением воспаления. В избыточно накапливаемой жировой ткани возрастает количество и активность макрофагов, дендритных клеток, нейтрофилов, тучных клеток, эозинофилов, Th₁/Th₂/T_{regs}-популяций T-клеток и B-клеток. Выраженность воспаления в жировой ткани зависит от соотношения про- и противовоспалительных клеточных

субпопуляций, однако при ожирении этот иммунорегуляторный баланс чаще сдвинут в сторону провоспалительного статуса [22].

Степень повышения циркулирующих провоспалительных факторов при ожирении может быть незначительной и не отражать в полной мере характер обменных изменений, развивающихся на фоне MC. Вследствие этого большинство цитокинов не могут выступать в роли высокоспецифичных биомаркеров метаболических нарушений. Использование альтернативных моделей гиперлипидемии и MC у крыс (кормление высокожировым, высокохолестериновым рационами в комбинации с добавкой фруктозы) выявило ряд различий между опытными группами в цитокиновом и адипокиновом профилях (см. рис. 1; см. таблицу). Это подтверждает возникающие нарушения иммунитета при различной степени ожирения и гиперлипидемии. Однако четкой зависимости между концентрацией большинства исследуемых цитокинов и изменением массы органов и тканей в проведенном исследовании не обнаружено, за исключением крыс, получавших избыток холестерина в рационе (5-я группа). В этой группе животных меньшее относительное количество жира прямо коррелирует с отношением L/Gh и сочетается со значимым снижением уровня большинства цитокинов в плазме. В остальных группах такого явления не наблюдалось.

Результаты оценки уровня циркулирующих адипокинов на *in vivo* моделях индуцированного рациона ожирения и в клинических исследованиях подтвердили, что изменения в соотношении лептина и адипонектина (L/A) более информативны по сравнению с динамикой концентрации каждого из этих маркеров в сыворотке по отдельности [12, 14]. Лимитирующими факторами использования отношения L/A являются более высокая концентрация адипонектина у самок животных и лиц женского пола и более значимая ассоциация с МС у женщин, чем у мужчин [11, 13]. В проведенных нами исследованиях не выявлено значимых различий концентраций лептина и грелина в плазме животных контрольной и большинства опытных групп, за исключением 5-й группы (рацион с избытком холестерина), у крыс которой уровень лептина был достоверно снижен по сравнению с контролем, а также с показателями животных 2, 4 и 6-й групп (см. рис. 1). Поэтому оценка абсолютных концентраций, как свидетельствуют результаты исследований, по аналогии с концентрациями лептина и адипонектина, про- и противовоспалительных цитокинов остается недостаточно информативной для мониторинга течения МС [12, 14]. Как правило, при исследовании *in vivo* цитокинового и адипокинового спектра, про- и антиоксидантной активности наблюдается широкая индивидуальная дисперсия показателей [20, 23]. Похожая ситуация была обнаружена в ранее проведенных нами исследованиях на мышах C57Bl/6 [24]: показатели цитокинового профиля, концентрации лептина и грелина в большинстве случаев не различались у животных контрольной и опытных групп.

Основной результат антагонизма лептина и грелина проявляется в регуляции потребления пищи, накопления жировой ткани и расхода энергии. Лептин супрессирует эффект грелина через метаболические пути фосфоинозитид-3-киназы/Akt (PI3k/Akt) и фосфодиэстеразы 3 (PDE3) [20]. Кроме того, низкая концентрация глюкозы потенцирует активирующее действие грелина, а инсулин, наоборот, усиливает супрессорное влияние лептина на NPY-нейроны [16]. Иммуногистохимические исследования свидетельствуют, что грелин-специфические рецепторы (GHSR) и рецепторы к лептину (OB-Rb) коэкспрессируются более чем в 90% нейронов дугообразных ядер гипоталамуса [25]. Такая тесная взаимосвязь отражает значимость отношения L/Gh в качестве биомаркера. Это подтверждается положительной корреляцией между отношением L/Gh и массой тела животных, а также относительной массой жировой ткани. По окончании эксперимента у животных 2-й группы при максимальном отношении L/Gh (см. рис. 2) выявлено статистически значимо большее относительное количество жировых отложений по сравнению с крысами из 5-й группы, у которых выявлено достоверно самое низкое значение L/Gh. Взаимосвязь между изменением L/Gh и массой органов и тканей во многом может быть обусловлена участием лептина и грелина в регуляции ангиогенеза и формировании

фиброзных изменений, которые наблюдаются при ожирении и МС. В частности, грелин обладает проангиогенными и антифибротическими свойствами за счет участия в активации сигнального пути Vcl-2 (белок, регулятор апоптоза), супрессирующего процессы апоптоза [26]. Системное введение грелина мышам, получающим обогащенный жирами рацион, способствовало увеличению уровня фактора роста эндотелия (VEGF) и снижению концентрации лептина и окиси азота (II) в сыворотке крови [27].

На этом фоне закономерным фактом становится значимая обратная корреляция между показателем L/Gh и относительной массой селезенки. При этом выявлена отрицательная корреляция между уровнем M-CSF в плазме и относительной массой селезенки. На фоне диет, индуцирующих гиперлипидемию, уровень M-CSF снижался по сравнению с контролем у животных во всех опытных группах, кроме 2-й группы, что согласуется с данными работы [28] и отрицательно коррелирует с ранее выявленным накоплением жира в печени крыс [18].

Механизмы влияния рационов с повышенной энергетической плотностью и уровнем холестерина на гемопоз и активную миграцию лейкоцитов в строму жировой ткани пока не вполне ясны [29, 30]. Исследование экспрессии в костном мозге мРНК гемопоэтических ростовых факторов и лептина при ожирении не выявило различий в содержании гранулоцитарно-моноцитарных колониестимулирующих факторов (G-CSF, GM-CSF и M-CSF), хотя был обнаружен достоверно повышенный уровень мРНК лептина по сравнению с контролем [31]. Возможно, в избыточных концентрациях лептин выступает в роли хемоаттрактанта, увеличивающего выход зрелых клеток крови из костного мозга в сосудистое русло с последующей миграцией в жировую ткань.

Лептин и грелин наравне с цитокинами обладают плейотропной активностью и участвуют в механизмах регуляции хронического вялотекущего воспаления [22, 32]. Структурно лептин содержит 4 α -спиральных домена – 2 пары α -спиралей, расположенных под углом друг к другу. Эти домены обладают большим сходством с участками α -спиралей длинных цепей большинства цитокинов и хемокинов [20, 23]. Рецепторы лептина OB-Rb, помимо их высокой экспрессии в ядрах гипоталамуса, обнаруживаются на различных субпопуляциях T-, B- и NK-лимфоцитов, дендритных клетках, моноцитах/макрофагах и гранулоцитах у грызунов и человека [32]. Известно, что цитокины IL-18, MCP-1, RANTES и M-CSF также содержат α -спиральные домены, а их рецепторные структуры имеют большое сходство с рецепторами лептина. Поэтому корреляционная зависимость между отношением L/Gh, показателями абсолютной и относительной массы органов и тканей и достоверно изменяющимися концентрациями IL-18, MCP-1, RANTES и M-CSF в плазме крови крыс свидетельствует о роли лептина наравне с перечисленными цитокинами в регуляции иммунного ответа

[32]. Дальнейшие исследования механизмов развития лептин/лептин-рецептор и грелин/грелин-рецептор резистентности позволят использовать эти сигнальные пути как мишени для целевого воздействия на патофизиологию иммунных и метаболических расстройств при МС и ожирении.

Заключение

Таким образом, в проведенном исследовании выявлен специфический характер изменений соотношения лептина и грелина L/Gh у крыс на альтернативных моделях дислипидемии, вызванной потреблением жира, легкоусвояемых углеводов или холестерина. Наличие корреляционных взаимосвязей отношения

L/Gh с изменениями массы тела, селезенки и жировой ткани, а также уровнями цитокинов, участвующих в регуляции воспаления, указывает на информативность отношения L/Gh как биомаркера направленности и тяжести обменных нарушений при МС и ожирении.

Финансирование. Работа проведена за счет средств субсидии на выполнение государственного задания в рамках Программы фундаментальных научных исследований (тема ФАНО России № 0529-2015-0006 «Поиск новых молекулярных маркеров алиментарно-зависимых заболеваний: геномный и постгеномный анализ»).

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

Сведения об авторах

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

Ригер Николай Александрович (Riger Nikolay A.) – доктор медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории иммунологии

E-mail: rieger_63@mail.ru

<https://orcid.org/0000-0001-7149-2485>

Апратин Сергей Алексеевич (Apryatin Sergey A.) – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории метаболомного и протеомного анализа

E-mail: apryatin@mail.ru

<https://orcid.org/0000-0002-6543-7495>

Шипелин Владимир Александрович (Shipelin Vladimir A.) – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории пищевой токсикологии и оценки безопасности нанотехнологий

E-mail: v.shipelin@yandex.ru

<https://orcid.org/0000-0002-0015-87354>

Гмошинский Иван Всеволодович (Gmoshinski Ivan V.) – доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории пищевой токсикологии и оценки безопасности нанотехнологий

E-mail: gmosh@ion.ru

<https://orcid.org/0000-0002-3671-6508>

Литература

1. Srikanthan K., Feyh A., Visweshwar H., Sodhi K. Systematic review of metabolic syndrome biomarkers: a panel for early detection, management, and risk stratification in the West Virginian population // *Int. J. Med. Sci.* 2016. Vol. 13, N 1. P. 25–38.
2. Cui H., López M., Rahmouni K. The cellular and molecular bases of leptin and ghrelin resistance in obesity // *Nat. Rev. Endocrinol.* 2017. Vol. 13, N 6. P. 338–351.
3. Deng Y., Scherer P.E. Adipokines as novel biomarkers and regulators of the metabolic syndrome // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 2011. Vol. 1226, N 1. P. 50–69.
4. Aroor A.R., McKarns S., Demarco V.G., Jia G., Sowers J.R. Maladaptive immune and inflammatory pathways lead to cardiovascular insulin resistance // *Metabolism.* 2013. Vol. 62, N 11. P. 1543–1552.
5. Musialik K. The influence of chosen adipocytokines on blood pressure values in patients with metabolic syndrome // *Kardiol. Pol.* 2012. Vol. 70, N 12. P. 1237–1242.
6. Kelly A.S., Jacobs D.R., Sinaiko A.R., Moran A., Steffen L.M., Steinberger J. Relation of circulating oxidized LDL to obesity and insulin resistance in children // *Pediatr. Diabetes.* 2010. Vol. 11, N 8. P. 552–555.
7. Silva H.A., Carraro J.C., Bressan J., Hermsdorff H.H. Relation between uric acid and metabolic syndrome in subjects with cardiovascular metabolic risk // *Einstein.* 2015. Vol. 13, N 2. P. 202–208.
8. Lallukka S., Luukkonen P.K., Zhou Y., Isokuortti E., Leivonen M., Juuti A. et al. Obesity/insulin resistance rather than liver fat increases coagulation factor activities and expression in humans // *Thromb. Haemost.* 2017. Vol. 117, N 2. P. 286–294.
9. Gotoh K., Fujiwara K., Anai M., Okamoto M., Masaki T., Kakuma T. et al. Role of spleen-derived IL-10 in prevention of systemic low-grade inflammation by obesity // *Endocr. J.* 2017. Vol. 64, N 4. P. 375–378.
10. Martinelli N., Micaglio R., Consoli L., Guarini P., Grison E., Pizzolo F. et al. Low levels of serum paraoxonase activities are characteristic of metabolic syndrome and may influence the metabolic-syndrome-related risk of coronary artery disease // *Exp. Diabetes Res.* 2012. Vol. 2012. Article ID 231502.
11. Cicero A.F., Magni P., More M., Ruscica M., Borghi C., Strollo F. et al. Metabolic syndrome, adipokines and hormonal factors in pharmacologically untreated adult elderly subjects from the Brisighella Heart Study historical cohort // *Obes. Facts.* 2012. Vol. 5, N 3. P. 319–326.
12. Falahi E., Khalkhali Rad A.H., Roosta S. What is the best biomarker for metabolic syndrome diagnosis? // *Diabetes Metab. Syndr.* 2015. Vol. 9, N 4. P. 366–372.
13. Finucane F.M., Luan J., Wareham N.J., Sharp S.J., O’Rahilly S., Balkau B. et al. Correlation of the leptin: adiponectin ratio with

- measures of insulin resistance in non-diabetic individuals // *Diabetologia*. 2009. Vol. 52, N 11. P. 2345–2349.
14. Kotani K., Sakane N. Leptin: adiponectin ratio and metabolic syndrome in the general Japanese population // *Korean J. Lab. Med.* 2011. Vol. 31, N 3. P. 162–166.
 15. Kohno D., Nakata M., Maekawa F., Fujiwara K., Maejima Y., Kuramochi M. et al. Leptin suppresses ghrelin-induced activation of neuropeptide Y neurons in the arcuate nucleus via phosphatidylinositol 3-kinase- and phosphodiesterase 3-mediated pathway // *Endocrinology*. 2007. Vol. 148, N 5. P. 2251–2263.
 16. Williams R.L., Wood L.G., Collins C.E., Morgan P.J., Callister R. Energy homeostasis and appetite regulating hormones as predictors of weight loss in men and women // *Appetite*. 2016. Vol. 101. P. 1–7.
 17. Guide for the care and use of laboratory animals. Committee for the Update of the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals; Institute for Laboratory Animal Research (ILAR); Division on Earth and Life Studies (DELS); National Research Council of the national academies. 8th ed. Washington : The National Academies Press, 2011. 248 p.
 18. Апрытин С.А., Мжельская К.В., Трусов Н.В., Балакина А.С., Кулакова С.Н., Сото Х.С., и др. Сравнительная характеристика *in vivo* моделей гиперлипидемии у крыс линии Вистар и мышей линии C57Bl/6 // *Вопр. питания*. 2016. Т. 85, № 6. С. 24–33.
 19. Reeves P.C. AIN-93 Purified Diets for the Study of Trace Elements Metabolism in Rodents. Trace Elements in Laboratory Rodents / ed. R.R. Watson. CRC Press, 1997. P. 3–34.
 20. Lee B.C., Lee J. Cellular and molecular players in adipose tissue inflammation in the development of obesity-induced insulin resistance // *Biochim. Biophys. Acta*. 2014. Vol. 1842, N 3. P. 446–462.
 21. Ouchi N., Parker J.L., Lugus J.J., Walsh K. Adipokines in inflammation and metabolic disease // *Nat. Rev. Immunol.* 2011; 11 (2): 85–97.
 22. Li L., Duan M., Chen W., Jiang A., Li X., Yang J. et al. The spleen in liver cirrhosis: revisiting an old enemy with novel targets // *J. Transl. Med.* 2017. Vol. 15, N 1. P. 111–120.
 23. López-Jaramillo P., Gómez-Arbeláez D., López-López J., López-López C., Martínez-Ortega J., Gómez-Rodríguez A. et al. The role of leptin/adiponectin ratio in metabolic syndrome and diabetes // *Norm. Mol. Biol. Clin. Invest.* 2014. Vol. 18, N 1. P. 37–45.
 24. Ригер Н.А., Евстратова В.С., Апрытин С.А., Гмошинский И.В., Ханферьян Р.А. Значение соотношения концентраций лептина и грелина как биомаркера при индуцированной диетой гиперлипидемии у самок мышей C57Black/6J // *Мед. иммунология*. 2018. Т. 20, № 3. С. 341–352.
 25. Perello M., Scott M.M., Sakata I., Lee C.E., Chuang J.C., Osborne-Lawrence S. et al. Functional implications of limited leptin receptor and ghrelin receptor coexpression in the brain // *J. Comp. Neurol.* 2012. Vol. 520. P. 281–294.
 26. Katare R., Rawal S., Munasinghe P.E., Tsuchimochi H., Inagaki T., Fujii Y. et al. Ghrelin promotes functional angiogenesis in a mouse model of critical limb ischemia through activation of proangiogenic microRNAs // *Endocrinology*. 2016. Vol. 157, N 2. P. 432–445.
 27. Khazaei M., Tahergorabi Z. Systemic ghrelin administration alters serum biomarkers of angiogenesis in diet-induced obese mice // *Int. J. Pept.* 2013. Article ID 249565. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.hindawi.com/journals/ijpep/2013/249565/>
 28. Amano S.U., Cohen J.L., Vangala P., Tencerova M., Nicoloso S.M., Yawe J.C. et al. Local proliferation of macrophages contributes to obesity-associated adipose tissue inflammation // *Cell Metab.* 2014. Vol. 19, N 1. P. 162–171.
 29. Ye J., Gimble J.M. Regulation of stem cell differentiation in adipose tissue by chronic inflammation // *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 2011. Vol. 38, N 12. P. 872–878.
 30. Trottier M.D., Naaz A., Kacynski K., Yenumula P.R., Fraker P.J. Functional capacity of neutrophils from class III obese patients // *Obesity (Silver Spring)*. 2012. Vol. 20, N 5. P. 1057–1065.
 31. Trottier M.D., Naaz A., Li Y., Fraker P.J. Enhancement of hematopoiesis and lymphopoiesis in diet-induced obese mice // *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2012. Vol. 109, N 20. P. 7622–7629.
 32. Pérez-Pérez A., Vilariño-García T., Fernández-Riejos P., Martín-González J., Segura-Egea J.J., Sánchez-Margalet V. Role of leptin as a link between metabolism and the immune system // *Cytokine Growth Factor Rev.* 2017. Vol. 35. P. 71–84.

References

1. Srikanthan K., Feyh A., Visweshwar H., Sodhi K. Systematic review of metabolic syndrome biomarkers: a panel for early detection, management, and risk stratification in the West Virginian population. *Int J Med Sci.* 2016; 13 (1): 25–38.
2. Cui H., López M., Rahmouni K. The cellular and molecular bases of leptin and ghrelin resistance in obesity. *Nat Rev Endocrinol.* 2017; 13 (6): 338–51.
3. Deng Y., Scherer P.E. Adipokines as novel biomarkers and regulators of the metabolic syndrome. *Ann NY Acad Sci.* 2011; 1226 (1): 50–69.
4. Aroor A.R., McKarns S., Demarco V.G., Jia G., Sowers J.R. Maladaptive immune and inflammatory pathways lead to cardiovascular insulin resistance. *Metabolism.* 2013; 62 (11): 1543–52.
5. Musialik K. The influence of chosen adipocytokines on blood pressure values in patients with metabolic syndrome. *Kardiol Pol.* 2012; 70 (12): 1237–42.
6. Kelly A.S., Jacobs D.R., Sinaiko A.R., Moran A., Steffen L.M., Steinberger J. Relation of circulating oxidized LDL to obesity and insulin resistance in children. *Pediatr Diabetes.* 2010; 11 (8): 552–5.
7. Silva H.A., Carraro J.C., Bressan J., Hermsdorff H.H. Relation between uric acid and metabolic syndrome in subjects with cardio-metabolic risk. *Einstein.* 2015; 13 (2): 202–8.
8. Lallukka S., Luukkonen P.K., Zhou Y., Isokuortti E., Leivonen M., Juuti A., et al. Obesity/insulin resistance rather than liver fat increases coagulation factor activities and expression in humans. *Thromb Haemost.* 2017; 117 (2): 286–94.
9. Gotoh K., Fujiwara K., Anai M., Okamoto M., Masaki T., Kakuma T., et al. Role of spleen-derived IL-10 in prevention of systemic low-grade inflammation by obesity. *Endocr J.* 2017; 64 (4): 375–8.
10. Martinelli N., Micaglio R., Consoli L., Guarini P., Grison E., Pizzolo F., et al. Low levels of serum paraoxonase activities are characteristic of metabolic syndrome and may influence the metabolic-syndrome-related risk of coronary artery disease. *Exp Diabetes Res.* 2012; 2012: 231502.
11. Cicero A.F., Magni P., More M., Ruscica M., Borghi C., Strollo F., et al. Metabolic syndrome, adipokines and hormonal factors in pharmacologically untreated adult elderly subjects from the Brisighella Heart Study historical cohort. *Obes Facts.* 2012; 5 (3): 319–26.
12. Falahi E., Khalkhali Rad A.H., Roosta S. What is the best biomarker for metabolic syndrome diagnosis? *Diabetes Metab Syndr.* 2015; 9 (4): 366–72.
13. Finucane F.M., Luan J., Wareham N.J., Sharp S.J., O'Rahilly S., Balkau B., et al. Correlation of the leptin: adiponectin ratio with measures of insulin resistance in non-diabetic individuals. *Diabetologia.* 2009; 52 (11): 2345–9.
14. Kotani K., Sakane N. Leptin: adiponectin ratio and metabolic syndrome in the general Japanese population. *Korean J Lab Med.* 2011; 31 (3): 162–6.
15. Kohno D., Nakata M., Maekawa F., Fujiwara K., Maejima Y., Kuramochi M., et al. Leptin suppresses ghrelin-induced activation of neuropeptide Y neurons in the arcuate nucleus via phosphati-

- dylinositol 3-kinase- and phosphodiesterase 3-mediated pathway. *Endocrinology*. 2007; 148 (5): 2251–63.
16. Williams R.L., Wood L.G., Collins CE., Morgan P.J., Callister R. Energy homeostasis and appetite regulating hormones as predictors of weight loss in men and women. *Appetite*. 2016; 101: 1–7.
 17. Guide for the care and use of laboratory animals. Committee for the Update of the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals; Institute for Laboratory Animal Research (ILAR); Division on Earth and Life Studies (DELS); National Research Council of the national academies. 8th ed. Washington: The National Academies Press, 2011: 248 p.
 18. Apryatina S.A., Mzhel'skaya K.V., Trusov N.V., Balakina A.S., Kulakova S.N., Soto Kh.S., et al. Comparative in vivo characterization of hyperlipidemia models in Wistar rats and C57Bl / 6 mice. *Voprosy pitaniia* [Problems of Nutrition]. 2016; 85 (6): 24–33. (in Russian)
 19. Reeves P.C. AIN-93 purified diets for the study of trace elements metabolism in rodents. Trace elements in laboratory rodents. Edited by R.R. Watso. CRC Press, 1997: 3–34.
 20. Lee B.C., Lee J. Cellular and molecular players in adipose tissue inflammation in the development of obesity-induced insulin resistance. *Biochim Biophys Acta*. 2014; 1842 (3): 446–62.
 21. Ouchi N., Parker J.L., Lugus J.J., Walsh K. Adipokines in inflammation and metabolic disease. *Nat Rev Immunol*. 2011; 11 (2): 85–97.
 22. Li L., Duan M., Chen W., Jiang A., Li X., Yang J., et al. The spleen in liver cirrhosis: revisiting an old enemy with novel targets. *J Transl Med*. 2017; 15 (1): 111–20.
 23. López-Jaramillo P., Gómez-Arbeláez D., López-López J., López-López C., Martínez-Ortega J., Gómez-Rodríguez A., et al. The role of leptin/adiponectin ratio in metabolic syndrome and diabetes. *Horm Mol Biol Clin Invest*. 2014; 18 (1): 37–45.
 24. Riger N.A., Evstratova V.S., Apryatina S.A., Gmshinskiy I.V., Khanferyan R.A. Importance of the leptin/grelin ratio as a bio-marker in dietary induced hyperlipidemia in female C57Black/6 mice. *Meditinskaya immunologiya* [Medical Immunology]. 2018; 20 (3): 341–52. (in Russian)
 25. Perello M., Scott M.M., Sakata I., Lee C.E., Chuang J.C., Osborne-Lawrence S., et al. Functional implications of limited leptin receptor and ghrelin receptor coexpression in the brain. *J Comp Neurol*. 2012; 520: 281–94.
 26. Katare R., Rawal S., Munasinghe P.E., Tsuchimochi H., Inagaki T., Fujii Y., et al. Ghrelin promotes functional angiogenesis in a mouse model of critical limb ischemia through activation of proangiogenic microRNAs. *Endocrinology*. 2016; 157 (2): 432–45.
 27. Khazaei M., Tahergorabi Z. Systemic ghrelin administration alters serum biomarkers of angiogenesis in diet-induced obese mice. *Int J Pept*. 2013: 249565 [Electronic Resource]. URL: <https://www.hindawi.com/journals/ijpep/2013/249565/>.
 28. Amano S.U., Cohen J.L., Vangala P., Tencerova M., Nicoloro S.M., Yawe J.C., et al. Local proliferation of macrophages contributes to obesity-associated adipose tissue inflammation. *Cell Metab*. 2014; 19 (1): 162–171.
 29. Ye J., Gimble J.M. Regulation of stem cell differentiation in adipose tissue by chronic inflammation. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2011; 38 (12): 872–8.
 30. Trottier M.D., Naaz A., Kacynski K., Yenumula P.R., Fraker P.J. Functional capacity of neutrophils from class III obese patients. *Obesity* (Silver Spring). 2012; 20 (5): 1057–65.
 31. Trottier M.D., Naaz A., Li Y., Fraker P.J. Enhancement of hematopoiesis and lymphopoiesis in diet-induced obese mice. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2012; 109 (20): 7622–9.
 32. Pérez-Pérez A., Vilariño-García T., Fernández-Riejos P., Martín-González J., Segura-Egea J.J., Sánchez-Margalet V. Role of leptin as a link between metabolism and the immune system. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2017; 35: 71–84.

Для корреспонденции

Сидорова Юлия Сергеевна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории пищевых биотехнологий и специализированных продуктов ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии»
 Адрес: 109240, 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., Шипелин В.А., Зорин С.Н., Кочеткова А.А., Мазо В.К.

Влияние полифенолов листьев черники на степень тревожности, пространственное обучение и память у мышей линии db/db

The impact of bilberry leaves' polyphenols on the anxiety level, spatial learning and memory of db/db mice

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

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

В многочисленных экспериментальных и клинических исследованиях показана высокая эффективность растительных полифенольных соединений в восстановлении возрастных нарушений памяти и обучаемости. Путем сорбции водного раствора экстракта листьев черники на гречневой муке, позволившей сконцентрировать полифенолы и повысить их стабильность при хранении, получен функциональный пищевой ингредиент (ФПИ).

Цель работы – оценка влияния разработанного ФПИ, содержащего полифенолы листьев черники, на степень тревожности, двигательную активность, память и способность к обучению у мышей линии db/db с генетически обусловленным сахарным диабетом 2 типа.

Материал и методы. Эксперимент был проведен с использованием 10 мышей-самцов гетерозигот линии db/db и 10 мышей-самцов гомозигот линии db/+ в качестве группы сравнения в возрасте 7 нед. Животные были разделены на 3 группы по массе тела, уровню глюкозы, показателю инсулинорезистентности и по результатам теста «Приподнятый крестообразный лабиринт» (ПКЛ): контрольная группа К1 – животные линии db/+, контрольная группа К2 и опытная группа ГЗ – тучные мыши линии db/db. В рацион животных группы К2 вносили гречневую муку в количестве 2,5 г/100 г; в рацион животных группы ГЗ вносили ФПИ в количестве 2,5 г/100 г (что соответствовало содержанию полифенолов 59,2±1,4 мг-экв галловой кислоты на 100 г корма). В тесте ПКЛ изучали степень выраженности эмоциональной реакции страха, тревоги и общую двигательную активность. Оценка поведения, памяти животных проводили, используя тест «Условный рефлекс пассивного избегания» (УРПИ). В крови животных определяли уровень гликированного гемоглобина, в плазме крови – уровни инсулина и лептина, в цитозольной фракции печени – общую антиоксидантную активность.

Для цитирования: Сидорова Ю.С., Петров Н.А., Шипелин В.А., Зорин С.Н., Кочеткова А.А., Мазо В.К. Влияние полифенолов листьев черники на степень тревожности, пространственное обучение и память у мышей линии db/db // *Вопросы питания*. 2019. Т. 88, № 3. С. 53–62. doi: 10.24411/0042-8833-2019-10029.

Статья поступила в редакцию 10.12.2018. **Принята в печать** 20.05.2019.

For citation: Sidorova Yu.S., Petrov N.A., Shipelin V.A., Zorin S.N., Kochetkova A.A., Mazo V.K. The impact of bilberry leaves' polyphenols on the anxiety level, spatial learning and memory of db/db mice. *Voprosy pitaniia [Problems of Nutrition]*. 2019; 88 (3): 53–62. doi: 10.24411/0042-8833-2019-10029. (in Russian)

Received 10.12.2018. **Accepted** 20.05.2019.

Результаты и обсуждение. Полученные данные биохимических исследований и тестирования инсулинорезистентности свидетельствовали об отсутствии нормализующего влияния разработанного ФПИ. Однако включение в состав рациона ФПИ с полифенольными соединениями приводило к благоприятным изменениям физиологических показателей. Было показано достоверное снижение тревожности у животных группы ГЗ, получавших ФПИ, по сравнению с животными обеих групп контроля. Во время тестирования краткосрочной памяти в тесте УРПИ в группе ГЗ отсутствовали животные, входившие в темный отсек (0%), что говорит о повышенной обучаемости и высокой степени закрепления памятного следа у этих животных по сравнению с группами К1 (50%) и К2 (80%).

Заключение. Полученные результаты свидетельствуют об эффективности полифенолов листьев черники, сорбированных на гречневой муке, при коррекции нарушений центральной нервной системы у мышей нокаутной линии db/db с генетически обусловленным сахарным диабетом 2 типа, что указывает на возможные перспективы включения ФПИ в состав специализированных пищевых продуктов, предназначенных для питания пациентов с сахарным диабетом 2 типа.

Ключевые слова: сахарный диабет 2 типа, полифенолы, листья черники, мыши, тревожность, память, обучаемость

Numerous experimental and clinical studies have shown high efficiency of plant polyphenolic compounds in restoring age-related memory and learning disorders. In the present study a functional food ingredient (FFI) was obtained by sorption of an aqueous solution of bilberry leaves extract on buckwheat flour, which allowed to concentrate polyphenols and increase their storage stability.

The aim of this study was to evaluate the impact of a developed FFI, enriched with bilberry leaves` polyphenols, on the anxiety level, locomotor activity, memory and spatial learning of db/db mice with genetical type 2 diabetes.

Material and methods. The experiment was conducted using 10 heterozygote male db/db mice and 10 homozygote male db/+ mice as the comparison control group (7 weeks of age). According to body weight, blood glucose level, the results of insulin resistance test and elevated plus-maze (EPM) test, animals were randomized into three groups: control group C1 – db/+ animals, control group C2 and experimental group G3 – obese db/db mice. Buckwheat flour was included into the diet of C2 group in a dose 22.5 g/100 g; FFI was included into the diet of G3 group in a dose 2.5 g/100 g (that was equal to 59.2±1.4 mg-eq gallic acid per 100 g of the diet). The anxiety level and general locomotor activity were evaluated in the EPM test. The evaluation of behavior, memory and spatial learning was performed using passive avoidance test (PAT). Glycated hemoglobin level was determined in blood, insulin and leptin levels were determined in blood plasma, general antioxidant activity was determined in liver cytosolic fraction.

Results and discussion. The obtained data on biochemical parameters and insulin resistance tests showed the absence of normalizing effects of developed FFI. However, the inclusion of polyphenol-containing FFI into the diet led to beneficial changes in physiological parameters. Animals of G3 group, provided with FFI, were significantly less anxious compared to both control groups. During PAT testing of short-term memory, no animals in G3 group entered to the dark compartment (0%), what demonstrated increased learning ability and well-established memory of these animals in comparison with C1 (50%) and C2 groups (80%).

Conclusion. The results prove the effectiveness of bilberry leaves` polyphenols, sorbed on the brown buckwheat flour, in the correction of central nervous system disorders in db/db mice with genetically altered type 2 diabetes, what points at possible prospect of FFI inclusion in therapeutic products for patients with type 2 diabetes mellitus.

Keywords: type 2 diabetes, polyphenols, bilberry leaves, mice, anxiety, memory, spatial learning

Одним из серьезных сопутствующих осложнений при сахарном диабете 2 типа (СД2) являются нейроповеденческие нарушения [1], приводящие к когнитивным расстройствам и проявляющиеся в ухудшении способности к обучению, памяти и скорости восприятия [2, 3]. Моделирование СД2 в эксперименте открывает перспективы для оценки влияния нарушений углеводного и жирового обмена на способность к обучению, поведение и память генетических линий лабораторных живот-

ных [4]. Нарушения в обучении и памяти продемонстрированы на линии мышей db/db, которая широко используется в качестве экспериментальной модели СД2. Мыши этой линии имеют 2 мутантные копии гена рецептора лептина, что приводит к постепенному развитию гипергликемии и ожирения с последующей гиперинсулинемией, схожей с таковой при СД2 у человека [5].

Растительные полифенолы обладают выраженными антиоксидантными свойствами, с чем в значительной

степени связывают их потенциальное антидиабетическое действие [6]. Высокая эффективность растительных полифенольных соединений в восстановлении возрастных нарушений памяти и обучаемости показана как в клинических, так и в доклинических исследованиях [7–10]. Однако низкая биодоступность полифенолов часто не позволяет достигать ожидаемых благоприятных результатов [11], поэтому ее повышение является важным фактором, способствующим увеличению эффективности их использования в профилактическом питании и диетотерапии. Одним из перспективных технологических подходов, позволяющих концентрировать полифенолы в составе функциональных пищевых ингредиентов (ФПИ) и повышать их стабильность при хранении, является сорбция на белковых матриксах [12]. Путем сорбции водного раствора сухого экстракта листьев черники на гречневой муке нами был получен ФПИ, или так называемая пищевая матрица [13].

Листья и ягоды черники, содержащие широкий спектр полифенолов, традиционно используются в народной медицине для уменьшения симптомов СД2 [14]. Снижение тревожности у стрессированных крыс-самцов линии Sprague–Dawley на фоне приема экстракта ягод черники показано в работе [15], при этом не выявлено влияния экстракта на двигательную активность. В нашем предыдущем исследовании на мышах-самцах линии C57BL/6с с индуцированным высокожировым и высокоуглеводным (ВЖВУ) рационом СД2 [16] были показаны гипогликемические эффекты и снижение массы тела у животных, потреблявших разработанный ФПИ в составе рациона. Однако уживотных, потреблявших ВЖВУ-рацион, не выявлено отклонений памяти, двигательной активности и тревожности по сравнению с контрольными мышами, получавшими стандартную диету.

Целью данного исследования являлась оценка включения разработанного ФПИ в рацион мышей линии db/db в комплексе физиологических тестов, позволяющих оценить степень тревожности, двигательную активность, память и способность к обучению.

Материал и методы

Объекты исследования. Экстракт листьев черники сухой (ООО «Хармс», РФ) (влажность – 6,1%, зола – 16,8%) с общим содержанием флавоноидов – 13,67±0,11 мг/г, гидроксикоричных кислот – 11,68±0,22 мг/г, проантоцианидинов – 15,5±0,2 мг/г, полифенолов – 43,6±1,1 мг/г [17].

Опытный образец гречневой муки был получен измельчением с использованием ножевой мельницы «Grindomix GM200» (Retsch, Германия) при 8000 об/мин в течение 10 мин промышленной партии пищевой муки (ООО «Хлебзернопродукт», РФ). Массовая доля белка в образце составила 9,7%, углеводов – 70,0%, золы – 1,6%, влаги – 5,5%. Содержание полифенолов в муке составило 1,8±0,2 мг-экв галловой кислоты/г.

Таблица 1. Результаты предварительного теста «Приподнятый крестообразный лабиринт»

Показатель	Группа животных		
	К1	К2	Г3
Время в открытом рукаве, с	128±10	110±21	114±5
Время в закрытом рукаве, с	132±8	148±22	132±5
Количество переходов	47±3	17±3*	21±4*
Общая дистанция, см	2095±100	928±108*	1063±180*

Примечание. * – статистически значимое отличие ($p < 0,01$) от показателя контрольной группы К1.

Комплекс полифенолов экстракта листьев черники, сорбированных на гречневой муке (далее пищевая матрица). Пищевую матрицу получали путем инкубации 2% водного раствора ЭЛЧ (рН 3,6) с измельченной гречневой мукой в соотношении 50:1 при 25 °С в течение 45 мин с последующей лиофилизацией. Содержание полифенолов в пищевой матрице составило 23,7±0,5 мг-экв галловой кислоты/г [13].

Лабораторные животные. Эксперимент был проведен с использованием 10 мышей-самцов гетерозигот линии BKS.Cg-Dock7^m Lepr^{db/+} (далее BKS db/db) и 10 мышей-самцов гомозигот линии BKS.Cg-Dock7^{m/+} Lepr (далее BKS) в качестве контроля (возраст животных 7 нед). Животные были получены из питомника лабораторных животных ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр «Институт цитологии и генетики» Сибирского отделения РАН». Согласно ветеринарному заключению животные имели SPF-статус, не подвергались каким-либо воздействиям и не были использованы ни в каких экспериментах. У гетерозигот мышей контрольной группы наблюдались нормальные масса тела, уровень глюкозы в крови и инсулина в плазме крови. Животных содержали по 1 мышь в клетке в контролируемых условиях окружающей среды (температура 22–26 °С, относительная влажность 60±5%, 12-часовой цикл освещения). Длительность эксперимента составила 37 сут.

Таблица 2. Состав полусинтетических рационов

№	Компонент		Содержание на 100 г корма, г		
			К1	К2	Г3
1	Казеин		25,0	25,0	25,0
2	Жировая композиция	подсолнечное масло	5,0	5,0	5,0
		лярд	5,0	5,0	5,0
3	Крахмал		58,0	55,5	55,5
4	Гречневая мука		–	2,5	–
5	Пищевая матрица		–	–	2,5
6	Минеральная смесь [18]		4,0	4,0	4,0
7	Смесь жирорастворимых витаминов, мл [18]		1,0	1,0	1,0
8	Смесь водорастворимых витаминов [18]		0,1	0,1	0,1
Калорийность, ккал			376±2	377±3	377±2

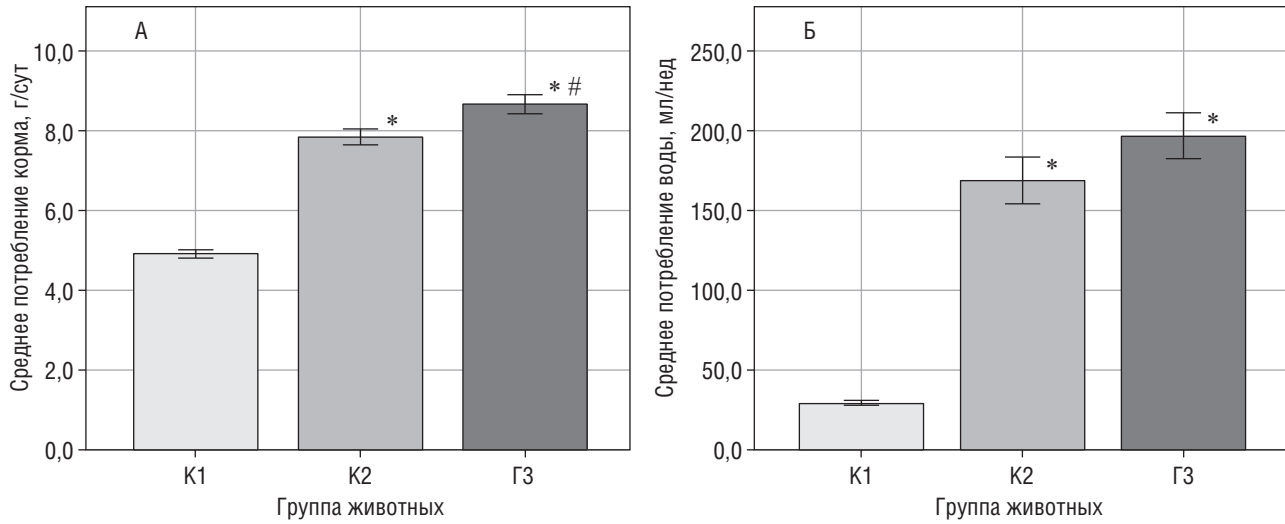


Рис. 1. Среднее потребление животными корма (А) и воды (Б)

* – статистически значимые отличия ($p < 0,05$) от показателя контрольной группы K1; # – статистически значимые отличия ($p < 0,05$) от показателя контрольной группы K2.

Исходная масса тела контрольных животных линии BKS составила $27,5 \pm 0,3$ г, линии BKS db/db – $36,0 \pm 1,8$ г, различия между группами статистически значимы ($p < 0,05$).

До начала проведения эксперимента у животных оценивали уровень глюкозы в крови (животных депривировали голодом 4 ч), проводили тест на инсулинорезистентность (ИР) натощак, степень тревожности мышей оценивали в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» (далее – ПКЛ, см. «Физиологические методы»).

Для определения глюкозы у животных отбирали кровь из хвостовой вены, концентрацию глюкозы определяли с помощью портативного электрохимического глюкометра «OneTouch Select» (LifeScan Inc., США). При проведении теста на ИР животным вводили инсулин

внутрибрюшинно в дозе 0,25 Ед на 1 кг массы тела. Концентрацию глюкозы в крови измеряли до введения инсулина (0-я точка) и через 30, 60, 120 и 180 мин. Строили кривые зависимости уровня глюкозы от времени после введения инсулина и определяли значение площади под кривой (ППК, ммоль/л \times 180 мин).

Животные были разделены на 3 группы: контрольная группа K1 – мыши линии BKS ($n=10$), животные линии BKS db/db были рандомизированно разделены по массе тела, уровню глюкозы в крови, показателю ППК и по результатам ПКЛ (табл. 1) на 2 группы: контрольная группа K2 – тучные мыши линии BKS db/db ($n=5$) и опытная группа G3 ($n=5$).

Концентрация глюкозы и значение ППК достоверно не различались между группами диабетических животных и были статистически значимо выше соответствующих показателей животных контрольной группы K1.

Согласно результатам предварительного теста ПКЛ (см. табл. 1) не выявлено различий по времени пребывания в рукавах лабиринта, что говорит об отсутствии различий в уровне тревожности всех животных. Стоит отметить, что диабетические животные линии BKS db/db проявляли достоверно меньший уровень исследовательской активности по сравнению с интактными животными линии BKS. Животные меньше перемещались по лабиринту, что подтверждается статистически значимо сниженной пройденной дистанцией и меньшим количеством переходов между зонами лабиринта.

На протяжении всего эксперимента животные получали стандартный изокалорийный изоазотистый рацион (376 ± 2 ккал, 22,5% белка). В рацион животных контрольной группы K2 вносили гречневую муку, в рацион животных крыс опытной группы G3 – ФПИ (табл. 2) в количестве, обеспечивающем содержание полифенолов $59,2 \pm 1,4$ мг-экв галловой кислоты на 100 г корма.

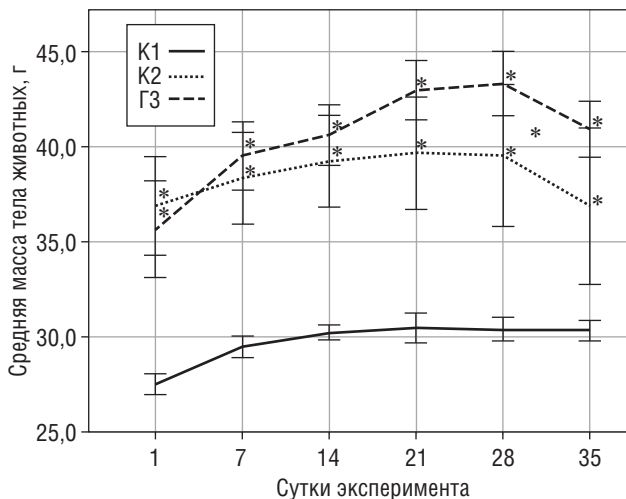


Рис. 2. Динамика массы тела животных

* – статистически значимые отличия ($p < 0,05$) от показателя контрольной группы K1.

Таблица 3. Динамика уровня глюкозы крови животных

Группа животных	Уровень глюкозы, ммоль/л					Относительное изменение (37-е сутки), %
	0-е сутки	3-и сутки	10-е сутки	31-е сутки	37-е сутки	
K1	11,3±0,3	10,0±0,5	9,6±0,4	10,7±0,5	6,6±0,5#	-41,7±4,3
K2	27,9±3,4*	26,0±3,0*	29,3±2,9*	30,1±2,5*	27,6±2,7*	4,5±13,3*
G3	25,7±3,2*	21,0±3,6*	20,9±3,2*	29,9±1,4*	24,6±2,1*	2,4±14,1*

Примечание. * – статистически значимые отличия ($p < 0,05$) от показателя контрольной группы K1; # – статистически значимые отличия ($p < 0,05$) от показателя на начало (0-е сутки) эксперимента.

Животные всех групп на протяжении всего эксперимента получали питьевую очищенную воду *ad libitum*. 3 раза в неделю контролировали потребление корма, еженедельно контролировали потребление воды, раз в неделю животных взвешивали. На 31-е сутки эксперимента проводили тест на ИР.

Работу с животными выполняли в соответствии с руководством [19] и Правилами надлежащей лабораторной практики (приказ Минздрава России от 01.04.2016 № 199н).

Физиологические методы. В тесте ПКЛ изучали поведение животных в условиях переменной стрессогенности, т.е. при свободном выборе комфортных условий, что позволяет оценить их уровень тревожности. Время пребывания мыши в лабиринте составляло 5 мин. Во время тестирования фиксировали время пребывания в закрытых (ЗР) и открытых рукавах (ОР) и общую исследовательскую активность (число переходов между зонами лабиринта и общую пройденную дистанцию). Рассчитывали показатель отношения времени, проведенного в ЗР, к времени, проведенному в ОР (ЗР/ОР). Тест ПКЛ проводили на 0-е и 27-е сутки эксперимента.

Оценку поведения и памяти животных проводили, используя тест «Условный рефлекс пассивного избегания» (УРПИ). При обучении мышь однократно помещали в светлый отсек камеры спиной к темному отсеку. Регистрировали латентный период (ЛП) пребывания в светлом отсеке камеры. Как только мышь переходила в темный отсек камеры, она получала электрокожное раздражение на лапы (ток 0,2 мА не более 8 с). Через 24 ч после обучения у животных проверяли сохранность памятного следа. Если животное не заходило в темную камеру, это расценивалось как воспроизведение навыка пассивного избегания, если латентный период сокращался – как амнезию навыка. Обучение проводили на 16-е сутки эксперимента, проверку обучения – на 17-е сутки.

Биохимические методы. На 37-е сутки животных выводили из эксперимента декапитацией под легким эфирным наркозом. Для определения антиоксидантной активности у животных после декапитации извлекали печень, промывали в охлажденном 1,15% растворе KCl, просушивали при помощи фильтровальной бумаги, измельчали продавливанием через перфорированную металлическую пластинку с диаметром отверстий 0,8 мм и гомогенизировали навеску в 0,05 М Трис-HCl буфере pH 7,4 на 1,15% KCl в соотношении 1:4 (масса : объем). Печень гомогенизировали в стеклян-

ном гомогенизаторе Поттера–Эльвейема с тефлоновым пестиком в течение 90 с при 1200 об/мин. Гомогенаты центрифугировали при 10 000g в течение 15 мин. Полученный супернатант отбирали и подвергали повторному центрифугированию при 10 000g в течение 60 мин, после чего отделяли надосадочную жидкость (цитозольную фракцию). Все работы проводили при температуре +4 °С, выделенный материал хранили при -20 °С.

В цельной крови определяли содержание гликированного гемоглобина с использованием коммерческого набора «Гликогемотест» (ЭЛТА, Россия). Метод основан на принципе аффинного разделения гликированной и негликированной фракции гемоглобина гемолизата крови на сорбенте с привитой 4-аминометилфенилбороновой кислотой [20]. Собранную после декапитации животного кровь с ЭДТА в качестве антикоагулянта центрифугировали в течение 15 мин при 500g, отбирали плазму крови, которую хранили при -20 °С не более 2 нед. В плазме крови методом твердофазного иммуноферментного анализа («сэндвич»-метод) определяли содержание инсулина и лептина с использованием коммерческих наборов (BioVendor, Чехия).

Определение общей антиоксидантной активности в цитозольной фракции печени проводили спектрофотометрическим методом [21].

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием пакета программ SPSS Statistics 20 (IBM, США), используя непараметрический ранговый критерий Манна–Уитни, критерий Стьюдента, а также *U*-критерий Фишера для оценки обучаемости животных в тесте УРПИ. Вычисляли среднее значение (*M*) и стандартную ошибку среднего (*m*). Данные представлены как $M \pm m$. Критический уровень значимости нулевой статистической гипотезы (*p*) принимали равным 0,05.

Таблица 4. Изменения площади под кривой в тесте на инсулинорезистентность

Группа животных	ППК, ммоль/л×180 мин		Относительное изменение (31-е сутки), %
	0-е сутки	31-е сутки	
K1	928±87	1002±75	20,6±18,0
K2	2613±304*	2799±128*	13,4±13,9
G3	2269±245*	2379±303*	12,2±19,3

* – статистически значимые отличия ($p < 0,05$) от показателя контрольной группы K1.

Таблица 5. Биохимические показатели животных

Показатель	Группа животных		
	K1	K2	Г3
Гликированный гемоглобин, %	5,4±0,3	12,3±0,4*	11,1±0,6*
Инсулин, нг/мл	0,28±0,04	0,73±0,29*	1,06±0,37*
Лептин, нг/мл	312±51	2642±527*	3568±323*
Антиоксидантная активность, мкмоль	401±13	472±20*	568±61*

Примечание. * – статистически значимые отличия ($p < 0,05$) от показателя контрольной группы K1.

Результаты и обсуждение

Общее состояние животных группы K1 по внешнему виду и качеству шерстного покрова при ежедневном осмотре на протяжении всего эксперимента было удовлетворительным. Однако животные данной группы отличались повышенной активностью и агрессивностью. Диабетические животные групп K2 и Г3 были значительно больше по размеру и менее подвижны, чем интактные животные, для этих животных была характерна жирная и лоснящаяся шерсть. По окончании эксперимента относительная масса печени диабетических животных была статистически значимо выше по сравнению с таковой в контрольной группе K1 ($3,5 \pm 0,1\%$) и составила: для группы K2 – $5,5 \pm 0,3\%$; для группы Г3 – $5,1 \pm 0,1\%$.

Среднее потребление животными корма и воды представлено на рис. 1.

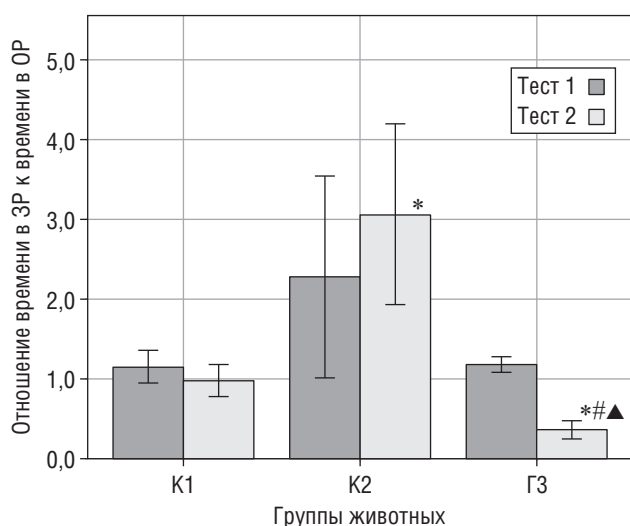


Рис. 3. Отношение времени, проведенного в закрытом рукаве (ЗР), ко времени, проведенному в открытом рукаве (ОР) лабиринта, в 1-м и 2-м тестах «Приподнятый крестообразный лабиринт»

* – статистически значимые отличия ($p < 0,05$) от показателя контрольной группы K1; # – статистически значимые отличия ($p < 0,05$) от показателя контрольной группы K2; ▲ – статистически значимые отличия ($p < 0,05$) от показателя при 1-м тестировании.

На протяжении всего эксперимента животные группы K1 потребляли статистически значимо меньше корма по сравнению с диабетическими животными группы K2 и Г3. Среднее потребление корма животными группы Г3 было достоверно выше по сравнению с таковым у мышей контрольной диабетической группы K2. Также животные группы K2 и опытной группы Г3 потребляли статистически значимо больше воды по сравнению с животными контрольной группы K1.

На протяжении всего эксперимента средняя масса тела диабетических животных обеих групп была достоверно выше по сравнению с животными группы K1 ($30,7 \pm 0,5$ г) (рис. 2). По окончании эксперимента достоверных отличий по массе между диабетическими животными группы K2 ($36,3 \pm 2,6$) и Г3 ($40,9 \pm 1,0$) г не выявлено.

В табл. 3 представлены данные по изменению уровня глюкозы в крови на протяжении эксперимента. На 37-е сутки достоверное снижение концентрации глюкозы относительно исходного уровня отмечено только для мышей группы K1.

В табл. 4 представлены результаты тестов на ИР.

Согласно результатам обоих тестов на ИР, значение ППК для диабетических животных было статистически значимо выше по сравнению с животными контрольной группы K1. При третьем тестировании на 31-е сутки кормления экспериментальными рационами не было выявлено достоверных изменений ППК для животных всех групп по сравнению с первым тестом.

В табл. 5 представлены результаты определения некоторых биохимических показателей по окончании эксперимента.

Как видно из данных, представленных в табл. 5, содержание гликированного гемоглобина, инсулина и лептина для диабетических мышей контрольной группы K2 и опытной группы Г3 было статистически значимо выше по сравнению с показателями животных контрольной группы K1. Между группами диабетических животных достоверных различий не выявлено. Показатель антиоксидантной активности для диабетических животных был также статистически значимо выше по сравнению с интактными животными группы K1.

Таким образом, полученные данные биохимических исследований и тестирования на ИР свидетельствовали об отсутствии благоприятного нормализующего влияния разработанного ФПИ, обогащенного полифенолами, экстрагированными из листьев черники, на нарушения углеводного обмена у диабетических мышей-самцов гетерозигот линии BKS db/db. Этот результат, по-видимому, объясняется глубокими генетически обусловленными нарушениями углеводного и жирового обмена, которые уже имели место у диабетических мышей этой линии на начало проведения эксперимента с кормлением и продолжали усугубляться.

Однако, несмотря на значительные метаболические нарушения, включение в состав рациона ФПИ с высоким содержанием полифенольных соединений приводило к благоприятным изменениям физиологических пока-

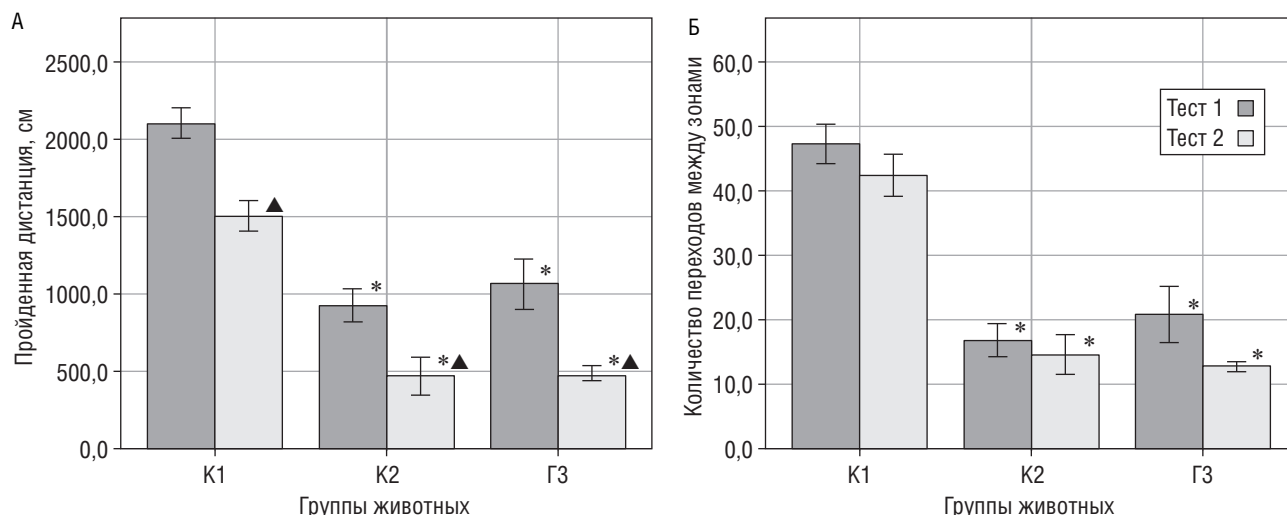


Рис. 4. Двигательная активность в 1-м и 2-м тестах «Приподнятый крестообразный лабиринт»: пройденная дистанция (А) и количество переходов между зонами (Б)

* – статистически значимые отличия ($p < 0,05$) от показателя контрольной группы K1; ▲ – статистически значимые отличия ($p < 0,05$) от показателя при 1-м тестировании.

зателей. Далее на рис. 3 и 4 представлены результаты тестирования тревожности и общей исследовательской активности в тесте ПКЛ.

Через 27 сут в повторном тесте ПКЛ было показано статистически значимое снижение показателя ОР/ЗР для животных группы G3 как относительно контрольной группы K1, так и по отношению к диабетическим животным группы K2. Причем данный показатель для животных контрольной диабетической группы K2 был достоверно выше по сравнению с контрольной группой K1. Полученный результат говорит о снижении тревожности у животных группы G3, получавших ФПИ, содержащий полифенолы листьев черники.

Наши данные согласуются с результатами, полученными в работе [22], в которой в тесте ПКЛ было показано, что мыши линии db/db в возрасте 8–10 нед были достоверно более тревожными по сравнению с контрольными тощими животными линии db/+. При этом авторы экспериментального исследования [15] выявили снижение тревожности стрессированных крыс-самцов линии Sprague–Dawley на фоне 2-недельного приема экстракта ягод черники в дозе 200 мг полифенолов на 1 кг массы тела, однако на двигательную активность потребление экстракта влияния не оказывало, что также согласуется с нашими данными, представленными ниже

(рис. 4). В работе [23] на крысах-самцах линии Вистар с сахарным диабетом, индуцированным введением стрептозотоцина, установлено статистически значимое снижение тревожности у животных, получавших антоцианы в дозе 200 мг на 1 кг массы тела в течение 7 дней, по сравнению с контрольными животными, в то же время не показано никаких изменений уровня глюкозы.

На рис. 4 показаны результаты оценки двигательной исследовательской активности в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт».

В 1-м тесте диабетические животные линии BKS db/db проявляли достоверно меньший уровень исследовательской активности по сравнению с животными контрольной группы K1: мыши меньше перемещались по лабиринту, что подтверждается статистически значимо меньшими пройденной дистанцией и количеством переходов между зонами лабиринта.

Во 2-м тесте мыши всех 3 групп достоверно меньше перемещались по лабиринту по сравнению с 1-м тестом. Вместе с тем сохранились значимые различия с показателями животных группы K1 у мышей обеих диабетических групп как по пройденной дистанции, так и количеству переходов.

В работе [24] у мышей линии db/db выявлены нарушения пространственной памяти в тесте «Водный

Таблица 6. Результаты тестирования условного рефлекса пассивного избегания

Группа животных	Время пребывания, с		
	1-е тестирование (выработка УРПИ)	2-е тестирование (через 24 ч), краткосрочная память	
	время входа, с	время входа, с	число вошедших животных, абс. (%)
K1	40,7±5,3	145,1±14,6	5 (50)
K2	50,3±8,3	168,8±11,2	4 (80)
G3	65,8±7,9	180,0±0,0*	0 (0)*, #

Примечание. * – статистически значимые отличия ($p < 0,05$) от показателя контрольной группы K1 согласно U-критерию Фишера; # – статистически значимые отличия ($p < 0,05$) от показателя контрольной группы K2 согласно U-критерию Фишера.

лабиринт Морриса», полученный результат авторы связывают с дефицитом рецепторов лептина в гиппокампе. Результаты, полученные в более поздней работе [25], также продемонстрировали нарушения пространственного обучения и памяти у животных линии db/db. Как известно, пищевые продукты, богатые флавоноидами, способствуют восстановлению возрастных нарушения памяти и обучаемости. Так, в многочисленных клинических и доклинических исследованиях было выявлено положительное влияние на память и обучаемость экстрактов чая (*Camellia sinensis*), гинкго билоба (*Ginkgo Biloba*), какао (*Theobroma cacao*) и в том числе черники (*Vaccinium spp.*) [26–29].

В связи с этим особый интерес представляло изучение влияния низких доз полифенолов листьев черники, сконцентрированных на пищевой матрице, на память и когнитивные функции в тесте УРПИ на генетической линии мышей db/db (табл. 6).

Во время 1-го тестирования – выработки УРПИ, животные всех групп входили в темный отсек камеры (100% выработка рефлекса). Во время тестирования краткосрочной памяти в группе ГЗ отсутствовали животные, входившие в темный отсек, что говорит о повышенной обучаемости и высокой степени закрепления памятного следа у этих животных.

Сведения об авторах

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

Сидорова Юлия Сергеевна (Sidorova Yuliya S.) – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории алиментарной коррекции нарушений метаболизма
E-mail: sidorovaulia28@mail.ru

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

Петров Никита Александрович (Petrov Nikita A.) – аспирант, младший научный сотрудник лаборатории алиментарной коррекции нарушений метаболизма

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

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

Шипелин Владимир Александрович (Shipelin Vladimir A.) – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории алиментарной коррекции нарушений метаболизма

E-mail: v.shipelin@ya.ru

<https://orcid.org/0000-0002-0015-8735>

Зорин Сергей Николаевич (Zorin Sergey N.) – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории алиментарной коррекции нарушений метаболизма

E-mail: zorin@ion.ru

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

Кочеткова Алла Алексеевна (Kochetkova Alla A.) – доктор технических наук, профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории алиментарной коррекции нарушений метаболизма

E-mail: kochetkova@ion.ru

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

Мазо Владимир Кимович (Mazo Vladimir K.) – доктор биологических наук, профессор, старший научный сотрудник лаборатории алиментарной коррекции нарушений метаболизма

E-mail: mazo@ion.ru

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

Литература

1. Sharma A.N., Elased K.M., Garrett T.L., Lucot J.B. Neurobehavioral deficits in db/db diabetic mice // *Physiol. Behav.* 2010. Vol. 101, N 3. P. 381–388. doi: 10.1016/j.physbeh.2010.07.002
2. de la Torre J.C. Pathophysiology of neuronal energy crisis in Alzheimer's disease // *Neurodegener. Dis.* 2008. Vol. 5, N 3–4. P. 126–132. doi: 10.1159/000113681

Заключение

Центральная нервная система – один из ключевых органов-мишеней при сопутствующих осложнениях СД2 [30]. Нейроповеденческие нарушения проявляются как на диабетических моделях *in vivo* [1], так и в клинической практике у пациентов с СД2, повышая у них примерно в 2 раза вероятность глубокой депрессии по сравнению с пациентами, не страдающими диабетом [31], и повышая риск смертности. Полученные результаты свидетельствуют об эффективности использования полифенолов листьев черники, сорбированных на гречневой муке, при коррекции нарушений центральной нервной системы у мышей нокаутной линии db/db с генетически обусловленным СД2, что в определенной степени указывает на перспективы дальнейших клинических исследований целесообразности включения ФПИ в состав специализированных пищевых продуктов, предназначенных для питания пациентов с СД2.

Финансирование. Исследование выполнено при финансировании Российского научного фонда (проект № 14-36-00041).

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

3. Zhao W.Q., Townsend M. Insulin resistance and amyloidogenesis as common molecular foundation for type 2 diabetes and Alzheimer's disease // *Biochim. Biophys. Acta.* 2009. Vol. 1792, N 5. P. 482–496. doi: 10.1016/j.bbadis.2008.10.014
4. Dinel A.-L., André C., Aubert A., Ferreira G., Layé S., Castanon N. Cognitive and emotional alterations are related to hippocampal inflammation in a mouse model of metabolic syndrome // *PLoS One.* 2011. Vol. 6, N 9. Article ID e24325. doi: 10.1371/journal.pone.0024325
5. Brust K.B., Corbell K.A., Al-Nakkash L., Babu J.R., Broderick T.L. Expression of gluconeogenic enzymes and 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 in liver of diabetic mice after acute exercise // *Diabetes Metab. Syndr. Obes. Targets Ther.* 2014. Vol. 7. P. 495–504
6. Растительные источники фитонутриентов для специализированных пищевых продуктов антидиабетического действия / под ред В.А. Тутельяна, Т.А. Киселевой, А.А. Кочетковой. М.: Библио-Глобус, 2016: 422 с.
7. Lamport D.J., Dye L., Wightman J.D., Lawton C.L. The effects of flavonoid and other polyphenol consumption on cognitive performance: a systematic research review of human experimental and epidemiological studies // *Nutr. Aging.* 2012. Vol. 1. P. 5–25. doi: 10.3233/NUA-2012-0002
8. Rendeiro C., Vauzour D., Rattray M., Waffo-Tégou P., Mérillon J.M., Butler L.T. et al. Dietary levels of pure flavonoids improve spatial memory performance and increase hippocampal brain-derived neurotrophic factor // *PLoS One.* 2013. Vol. 8, N 5. Article ID e63535. doi: 10.1371/journal.pone.0063535
9. Caro D.C., Rivera D.E., Ocampo Y., Franco L.A., Salas R.D. Pharmacological evaluation of mentha spicata L. and plantago major L., medicinal plants used to treat anxiety and insomnia in Colombian Caribbean coast // *Evid. Based Complement. Altern. Med.* 2018. Vol. 2018. Article ID 5921514. doi: 10.1155/2018/5921514
10. Ben-Azu B., Nwoke E.E., Aderibigbe A.O., Omogbiya I.A., Ajayi A.M., Olonode E.T. et al. Possible neuroprotective mechanisms of action involved in the neurobehavioral property of naringin in mice // *Biomed. Pharmacother.* 2018. Vol. 109. P. 536–546. doi: 10.1016/j.biopha.2018.10.055
11. Lewandowska U., Szewczyk K., Hrabec E., Janecka A., Gorlach S. Overview of metabolism and bioavailability enhancement of polyphenols // *J. Agric. Food Chem.* 2013. Vol. 61, N 50. P. 12 183–12 199. doi: 10.1021/jf404439b
12. Roopchand D.E., Kuhn P., Poulev A., Oren A., Lila M.A., Fridlender B. et al. Biochemical analysis and in vivo hypoglycemic activity of a grape polyphenol-soybean flour complex // *J. Agric. Food Chem.* 2012. Vol. 60, N 36. P. 8860–8865. doi: 10.1021/jf300232h.
13. Petrov N.A., Sidorova Yu.S., Sarkisyan V.A., Frolova Yu.V., Zorin S.N., Kochetkova A.A. et al. Complex of polyphenols sorbed on buckwheat flour as a functional food ingredient // *Foods Raw Materials.* 2018. Vol. 6, N 2. P. 334–341
14. Ehlenfeldt M.K., Prior R.L. Oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and phenolic and anthocyanin concentrations in fruit and leaf tissues of highbush blueberry // *J. Agric. Food Chem.* 2001. Vol. 49, N 5. P. 2222–2227. doi: 10.1021/jf0013656
15. Debom G., Gazal M., Soares M.S.P. et al. Preventive effects of blueberry extract on behavioral and biochemical dysfunctions in rats submitted to a model of manic behavior induced by ketamine // *Brain Res. Bull.* 2016. Vol. 127. P. 260–269. doi: 10.1016/j.brainresbull.2016.10.008
16. Сидорова Ю.С., Шипелин В.А., Петров Н.А., Фролова Ю.В., Кочеткова А.А., Мазо В.К. Экспериментальная оценка *in vivo* гипогликемических свойств функционального пищевого ингредиента – полифенольной пищевой матрицы // *Вопр. питания.* 2018. Т. 87, № 4. С. 5–13.
17. Методы анализа минорных биологически активных веществ пищи / под ред. В.А. Тутельяна, К.И. Эллера. М.: Династия, 2010. 160 с.
18. 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.
19. Guide for the care and use of laboratory animals. Committee for the Update of the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals; Institute for Laboratory Animal Research (ILAR); Division on Earth and Life Studies (DELS); National Research Council of the national academies. 8th ed. Washington: The National Academies Press, 2011. 248 p.
20. Sidorova Yu.S., Shipelin V.A., Mazo V.K., Zorin S.N., Petrov N.A., Kochetkova A.A. Hypoglycemic and hypolipidemic effect of Vaccinium myrtillus L. leaf and Phaseolus vulgaris L. seed coat extracts in diabetic rats // *Nutrition.* 2017. Vol. 41. P. 107–112.
21. Pohanka M. et al. Ferric reducing antioxidant power and square wave voltammetry for assay of low molecular weight antioxidants in blood plasma: performance and comparison of methods // *Sensors.* 2009. Vol. 9, N 11. P. 9094–9103.
22. Dinel A.-L., André C., Aubert A., Ferreira G., Layé S., Castanon N. Cognitive and emotional alterations are related to hippocampal inflammation in a mouse model of metabolic syndrome // *PLoS One.* 2011. Vol. 6, N 9. Article ID e24325. doi: 10.1371/journal.pone.0024325
23. Gutierrez J.M., Carvalho F.B., Schetinger M.R., Marisco P., Agostinho P., Rodrigues M. et al. Anthocyanins restore behavioral and biochemical changes caused by streptozotocin-induced sporadic dementia of Alzheimer's type // *Life Sci.* 2014. Vol. 96, N 1–2. P. 7–17. doi: 10.1016/j.lfs.2013.11.014
24. Li X.L., Aou S., Oomura Y., Hori N., Fukunaga K., Hori T. Impairment of long-term potentiation and spatial memory in leptin receptor-deficient rodents // *Neuroscience.* 2002. Vol. 113, N 3. P. 607–615.
25. Oomura Y., Aou S., Fukunaga K. Prandial increase of leptin in the brain activates spatial learning and memory // *Pathophysiology.* 2010. Vol. 17, N 2. P. 119–127. doi: 10.1016/j.pathophys.2009.04.004
26. Tan L., Yang H. P., Pang W., Lu H., Hu Y. D., Li J. et al. Cyanidin-3-O-galactoside and blueberry extracts supplementation improves spatial memory and regulates hippocampal ERK expression in senescence-accelerated mice // *Biomed. Environ. Sci.* 2014. Vol. 27, N 3. P. 186–196. doi: 10.3967/bes2014.007
27. Carey A.N., Poulouse S.M., Shukitt-Hale B. The beneficial effects of tree nuts on the aging brain // *Nutr. Aging.* 2012. Vol. 1. P. 55–67.
28. Fragua V., Lepoudère A., Leray V., Baron C., Araujo J.A., Nguyen P. et al. Effects of dietary supplementation with a mixed blueberry and grape extract on working memory in aged beagle dogs // *J. Nutr. Sci.* 2017. Vol. 6. P. e35. doi: 10.1017/jns.2017.33
29. Oliveira D.R., Sanada P.F., Saragossa Filho A.C., Innocenti L.R., Oler G. et al. Neuromodulatory property of standardized extract Ginkgo biloba L. (EGb 761) on memory: behavioral and molecular evidence // *Brain Res.* 2009. Vol. 1269. P. 68–89.
30. Laron Z. Insulin and the brain // *Arch. Physiol. Biochem.* 2009. Vol. 115, N 2. P. 112–116. doi: 10.1080/13813450902949012.
31. Anderson R.J., Freedland K.E., Clouse R.E., Lustman P.J. The prevalence of comorbid depression in adults with diabetes: a meta-analysis // *Diabetes Care.* 2001. Vol. 24, N 6. P. 1069–1078.

References

1. Sharma A.N., Elased K.M., Garrett T.L., Lucot J.B. Neurobehavioral deficits in db/db diabetic mice. *Physiol Behav.* 2010; 101 (3): 381–8. doi: 10.1016/j.physbeh.2010.07.002
2. de la Torre J.C. Pathophysiology of neuronal energy crisis in Alzheimer's disease. *Neurodegener Dis.* 2008; 5 (3–4): 126–32. doi: 10.1159/000113681

3. Zhao W.Q., Townsend M. Insulin resistance and amyloidogenesis as common molecular foundation for type 2 diabetes and Alzheimer's disease. *Biochim Biophys Acta*. 2009; 1792 (5): 482–96. doi: 10.1016/j.bbadis.2008.10.014
4. Dinel A.-L., André C., Aubert A., Ferreira G., Layé S., Castanon N. Cognitive and emotional alterations are related to hippocampal inflammation in a mouse model of metabolic syndrome. *PLoS One*. 2011; 6 (9): e24325. doi: 10.1371/journal.pone.0024325
5. Brust K.B., Corbell K.A., Al-Nakkash L., Babu J.R., Broderick T.L. Expression of gluconeogenic enzymes and 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 in liver of diabetic mice after acute exercise. *Diabetes Metab Syndr Obes Targets Ther*. 2014; 7: 495–504.
6. Plant sources of phytonutrients for specialized food products with antidiabetic action. Edited by V.A. Tutelyan, T.A. Kiseleva, A.A. Kochetkova. Moscow: Biblio-Globus, 2016: 422 p. (in Russian)
7. Lamport D.J., Dye L., Wightman J.D., Lawton C.L. The effects of flavonoid and other polyphenol consumption on cognitive performance: a systematic research review of human experimental and epidemiological studies. *Nutr Aging*. 2012; 1: 5–25. doi: 10.3233/NUA-2012-0002
8. Rendeiro C., Vauzour D., Rattray M., Waffo-Tégou P., Méridon J.M., Butler L.T., et al. Dietary levels of pure flavonoids improve spatial memory performance and increase hippocampal brain-derived neurotrophic factor. *PLoS One*. 2013; 8 (5): e63535. doi: 10.1371/journal.pone.0063535
9. Caro D.C., Rivera D.E., Ocampo Y., Franco L.A., Salas R.D. Pharmacological evaluation of mentha spicata L. and plantago major L., medicinal plants used to treat anxiety and insomnia in Colombian Caribbean coast. *Evid Based Complement Altern Med*. 2018; 2018: 5921514. doi: 10.1155/2018/5921514
10. Ben-Azu B., Nwoke E.E., Aderibigbe A.O., Omogbiya I.A., Ajayi A.M., Olonode E.T., et al. Possible neuroprotective mechanisms of action involved in the neurobehavioral property of naringin in mice. *Biomed Pharmacother*. 2018; 109: 536–46. doi: 10.1016/j.biopha.2018.10.055
11. Lewandowska U., Szczyk K., Hrabec E., Janecka A., Gorlach S. Overview of metabolism and bioavailability enhancement of polyphenols. *J Agric Food Chem*. 2013; 61 (50): 12 183–99. doi: 10.1021/jf404439b
12. Roopchand D.E., Kuhn P., Poulev A., Oren A., Lila M.A., Fridlender B., et al. Biochemical analysis and in vivo hypoglycemic activity of a grape polyphenol-soybean flour complex. *J Agric Food Chem*. 2012; 60 (36): 8860–5. doi: 10.1021/jf300232h
13. Petrov N.A., Sidorova Yu.S., Sarkisyan V.A., Frolova Yu.V., Zorin S.N., Kochetkova A.A., et al. Complex of polyphenols sorbed on buckwheat flour as a functional food ingredient. *Foods Raw Materials*. 2018; 6 (2): 334–41.
14. Ehlenfeldt M.K., Prior R.L. Oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and phenolic and anthocyanin concentrations in fruit and leaf tissues of highbush blueberry. *J Agric Food Chem*. 2001; 49 (5): 2222–7. doi: 10.1021/jf0013656
15. Debom G., Gazal M., Soares M.S.P., et al. Preventive effects of blueberry extract on behavioral and biochemical dysfunctions in rats submitted to a model of manic behavior induced by ketamine. *Brain Res Bull*. 2016; 127: 260–9. doi: 10.1016/j.brainresbull.2016.10.008
16. Sidorova Yu.S., Shipelin V.A., Petrov N.A., Frolova Yu.V., Kochetkova A.A., Mazo V.K. The experimental evaluation in vivo of hypoglycemic properties of functional food ingredient – polyphenolic food matrix. *Voprosy pitaniia [Problems of nutrition]*. 2018; 87 (4): 5–13 (in Russian)
17. The methods for analysis of biologically active food substances. Edited by Tutelyan V.A., Eller K.I. Moscow: Dinastiya, 2010: 160 p. (in Russian)
18. 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)
19. Guide for the care and use of laboratory animals. Committee for the Update of the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals; Institute for Laboratory Animal Research (ILAR); Division on Earth and Life Studies (DELS); National Research Council of the national academies. 8th ed. Washington: The National Academies Press, 2011: 248 p.
20. Sidorova Yu.S., Shipelin V.A., Mazo V.K., Zorin S.N., Petrov N.A., Kochetkova A.A. Hypoglycemic and hypolipidemic effect of *Vaccinium myrtillus* L. leaf and *Phaseolus vulgaris* L. seed coat extracts in diabetic rats. *Nutrition*. 2017; 41: 107–12.
21. Pohanka M., et al. Ferric reducing antioxidant power and square wave voltammetry for assay of low molecular weight antioxidants in blood plasma: performance and comparison of methods. *Sensors*. 2009; 9 (11): 9094–103.
22. Dinel A.-L., André C., Aubert A., Ferreira G., Layé S., Castanon N. Cognitive and emotional alterations are related to hippocampal inflammation in a mouse model of metabolic syndrome. *PLoS One*. 2011; 6 (9): e24325. doi: 10.1371/journal.pone.0024325
23. Gutierrez J.M., Carvalho F.B., Schetinger M.R., Marisco P., Agostinho P., Rodrigues M., et al. Anthocyanins restore behavioral and biochemical changes caused by streptozotocin-induced sporadic dementia of Alzheimer's type. *Life Sci*. 2014; 96 (1–2): 7–17. doi: 10.1016/j.lfs.2013.11.014
24. Li X.L., Aou S., Oomura Y., Hori N., Fukunaga K., Hori T. Impairment of long-term potentiation and spatial memory in leptin receptor-deficient rodents. *Neuroscience*. 2002; 113 (3): 607–15.
25. Oomura Y., Aou S., Fukunaga K. Prandial increase of leptin in the brain activates spatial learning and memory. *Pathophysiology*. 2010; 17 (2): 119–27. doi: 10.1016/j.pathophys.2009.04.004
26. Tan L., Yang H. P., Pang W., Lu H., Hu Y. D., Li J., et al. Cyanidin-3-O-galactoside and blueberry extracts supplementation improves spatial memory and regulates hippocampal ERK expression in senescence-accelerated mice. *Biomed Environ Sci*. 2014; 27 (3): 186–96. doi: 10.3967/bes2014.007
27. Carey A.N., Poulouse S.M., Shukitt-Hale B. The beneficial effects of tree nuts on the aging brain. *Nutr Aging*. 2012; 1: 55–67.
28. Fragua V., Lepoudère A., Leray V., Baron C., Araujo J.A., Nguyen P., et al. Effects of dietary supplementation with a mixed blueberry and grape extract on working memory in aged beagle dogs. *J Nutr Sci*. 2017; 6: e35. doi: 10.1017/jns.2017.33
29. Oliveira D.R., Sanada P.F., Saragossa Filho A.C., Innocenti L.R., Oler G., et al. Neuromodulatory property of standardized extract *Ginkgo biloba* L. (EGb 761) on memory: behavioral and molecular evidence. *Brain Res*. 2009; 1269: 68–89.
30. Laron Z. Insulin and the brain. *Arch Physiol Biochem*. 2009; 115 (2): 112–6. doi: 10.1080/13813450902949012
31. Anderson R.J., Freedland K.E., Clouse R.E., Lustman P.J. The prevalence of comorbid depression in adults with diabetes: a meta-analysis. *Diabetes Care*. 2001; 24 (6): 1069–78.

Для корреспонденции

Кравченко Лидия Васильевна – кандидат медицинских наук,
ведущий научный сотрудник лаборатории энзимологии питания
ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии»

Адрес: 109240, Россия, г. Москва, Устьинский проезд, д. 2/14

Телефон: (495) 698-53-65

E mail: kravchenko@ion.ru

<https://orcid.org/0000-0002-9316-4527>

Кравченко Л.В., Авреньева Л.И., Гусева Г.В., Аксенов И.В.

Влияние полифенолов на активность гликозил-гидролаз в слепой кишке крыс, получавших индуцирующие ожирение рационы

Effects of polyphenols on activity of glycosyl hydrolases in the cecum of rats fed obesity inducing diets

Kravchenko L.V., Avren'eva L.I., Guseva G.V., Aksenov I.V.

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

Результаты экспериментальных исследований свидетельствуют о том, что профилактические и терапевтические эффекты применения полифенолов при ожирении сопровождаются значительным уменьшением тяжести дисбиоза, вызванного преобладанием в рационе питания жиров и простых углеводов, особенно фруктозы, и восстановлением функционального состояния микробиоты.

Целью работы было изучение влияния кверцетина и ресвератрола – полифенолов, широко представленных в ежедневном рационе питания человека, на активность бактериальных гликозидаз у крыс, получавших рационы с высоким содержанием фруктозы или жира и фруктозы.

Материал и методы. С использованием спектрофотометрического анализа была изучена активность β-галактозидазы (Гал), β-глюкозидазы (Глю) и β-глюкуронидазы (Глу) в содержимом слепой кишки крыс линии Вистар, получавших полусинтетический рацион и 20% раствор фруктозы вместо питьевой воды (в/фр рацион) или полусинтетический рацион с высоким (30%) содержанием жира и 20% раствор фруктозы вместо питьевой воды (вж/вфр рацион).

Результаты и обсуждение. Содержание крыс на в/фр рационе в течение 20 нед приводило к подавлению активности Гал на 35, Глю на 46 и Глу на 31%. При включении в состав в/фр рациона кверцетина в дозе 34 мг на 1 кг массы тела активность ферментов восстанавливалась до контрольных величин и превышала уровень активности у крыс, получавших в/фр рацион без кверцетина, на 60, 100 и 47% соответственно для Гал, Глю и Глу. Содержание крыс в течение 10 нед на вж/вфр рационе не оказывало существенного влияния на активность бактериальных ферментов. Включение в вж/вфр рацион ресвератрола в дозе 10 мг на 1 кг массы тела приводило к снижению активности Глю на 58 и Глу на 28%, а увеличение дозы до 100 мг на 1 кг массы тела вызывало дальнейшее

Для цитирования: Кравченко Л.В., Авреньева Л.И., Гусева Г.В., Аксенов И.В. Влияние полифенолов на активность гликозил-гидролаз в слепой кишке крыс, получавших индуцирующие ожирение рационы // *Вопр. питания.* 2019. Т. 88, № 3. С. 63–68. doi: 10.24411/0042-8833-2019-10030.

Статья поступила в редакцию 02.04.2019. **Принята в печать** 20.05.2019.

For citation: Kravchenko L.V., Avren'eva L.I., Guseva G.V., Aksenov I.V. Effects of polyphenols on activity of glycosyl hydrolases in the cecum of rats fed obesity inducing diets. *Voprosy pitaniia* [Problems of Nutrition]. 2019; 88 (3): 63–8. doi: 10.24411/0042-8833-2019-10030. (in Russian)

Received 02.04.2019. **Accepted** 20.05.2019.

подавление активности Гал на 30, Глю на 76 и Глу на 64% относительно активности у крыс на вж/вфр рационе без ресвератрола.

Заключение. Полученные данные позволяют предположить, что кверцетин восстанавливает сниженную в/фр рационом активность гликозил-гидролаз микрофлоры слепой кишки крыс, вероятнее всего, за счет увеличения представительства видов носителей ферментной активности. Подавляющее действие ресвератрола на активность гликозил-гидролаз микрофлоры слепой кишки крыс, получавших вж/вфр рацион, возможно, является результатом его прямого действия на ферменты и не связано с влиянием на состав кишечной микробиоты.

Ключевые слова: кверцетин, ресвератрол, кишечная микробиота, бактериальные гликозил-гидролазы, крысы, высокофруктозный рацион, высокожировой высокофруктозный рацион

The results of experimental studies indicate that the preventive and therapeutic effects of polyphenols in obesity are accompanied by a significant decrease in the severity of dysbiosis caused by the predominance of fats and simple carbohydrates in the diet, especially fructose, and the restoration of the functional state of the microbiota.

The aim of the work was to study the effect of quercetin and resveratrol – polyphenols, widely represented in the daily human diet, on the activity of bacterial glycosidases in rats receiving diets high in fructose or fat and fructose.

Material and methods. Using spectrophotometric analysis, the activity of β -galactosidase (Gal), β -glucosidase (Glu) and β -glucuronidase (Gluc) was studied in the content of the cecum of Wistar rats receiving a semi-synthetic diet and a 20% solution of fructose instead of drinking water (hfr diet) or a semi-synthetic diet with a high (30%) fat content and a 20% solution of fructose instead of drinking water (hf/hfr diet).

Results and discussion. Feeding rats with the hfr diet for 20 weeks led to the suppression of Gal activity by 35, Glu by 46 and Gluc by 31%. With the inclusion of quercetin in the hfr diet at a dose of 34 mg/kg b.w. enzyme activity was restored to the control values and exceeded the level of activity in rats fed hfr ration without quercetin by 60, 100 and 47%, respectively, for Gal, Glu, and Gluc. Feeding rats with the hf/hfr diet for 10 weeks did not have a significant impact on the activity of bacterial enzymes.

The inclusion of resveratrol in the hf/hfr diet at a dose of 10 mg/kg b.w. resulted in a decrease in Glu activity by 58 and Gluc by 28%, and an increase in resveratrol dose to 100 mg/kg b.w. caused further suppression of Gal activity by 30, Glu by 76 and Gluc by 64% comparative to the activity in rats on the hf/hfr diet without resveratrol.

Conclusion. The obtained data suggest that quercetin restores reduced by hfr diet activity of glycosyl hydrolases of the cecum microflora of rats, most likely due to an increase in the representation of the types of enzyme activity carriers. The suppressive effect of resveratrol on the activity of glycosyl hydrolases of the cecum microflora of rats fed a hf/hfr diet may be the result of its direct action on enzymes and is not associated with the effect on the composition of the intestinal microbiota.

Keywords: quercetin, resveratrol, intestinal microbiota, bacterial glycosyl hydrolases, high-fructose diet, high-fat high-fructose diet

В настоящее время ассоциация организма человека и его кишечной микробиоты рассматривается как единое целое, в котором составляющие находятся в состоянии постоянного взаимовлияния и которое, как показывают последние исследования, играет значимую роль как в обеспечении здоровья человека, так и в патогенезе множества его заболеваний [1]. Перечень патологических состояний, ассоциирующихся с дисбиотическими изменениями микрофлоры кишечника, значительно расширился в результате изучения роли микробиоты и продуктов ее жизнедеятельности в регуляции метаболических процессов макроорганизма [2].

В последние годы все большее развитие получает гипотеза, согласно которой ожирение и связанные с ним сахарный диабет, неалкогольная жировая болезнь

печени (НАЖБП), сердечно-сосудистые заболевания обусловлены дисбиозом, вызванным преобладанием в рационе питания жиров и простых углеводов, особенно фруктозы [3–5].

При этом отмечается возросший интерес к полифенолам, обладающим широким спектром биологической активности, как модуляторам функциональной активности микробиоты. Результаты экспериментальных исследований свидетельствуют о том, что профилактические и терапевтические эффекты применения полифенолов при ожирении сопровождаются значительным уменьшением тяжести дисбиоза и восстановлением функционального состояния микробиоты [6–8].

Как известно, одной из основных функций микробиоты является метаболическая, которая связана в первую очередь с активностью гликолитических ферментов

микрофлоры толстой кишки, обеспечивающих утилизацию сложных углеводов растительного происхождения, неперевариваемых ферментами макроорганизма.

К числу таких ферментов относятся бактериальные гликозил-гидролазы – глюкозидазы, галактозидазы, глюкуронидазы. Гликозил-гидролазы кишечной микробиоты играют также ключевую роль в метаболизме и обеспечении биодоступности многих биологически активных веществ пищи, в том числе полифенолов, которые в природе существуют главным образом в виде гликозидов [9, 10]. Это позволяет рассматривать уровень их активности в качестве одного из показателей функционального состояния кишечной микробиоты.

Целью работы было изучение влияния кверцетина и ресвератрола – полифенолов, широко представленных в ежедневном рационе питания человека, на активность бактериальных гликозидаз у крыс, получавших рационы с высоким содержанием фруктозы или жира и фруктозы. Оба рациона близки к так называемому западному типу диеты, с которой связывают рост ожирения и сопутствующих метаболических болезней.

Материал и методы

В работе придерживались рекомендаций «Международные руководящие принципы биомедицинских исследований на животных», разработанных Советом международных научных медицинских организаций (2012 г.) и Правил надлежащей лабораторной практики (приказ Минздрава России от 01.04.2016 № 199н).

В первом эксперименте крысы-самцы линии Вистар (в каждой группе по 8 животных с исходной массой тела 135–165 г) в течение 20 нед получали стандартный полусинтетический рацион (контрольная группа) или высокофруктозный (в/фр) рацион – стандартный рацион и 20% раствор фруктозы вместо питьевой воды (в/фр 1-я опытная группа), или стандартный рацион с добавлением кверцетина в количестве 34 мг на 1 кг массы тела и 20% раствор фруктозы вместо питьевой воды (в/фр 2-я опытная группа) [11].

Во втором эксперименте растущие крысы-самцы Вистар (по 6 животных в группе с исходной массой тела 73–88 г) в течение 10 нед получали стандартный полусинтетический рацион (контрольная группа) или полусинтетический рацион с высоким (30% от массы сухого корма) содержанием жира (лжрд/подсолнечное масло – 1/1) и 20% раствор фруктозы вместо питьевой воды (вж/вфр рацион, 1-я опытная группа), или вж/вфр рацион с включением ресвератрола в количестве 10 мг на 1 кг массы тела (2-я опытная группа), или вж/вфр рацион с включением ресвератрола в количестве 100 мг на 1 кг массы тела (3-я опытная группа). Использованные дозы полифенолов были сопоставимы с таковыми, применяемыми в экспериментах на животных [6–8].

Сразу после декапитации крыс слепую кишку выделяли вместе с содержимым. Содержимое тщательно перемешивали *in situ*, небольшую порцию смешивали

с 0,1 М калий-фосфатным буфером pH 6,5 в соотношении 1:15 (масса : объем), гомогенизировали в стеклянном гомогенизаторе Поттера–Эльвейема с тефлоновым пестиком в течение 120 с при 1200 об/мин и центрифугировали при 14 000 об/мин в течение 20 мин при 4 °С. Надосадочную жидкость отбирали и хранили при -80 °С до определения активности ферментов.

Реакционную смесь для определения активности бактериальных гидроксил-гидролаз, содержащую 0,1 М фосфатный буфер pH 6,5, исследуемый материал и субстрат – 5 мМ 4-нитрофенил-β-D-галопиранозид (для β-галактозидазы) или 5 мМ 4-нитрофенил-β-D-глюкопиранозид (для β-глюкозидазы), или 5 мМ 4-нитрофенил-β-D-глюкуроид для β-глюкуронидазы, инкубировали в течение 30 мин при 37 °С. Реакцию останавливали 0,4 М глициновым буфером pH 10,8 и измеряли экстинкцию при λ=405 нм [12].

Статистическую обработку результатов проводили с использованием программы IBM SPSS Statistics Ver. 20 (IBM, США). Данные представляли в виде среднего арифметического и стандартной ошибки среднего ($M \pm m$). Для выявления статистически значимых ($p < 0,05$) различий между группами применяли однофакторный дисперсионный анализ с использованием в качестве апостериорного критерия LSD-теста.

Результаты и обсуждение

Влияние кверцетина на активность гликозил-гидролаз в слепой кишке крыс, получавших высокофруктозный рацион

Как видно из данных, представленных в табл. 1, длительное содержание крыс на рационе с фруктозой (1-я опытная группа) приводило к снижению активности β-галактозидазы, β-глюкозидазы и β-глюкуронидазы до 65, 54 и 69% от уровня контроля соответственно. При обогащении в/фр рациона кверцетином (2-я опытная группа) активность бактериальных ферментов восстанавливалась до контрольных величин и превышала уровень активности у крыс, получавших в/фр рацион без кверцетина, на 60, 100 и 47% соответственно для β-галактозидазы, β-глюкозидазы и β-глюкуронидазы.

В недавно опубликованной работе В. Fotschki и соавт. [13] также показали, что содержание крыс Вистар

Таблица 1. Влияние кверцетина на активность гликозил-гидролаз в слепой кишке крыс, получавших высокофруктозный рацион (мкмоль/мин×г)

Показатель	Группа животных		
	контрольная	1-я опытная	2-я опытная
β-Галактозидаза	0,23±0,02 ^а	0,15±0,01 ^в	0,24±0,04 ^а
β-Глюкозидаза	0,26±0,03 ^а	0,14±0,02 ^в	0,28±0,05 ^а
β-Глюкуронидаза	3,26±0,60	2,26±0,36	3,32±0,42

Примечание. Здесь и в табл. 2: показатели, имеющие статистически значимые различия, обозначены разными буквами (а, в, с).

Таблица 2. Влияние ресвератрола на активность гликозил-гидролаз в слепой кишке крыс, получавших высокожировой высокофруктозный рацион (мкмоль/мин×г)

Показатель	Группа животных			
	контрольная	1-я опытная	2-я опытная	3-я опытная
β-Галактозидаза	0,24±0,02 ^{ab}	0,30±0,03 ^{bc}	0,36±0,03 ^c	0,21±0,02 ^a
β-Глюкозидаза	0,49±0,46 ^a	0,50±0,07 ^a	0,21±0,02 ^b	0,12±0,01 ^b
β-Глюкуронидаза	3,64±0,42 ^{ab}	4,05±0,34 ^a	2,91±0,17 ^b	1,45±0,13 ^c

в течение 6 нед на в/фр рационе приводит к значительному снижению в содержимом слепой кишки активности β-галактозидазы и β-глюкозидазы, но мало влияет на активность β-глюкуронидазы. Обнаруженное подавление активности бактериальных гликозил-гидролаз у крыс, получавших в/фр рацион, совпадает с имеющимися данными литературы, свидетельствующими о том, что в/фр рационы приводят к дисбиозу и уменьшению численности представителей видов *Lactobacillus* и *Bifidobacterium* [14, 15], которые являются продуцентами гликозил-гидролаз [9].

Что касается кверцетина, следует отметить, что в ряде экспериментальных исследований обнаружено, что он может подавлять проявления метаболического синдрома у крыс, получавших в/фр рацион, ослаблять окислительный стресс и развитие ключевого патогенетического звена развития ожирения – низкоинтенсивной системной воспалительной реакции [16–18]. Морфологические исследования, проведенные в нашем эксперименте [19], также показали, что у крыс 2-й опытной группы, получавших в/фр рацион с включением кверцетина, проявления НАЖБП были менее выражены, чем у животных 1-й опытной группы, получавших в/фр рацион без кверцетина.

Значительно меньше сведений имеется о влиянии кверцетина на дисбиоз и активность ферментов микробиоты в экспериментах с использованием индуцирующих ожирение рационов. Показано, что кверцетин снижает тяжесть дисбиоза и развитие ожирения и НАЖБП у крыс, получавших высокожировые или высокоуглеводные с высоким содержанием жира рационы [6, 20, 21]. При этом авторы связывают действие кверцетина на проявления метаболического синдрома с его способностью вызывать глубокие (на уровне филумов) изменения композиционного состава кишечной микробиоты и восстанавливать микробиологическое равновесие [6]. В одной публикации сообщается, что кверцетин и его моногликозиды усиливают метаболическую активность кишечной микробиоты и активируют β-глюкозидазу и β-глюкуронидазу в содержимом слепой кишки крыс, получавших высокожировой рацион [22].

Влияние ресвератрола на активность гликозил-гидролаз в слепой кишке крыс, получавших высокожировой высокофруктозный рацион

Содержание крыс в течение 10 нед на вж/вфр рационе – 1-я опытная группа, не оказывало существенного

влияния на активность изученных бактериальных ферментов (табл. 2). Включение в рацион ресвератрола в количестве 10 мг на 1 кг массы тела (2-я опытная группа) приводило к незначительному (на 20%) возрастанию активности β-галактозидазы относительно активности фермента у крыс 1-й опытной группы. В то же время активность бактериальных β-глюкозидазы и β-глюкуронидазы у животных 2-й опытной группы была статистически значимо ниже активности у крыс 1-й опытной группы, не получавших ресвератрол, – соответственно на 58 и 28%. Увеличение дозы ресвератрола до 100 мг на 1 кг массы тела (3-я опытная группа) вызывало дальнейшее подавление активности всех трех изученных ферментов – β-галактозидазы на 30%, β-глюкозидазы – на 76% и β-глюкуронидазы – на 64% (относительно уровня активности у крыс 1-й опытной группы, не получавших ресвератрол).

Таким образом, полученные результаты показали, что в/фр рацион с одновременным увеличением доли жира в рационе не оказывает значительного влияния на активность изученных гликозил-гидролаз в содержимом слепой кишки крыс. Эти результаты отличаются от данных, полученных в 1-м разделе исследований, в котором использовали в/фр рацион. Возможно, при этом, кроме различий в составе рациона, определенное значение имеет длительность экспериментов и разнонаправленность влияния высокожировых и высокоуглеводных рационов на ферментную активность. Так, не обнаружены изменения активности β-галактозидазы, β-глюкозидазы и β-глюкуронидазы в содержимом слепой кишки крыс Вистар, получавших высокожировой рацион [22], в то время как в/фр рацион вызывал у крыс Вистар существенное снижение активности бактериальных гликозил-гидролаз [13].

Значительное место в изучении механизмов защитного действия ресвератрола при ожирении занимают сведения о его влиянии на кишечную микробиоту. По данным некоторых авторов, благоприятные эффекты ресвератрола при ожирении могут быть связаны с его регулирующим действием на состав микробиоты, существенным уменьшением в ней видов, характерных для диет-индуцированного ожирения, и увеличением представительства видов *Lactobacillus* и *Bifidobacterium* [20, 23].

В других исследованиях при сравнении защитного действия ресвератрола и кверцетина у крыс Вистар, получавших высокожировой высокосахарозный рацион, показано, что подавление ресвератролом развития ожирения не было связано с изменением состава ки-

шечной микробиоты [6]. Согласно данным, изложенным в обзоре [24], ресвератрол не оказывал существенного влияния на популяционный состав кишечной микробиоты у крыс и мышей, получавших высокожировую или высокоуглеводные рационы. Авторы полагают, что в отличие от кверцетина действие ресвератрола происходит на уровне кишечника и опосредовано укреплением/восстановлением целостности эпителиального барьера. В пользу такого заключения свидетельствует обнаруженное усиление ресвератролом экспрессии генов белков плотных контактов эпителиальных клеток [6, 24].

Таким образом, полученные результаты и анализ данных литературы позволяют сделать следующие выводы:

1. Кверцетин восстанавливает сниженную в/фр рационом активность гликозил-гидролаз микрофлоры слепой

кишки крыс, вероятнее всего, за счет восстановления ее композиции, в том числе за счет увеличения численности носителей ферментной активности.

2. Ресвератрол оказывает дозозависимое подавляющее действие на активность гликозил-гидролаз микрофлоры слепой кишки крыс, получавших вж/вфр рацион, что, возможно, является результатом прямого действия на активность ферментов и не связано с влиянием на состав микробиоты.

Финансирование. Работа проведена за счет средств субсидии на выполнение государственного задания.

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

Сведения об авторах

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

Кравченко Лидия Васильевна (Kravchenko Lidiya V.) – кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории энзимологии питания

E-mail: kravchenko@ion.ru

<https://orcid.org/0000-0002-9316-4527>

Авреньева Людмила Ивановна (Avren'eva Lyudmila I.) – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории энзимологии питания

E-mail: avrenyeva@ion.ru

<https://orcid.org/0000-0003-1989-6751>

Гусева Галина Владимировна (Guseva Galina V.) – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории энзимологии питания

E-mail: mailbox@ion.ru

<https://orcid.org/0000-0002-4643-9698>

Аксенов Илья Владимирович (Aksenov Ilya V.) – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории энзимологии питания

E-mail: aksenov@ion.ru

<http://orcid.org/0000-0003-4567-9347>

Литература

1. Микроэкология: фундаментальные и прикладные проблемы : монография / под ред. Плужникова Н.Н., Накатиса Я.А., Хурцилавы О.Г. СПб. : Изд-во СЗГМУ им. И.И. Мечникова, 2012. 304 с.
2. Derrien M., Veiga P. Rethinking diet to aid human-microbe symbiosis // Trends Microbiol. 2017. Vol. 25, N 2. P. 100–112.
3. Корниенко Е.А. Современные представления о взаимосвязи ожирения и кишечной микробиоты // Педиатр. 2013. Т. 4, № 3. С. 3–14.
4. Драпкина О.М., Кабурова А.Н. Кишечная микробиота – новый спутник на маршруте сердечно-сосудистых заболеваний: неожиданные роли старых соседей // Рациональная фармакотер. в кардиологии. 2016. Т. 12, № 1. С. 66–71.
5. Lambert J., Weiskirchen S., Landert S., Weiskirchen R. Fructose: a dietary sugar in crosstalk with microbiota contributing to the development and progression of non-alcoholic liver disease // Front. Immunol. 2017. Vol. 8. P. 1159.
6. Etxeberria U., Arias N., Boque N. et al. Reshaping faecal gut microbiota composition by the intake of trans-resveratrol and quercetin in high-fat sucrose diet-fed rats // J. Nutr. Biochem. 2015. Vol. 26, N 6. P. 651–660.
7. Carrera-Quintanar L., López Roa R.I., Quintero-Fabián S. et al. Phytochemicals that influence gut microbiota as prebiotics and for the treatment of obesity and inflammatory diseases // Mediators Inflamm. 2018. Vol. 2018. Article ID 9734845.
8. Wang P., Li D., Ke W. et al. Resveratrol-induced gut microbiota reduced obesity in high-fat diet-fed mice // Int. J. Obes. (Lond.). 2019 Febr. doi: 10.1038/s41366-019-0332-1
9. Braune A., Blaut M. Bacterial species involved in the conversion of dietary flavonoids in the human gut // Gut Microbes. 2016. Vol. 7, N 3. P. 216–234.
10. Rowland I., Gibson G., Heinken A. et al. Gut microbiota function: metabolism of nutrients and other food components // Eur. J. Nutr. 2018. Vol. 57, N 1. P. 1–24.
11. Аксенов И.В., Авреньева Л.И., Гусева Г.В. и др. Влияние кверцетина на защитный потенциал крыс при повышенном содержании фруктозы в рационе // Вопр. питания. 2018. Т. 87, № 5. С. 6–12.
12. Djouzi Z., Andrieux C., Degivry M.C. et al. The association of yogurt starters with Lactobacillus casei DN 114001 in fermented milk alters the composition and metabolism of intestinal microflora in germ-free rats and in human flora-associated rats // J. Nutr. 1997. Vol. 127, N 11. P. 2260–2266.
13. Fotschki B., Juskiwicz J., Kolodziejczyk K. et al. Protective effects of ellagitannin-rich strawberry extracts on biochemical and metabolic disturbances in rats fed a diet high in fructose // Nutrients. 2018. Vol. 10, N 4. pii: E445.

14. Jegatheesan P., Beutheu S., Ventura G. et al. Effect of specific amino acids on hepatic lipid metabolism in fructose-induced non-alcoholic fatty liver disease // *Clin. Nutr.* 2016. Vol. 35, N 1. P. 175–182.
15. Zubiria M.G., Gambaro S.E., Rey M.A. et al. Deleterious metabolic effects of high fructose intake: the preventive effect of *Lactobacillus kefir* administration // *Nutrients*. 2017. Vol. 9, N 5. pii: E470.
16. Vazquez Prieto M.A., Bettaieb A., Rodriguez Lanzi C. et al. Catechin and quercetin attenuate adipose inflammation in fructose-fed rats and 3T3-L1 adipocytes // *Mol. Nutr. Food Res.* 2015. Vol. 59, N 4. P. 622–633.
17. Owis A.I., Abo-Youssef A.M., Osman A.H. Leaves of *Cordia boissieri* A. DC. as a potential source of bioactive secondary metabolites for protection against metabolic syndrome-induced in rats // *Z. Naturforsch. C.* 2017. Vol. 72, N 3–4. P. 107–118.
18. Zhao Y., Chen B., Shen J. et al. The beneficial effects of quercetin, curcumin, and resveratrol in obesity // *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2017. Vol. 2017. Article ID 1459497.
19. Никитин Н.С., Кузнецов С.П. Влияние кверцетина на морфологические изменения при неалкогольной жировой болезни печени у крыс на рационе с повышенным содержанием фруктозы // *Вопр. питания.* 2018. Т. 87, № 6. С. 16–21.
20. Zhao L., Zhang Q., Ma W. et al. A combination of quercetin and resveratrol reduces obesity in high-fat diet-fed rats by modulation of gut microbiota // *Food Funct.* 2017. Vol. 8, N 12. P. 4644–4656.
21. Porras D., Nistal E., Martinez-Florez S. et al. Protective effect of quercetin on high-fat diet-induced non-alcoholic fatty liver disease in mice is mediated by modulating intestinal microbiota imbalance and related gut-liver axis activation // *Free Radic. Biol. Med.* 2017. Vol. 102. P. 188–202.
22. Grzelak-Blaszczyk K., Milala J., Cosmala M. et al. Onion quercetin monoglycosides alter microbial activity and increase antioxidant capacity // *J. Nutr. Biochem.* 2018. Vol. 56. P. 81–88.
23. Qiao Y., Sun J., Xia S. et al. Effects of resveratrol on gut microbiota and fat storage in mouse model with high-fat-induced obesity // *Food Funct.* 2014. Vol. 5, N 6. P. 1241–1249.
24. Bird J.K., Raederstorff D., Weber P., Steinert R.E. Cardiovascular and antiobesity effects of resveratrol mediated through the gut microbiota // *Adv. Nutr.* 2017. Vol. 8, N 6. P. 839–849.

References

1. Microecology: fundamental and practical problems: Monograph. In: N.N. Pluzhnikov, J.A. Nakatis, O.G. Khurtsilava. Saint Petersburg: Izdatel'stvo SZGMU im. I.I. Mechnikova, 2012: 304 p. (in Russian)
2. Derrien M., Veiga P. Rethinking diet to aid human-microbe symbiosis. *Trends Microbiol.* 2017; 25 (2): 100–12.
3. Kornienko E.A. Current understanding of the relationship between obesity and intestinal microbiota. *Pediatr [Pediatrician]*. 2013; 4 (3): 3–14. (in Russian)
4. Drapkina O.M., Kaburova A.N. Intestinal microbiota – a new satellite on the route of cardiovascular diseases: unexpected roles of old neighbors. *Ratsional'naya farmakoterapiya v kardiologii [Rational Pharmacotherapy in Cardiology]*. 2016. 12 (1): 66–71. (in Russian)
5. Lambert J., Weiskirchen S., Landert S., Weiskirchen R. Fructose: a dietary sugar in crosstalk with microbiota contributing to the development and progression of non-alcoholic liver disease. *Front Immunol.* 2017; 8: 1159.
6. Etxeberria U., Arias N., Boque N., et al. Reshaping faecal gut microbiota composition by the intake of trans-resveratrol and quercetin in high-fat sucrose diet-fed rats. *J Nutr Biochem.* 2015; 26 (6): 651–60.
7. Carrera-Quintanar L., López Roa R.I., Quintero-Fabián S., et al. Phytochemicals that influence gut microbiota as prophylactics and for the treatment of obesity and inflammatory diseases. *Mediators Inflamm.* 2018; 2018: 9734845.
8. Wang P., Li D., Ke W., et al. Resveratrol-induced gut microbiota reduced obesity in high-fat diet-fed mice. *Int. J. Obes. (Lond.)*. 2019 Febr. doi: 10.1038/s41366-019-0332-1
9. Braune A., Blaut M. Bacterial species involved in the conversion of dietary flavonoids in the human gut. *Gut Microbes.* 2016; 7 (3): 216–34.
10. Rowland I., Gibson G., Heinken A., et al. Gut microbiota function: metabolism of nutrients and other food components. *Eur J Nutr.* 2018; 57 (1): 1–24.
11. Aksenov I.V., Avren'eva L.I., Guseva G.V., et al. Effects of quercetin on protective capacity in rats fed a high fructose diet. *Voprosy pitaniia [Problems of Nutrition]*. 2018; 87 (5): 6–12. (in Russian)
12. Djouzi Z., Andrieux C., Degivry M.C., et al. The association of yogurt starters with *Lactobacillus casei* DN 114001 in fermented milk alters the composition and metabolism of intestinal microflora in germ-free rats and in human flora-associated rats. *J Nutr.* 1997; 127 (11): 2260–6.
13. Fotschki B., Juskiewicz J., Kolodziejczyk K., et al. Protective effects of ellagitannin-rich strawberry extracts on biochemical and metabolic disturbances in rats fed a diet high in fructose. *Nutrients*. 2018; 10 (4): pii: E445.
14. Jegatheesan P., Beutheu S., Ventura G., et al. Effect of specific amino acids on hepatic lipid metabolism in fructose-induced non-alcoholic fatty liver disease. *Clin Nutr.* 2016; 35 (1): 175–82.
15. Zubiria M.G., Gambaro S.E., Rey M.A., et al. Deleterious metabolic effects of high fructose intake: the preventive effect of *Lactobacillus kefir* administration. *Nutrients*. 2017; 9 (5): pii: E470.
16. Vazquez Prieto M.A., Bettaieb A., Rodriguez Lanzi C., et al. Catechin and quercetin attenuate adipose inflammation in fructose-fed rats and 3T3-L1 adipocytes. *Mol Nutr Food Res.* 2015; 59 (4): 622–33.
17. Owis A.I., Abo-Youssef A.M., Osman A.H. Leaves of *Cordia boissieri* A. DC. as a potential source of bioactive secondary metabolites for protection against metabolic syndrome-induced in rats. *Z Naturforsch C.* 2017; 72 (3–4): 107–18.
18. Zhao Y., Chen B., Shen J., et al. The beneficial effects of quercetin, curcumin, and resveratrol in obesity. *Oxid Med Cell Longev.* 2017; 2017: 1459497.
19. Nikitin N.S., Kuznetsov S.P. Effect of quercetin on morphological changes in nonalcoholic fatty liver disease in high fructose-fed rats. *Voprosy pitaniia [Problems of Nutrition]*. 2018; 87 (6): 16–21. (in Russian)
20. Zhao L., Zhang Q., Ma W., et al. A combination of quercetin and resveratrol reduces obesity in high-fat diet-fed rats by modulation of gut microbiota. *Food Funct.* 2017; 8 (12): 4644–56.
21. Porras D., Nistal E., Martinez-Florez S., et al. Protective effect of quercetin on high-fat diet-induced non-alcoholic fatty liver disease in mice is mediated by modulating intestinal microbiota imbalance and related gut-liver axis activation. *Free Radic Biol Med.* 2017; 102: 188–202.
22. Grzelak-Blaszczyk K., Milala J., Cosmala M., et al. Onion quercetin monoglycosides alter microbial activity and increase antioxidant capacity. *J Nutr Biochem.* 2018; 56: 81–8.
23. Qiao Y., Sun J., Xia S., et al. Effects of resveratrol on gut microbiota and fat storage in mouse model with high-fat-induced obesity. *Food Funct.* 2014; 5 (6): 1241–9.
24. Bird J.K., Raederstorff D., Weber P., Steinert R.E. Cardiovascular and antiobesity effects of resveratrol mediated through the gut microbiota. *Adv Nutr.* 2017; 8 (6): 839–49.

Для корреспонденции

Лир Дарья Николаевна – кандидат медицинских наук, доцент кафедры гигиены питания и гигиены детей и подростков ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет им. акад. Е.А. Вагнера» Минздрава России
Адрес: 614990, Россия, г. Пермь, ул. Петропавловская, д. 26
Телефон: (342) 212-53-38
E-mail: darya.lir@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-7738-6832>

Лир Д.Н., Перевалов А.Я.

Анализ фактического домашнего питания проживающих в городе детей дошкольного и школьного возраста

Analysis of actual home nutrition of urban children of pre-school and school age

Lir D.N., Perevalov A.Ya.

ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет им. акад. Е.А. Вагнера» Минздрава России, Пермь, Россия
Perm State Medical University named after E.A. Wagner, Perm, Russia

Фактическое питание детского населения отражает влияние как социально-экономических условий в стране, так и локальной социальной среды ребенка, формируя при этом резерв адаптационных возможностей и состояние здоровья в целом.

Цель исследования – анализ фактического питания в домашних условиях детей дошкольного и школьного возраста, проживающих в городе.

Материал и методы. Проведено ретроспективное исследование оценки фактического питания детей и подростков в домашних условиях, проживающих в Перми. Использован метод 24-часового (суточного) воспроизведения питания за выходной день, предшествующий опросу. Гигиеническая оценка питания выполнена в соответствии с возрастными нормами физиологических потребностей в энергии и пищевых веществах. В группу наблюдения вошли дети дошкольного возраста, учащиеся начальной, средней и старшей школы. Общая численность выборки составила 717 человек (351 мальчик и 366 девочек).

Результаты и обсуждение. Рационы всех анализируемых возрастных групп были дефицитны по абсолютному содержанию витаминов В₁, В₂, С, А и кальция, в дошкольном возрасте дополнительно – по витамину Е, белку и общей энергии. Питание разбалансировано по содержанию макронутриентов: на фоне достаточного вклада белка в общую калорийность рационов выявлен избыток жиров, недостаток квоты растительных жиров, животных белков и общих углеводов. Потребление отдельных продуктов не всегда зависит от возраста. Основной вклад в суточную калорийность рационов вносят недорогие продукты пониженной пищевой плотности – кондитерские изделия, сахар и жиры (37–44% энергии). Продукты массового потребления, хлеб, крупы и мука обеспечивают 21–25% энергии; молоко и молочные продукты – 15% в младшем возрасте и вдвое меньше у старшеклассников; мясо, птица и рыба, наоборот, у школьников – 15–17% и меньше в дошкольной возрастной группе; доля овощей

Для цитирования: Лир Д.Н., Перевалов А.Я. Анализ фактического домашнего питания проживающих в городе детей дошкольного и школьного возраста // *Вопр. питания*. 2019. Т. 88, № 3. С. 69–77. doi: 10.24411/0042-8833-2019-10031.

Статья поступила в редакцию 06.02.2019. **Принята в печать** 20.05.2019.

For citation: Lir D.N., Perevalov A.Ya. Analysis of actual home nutrition of urban children of pre-school and school age. *Voprosy pitaniia [Problems of Nutrition]*. 2019; 88 (3): 69–77. doi: 10.24411/0042-8833-2019-10031. (in Russian)

Received 06.02.2019. **Accepted** 20.05.2019.

и фруктов минимальная в каждой из возрастных групп (3–6%). Фактический режим питания детей и подростков в домашних условиях не отвечает физиологическим требованиям. Больше половины детей имеют 3-кратное питание, интервалы между приемами пищи достигают 8 ч; распределение калорийности по приемам пищи нерационально, особенно у старших школьников, по причине увеличения калорийности во вторую половину дня.

Заключение. Домашнее питание городских детей дошкольного и школьного возраста в выходные дни не соответствует принципам здорового питания и сопряжено с нерациональным продуктовым набором.

Ключевые слова: дети, школьники, фактическое питание, химический состав рационов, продуктовый набор, режим питания

The actual nutrition of the child population reflects the influence of both the socio-economic conditions in the country and the local social environment of the child, while forming a reserve of adaptive opportunities and health in general.

Aim. Analysis of the actual home nutrition of urban children of preschool and school age.

Material and methods. A retrospective study was conducted to assess the actual nutrition of children and adolescents at home, living in the city of Perm. The method of 24-hour (daily) dietary recall for the weekend preceding the survey was used. Hygienic assessment of nutrition was made in accordance with the age physiological requirements. The observation group included children of preschool age and children who were studying in elementary, middle and high school. The total sample size was 717 people (351 boys and 366 girls).

Results and discussion. The rations of all analyzed age groups were deficient in vitamins B₁, B₂, C, A, E and calcium, in addition to vitamin E, protein and total energy in preschool age. Nutrition was unbalanced by the content of macronutrients: against the background of a sufficient protein quota in total dietary calorie intake, an excess of fats along with a lack of vegetable fats, animal proteins and total carbohydrates were found. Consumption of individual products didn't always depend on the age. The main contribution to the daily calorie intake was made by inexpensive low-density foods – confectionery, sugar and fats (37–44% of energy). Products of mass consumption, bread, cereals and flour provided 21–25% of energy; milk and dairy products – 15% at a younger age and half as high in high school students; meat, poultry and fish, on the contrary, provided 15–17% in schoolchildren and less in the preschool age group; the share of fruits and vegetables was minimal in each of the age groups (3–6%). The actual diet of children and adolescents at home did not meet the physiological requirements. More than half of children had 3-fold meals, the intervals between meals reached 8 hours; the distribution of calories in meals was irrational, especially among older students, due to the increase in calorie intake in the afternoon.

Conclusion. Home diet of urban children of preschool and school age on weekends did not comply with well-known principles and was associated with an irrational food set.

Keywords: children, schoolchildren, actual nutrition, chemical composition of diets, food package, diet

Рост и развитие детей и подростков протекают на фоне имеющейся генетической программы и детерминированы комплексом экзогенных факторов. С одной стороны, растущий организм обладает широким диапазоном адаптационных возможностей, что позволяет ему приспособиться к имеющимся условиям среды. Но, с другой стороны, морфофункциональная нестабильность определяет наличие так называемых сенситивных (уязвимых) периодов развития, т.е. периодов, когда организм наиболее чувствителен к неблагоприятным внешним воздействиям даже на подпороговом уровне. Последние способствуют возникновению микроальтераций развития, которые инициируют изменения в генетически запрограммированном процессе онтогенетического развития [1].

Дети дошкольного возраста находятся в активной фазе роста, постепенно у них расширяется круг общения и социальные обязанности. Поступление в общеобразовательные учреждения, равно как и переход к предметному обучению, сопровождается напря-

жением адаптационных механизмов. В подростковом возрасте на фоне нейроэндокринной перестройки и значительной умственной и физической нагрузки повышается риск приобретения различных форм девиантной активности. Все эти биологические и социальные особенности в той или иной степени могут определять развитие заболеваний среди детского населения.

Одним из факторов, формирующих в этих условиях уровень адаптационных возможностей, способствующих повышению устойчивости к разнообразным средовым воздействиям, восстановлению гомеостаза и сохранению нормальной жизнедеятельности, является оптимальное питание.

Вместе с тем опыт предшествующих исследователей доказывает наличие ряда проблем в детском и подростковом питании, среди которых приоритетными являются дисбаланс макронутриентов и недостаточное поступление микронутриентов, что обусловлено нерациональной структурой продуктового набора [2–8]. Следствием такого питания, среди прочего, может быть

как накопление избыточной массы тела и ожирение [9], распространенность которых в детской популяции увеличивается и составляет соответственно 19,9 и 5,6% [10], так и недостаток тощей и активной клеточной массы [11].

Важным обстоятельством, определяющим характер питания, является пищевое поведение детей и подростков. Исследования кратко- и долговременных регуляций пищевого поведения свидетельствуют о том, что вкусовые предпочтения обуславливаются двумя ведущими факторами: врожденными особенностями восприятия вкусовых качеств и модификацией их в известных пределах в зависимости от этнических и социальных особенностей. При этом модификация пищевых предпочтений во многом зависит от питания в семье, знаний родителей, а также рекламной пропаганды в средствах массовой информации [12, 13].

Цель исследования – анализ фактического питания в домашних условиях городских детей дошкольного и школьного возраста.

Материал и методы

Объектом исследования явились дети и подростки (а также их родители или законные представители), посещающие детские организованные коллективы. Учреждения для исследования выбирали с помощью направленного типического отбора. В качестве базы были определены наиболее характерные (по категории и уровню ассигнования на питание) 10 дошкольных образовательных организаций (ДОО) и 10 общеобразовательных учреждений (ОУ) 5 административных районов г. Перми, руководители и родители которых одобрили участие детей в исследовании. В группу наблюдения вошли дети дошкольного 4–7 лет ($n=153$), начального (2-й класс, 8–9 лет, $n=175$), среднего (5-й класс, 11–12 лет, $n=200$) и старшего (9-й класс, 14–15 лет, $n=189$) школьного возраста. Общая численность выборки составила 717 человек (351 мальчик и 366 девочек). Количественная репрезентативность выборки была определена по общепринятым формулам медицинской статистики [14].

Для формирования однородной выборки были использованы следующие общие критерии включения: возраст и посещение детского организованного коллектива, принадлежность к славянской национальности, длительность проживания в городе не менее 3 лет, наличие добровольного информированного согласия от родителей (или законных представителей).

Фактическое питание детей и подростков в домашних условиях изучено с использованием метода 24-часового (суточного) воспроизведения питания [15]. Оценку величины потребляемой порции проводили с помощью «Альбома порций продуктов и блюд» [16]. Сбор материала осуществляли путем интервьюирования детей и/или родителей (или законных представителей) в осенне-зимний сезон, за один выходной день, предшествующий опросу.

В основу гигиенической оценки химического состава рационов положены требования действующих в Российской Федерации Норм физиологических потребностей (НФП) в энергии и пищевых веществах для детей и подростков [17].

Обработка данных проведена с помощью пакета прикладных программ Statistica 6.0 (StatSoftInc., США). Оценка параметров на нормальность распределения выполнена с использованием критерия Колмогорова–Смирнова и Шапиро–Уилка. Описательные данные для количественных признаков представлены как медиана и межквартильный интервал (25-й; 75-й процентиля). Для сравнения более двух несвязанных групп по количественным показателям использован H -критерий Краскела–Уоллиса. Для последующего попарного сравнения – непараметрический критерий Манна–Уитни. Различия показателей между возрастными группами считали статистически значимыми при уровне $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

В дошкольном возрасте структура потребляемых пищевых продуктов складывается, как правило, из рационов, предлагаемых детям в ДОО, и питания в домашних условиях. В будние дни вклад организованного в детских садах питания имеет большее значение ввиду продолжительного пребывания дошкольников в этих коллективах и возможностью получать 4–5-кратное питание [18, 19]. Однако особенности рационов в домашних условиях могут повлиять на пищевые привычки детей и излишнюю избирательность в отношении блюд и кулинарных изделий ДОО.

Школьники, несмотря на длительность учебного процесса, в образовательном учреждении фактически могут быть обеспечены одним приемом пищи. Охват организованным школьным питанием в среднем составляет 44%. От средних величин заметно отличаются данные по отдельным возрастным группам. Так, организованным питанием охвачено 76% второклассников, 47% (в 1,6 раза меньше) пятиклассников и не более 9% (в 9 раз меньше) девятиклассников, т.е. с возрастом отказ учащихся от горячего питания становится более распространенным явлением, что подтверждено ранними исследованиями [3, 20]. Дети самостоятельно выбирают блюда и кулинарные изделия, руководствуясь пищевыми предпочтениями, сформированными в дошкольном возрасте, и находятся преимущественно на домашнем питании.

Фактическое потребление энергии и пищевых веществ

Количественные показатели, характеризующие потребление энергии и пищевых веществ в разных возрастных группах, представлены в табл. 1. Установлено, что медианное значение энергетической ценности рационов городских детей с возрастом увеличивается, при этом наибольший прирост потребляемой энергии (в 1,6 раза) происходит при переходе от дошкольного

Таблица 1. Суточное потребление энергии и пищевых веществ детьми дошкольного и школьного возраста в сравнении с нормами физиологических потребностей (НФП)

Пищевые вещества	Дети дошкольного возраста (n=153)						Школьники					
	2-й класс (n=75)			5-й класс (n=75)			2-й класс (n=200)			9-й класс (n=189)		
	НФП	Me [25; 75]	% НФП	НФП	Me [25; 75]	% НФП	НФП	Me [25; 75]	% НФП	НФП	Me [25; 75]	% НФП
Калорийность, ккал	1800	1070 ^{о,а} [856; 1385]	59	2100	1714 ^{о,а} [1556; 1792]	82	2400	1838 ^{о,а} [1756; 2124]	77	2700	2007 ^{а,б} [1769; 2028]	74
Белки, г	54	36 ^{о,а} [29; 50]	66	63	59 ^о [47; 67]	93	72	61 ^о [54; 73]	84	81	61 ^а [54; 69]	75
Белки животного происхождения, г	35	21 ^{о,а} [14; 31]	59	38	37 ^о [28; 43]	98	43	35 ^о [30; 42]	81	49	32 ^а [29; 37]	66
Жиры, г	60	39 ^{о,а} [29; 53]	65	70	65 ^о [59; 76]	93	80	74 ^о [66; 79]	92	90	74 ^а [64; 84]	82
Жиры растительного происхождения, г	18	7 ^{о,а} [5; 12]	40	21	16 ^о [8; 19]	74	24	21 ^о [13; 24]	87	27	20 ^а [16; 24]	75
Углеводы, г	261	144 ^{о,а} [105; 182]	55	305	208 ^{о,б} [196; 250]	68	348	245 ^о [218; 268]	70	392	254 ^{а,б} [229; 279]	65
Витамин В ₁ , мг	0,9	0,5 ^{о,а} [0,3; 0,6]	50	1,1	0,6 ^о [0,6; 0,7]	55	1,3	0,8 ^о [0,6; 0,9]	58	1,4	0,7 ^а [0,6; 0,7]	50
Витамин В ₂ , мг	1	0,6 ^{о,а} [0,4; 0,9]	62	1,2	1,0 ^о [0,8; 1,1]	85	1,5	1,0 ^о [1,0; 1,2]	69	1,7	0,9 ^а [0,7; 1,1]	51
Витамин С, мг	50	28 [17; 48]	57	60	33 [29; 46]	55	65	35 [27; 44]	54	80	29 [25; 33]	36
Ретинол, мкг	500	170 ^{о,а} [100; 260]	34	700	439 ^{о,б} [321; 743]	63	900	322 ^о [262; 369]	36	900	290 ^{а,б} [211; 422]	32
Витамин Е, мг ТЭ	7	4,0 ^{о,а} [3,0; 5,8]	57	10	9,5 ^{о,б} [6,7; 10,8]	95	12	10,6 ^о [7,8; 13,5]	88	15	11,8 ^{а,б} [10,8; 12,6]	79
Кальций, мг	900	378 ^{о,а} [227; 508]	42	1100	511 ^{о,а} [457; 573]	46	1200	597 ^{о,а} [548; 646]	50	1200	502 ^{а,б} [420; 544]	42
Фосфор, мг	800	596 ^{о,а} [473; 842]	75	1100	930 ^о [723; 960]	85	1200	977 ^о [858; 1066]	81	1200	901 ^а [771; 1032]	75
Магний, мг	200	137 ^{о,а} [109; 183]	68	250	214 ^о [204; 243]	86	300	254 ^{о,б} [218; 269]	85	400	214 ^{а,б} [188; 237]	54
Железо, мг	10	8 ^{о,а} [6; 11]	81	12	14 ^о [11; 16]	114	14	15 ^о [13; 16]	105	17	13 ^а [13; 16]	78

Примечание. Здесь и в табл. 2 и 3: статистическая значимость различий (p<0,05) между показателями в группах: ^о – дошкольный возраст и 2-е классы; ^а – дошкольный возраст и 5-е классы; ^б – дошкольный возраст и 9-е классы; ^а – 2-й и 5-й классы; ^б – 2-й и 9-й классы; ^а – 5-й и 9-й классы.

возраста к начальной школе. Аналогичная тенденция выявлена в отношении пищевых веществ – увеличение потребления макронутриентов в 1,4–1,8 раза к школьному возрасту, витаминов (В₂, А, Е) в 1,7–2,6 раза, минеральных веществ (фосфор, магний, железо) в 1,6–1,7 раза. Другими словами, поступление детей в общеобразовательное учреждение сопровождается повышенными затратами ресурсов организма, необходимыми для адаптации к изменяющимся условиям.

При сравнении величин энергетической и пищевой ценности рационов с НФП необходимо учитывать, что метод 24-часового воспроизведения недооценивает истинное потребление энергии и пищевых веществ на 15–20% [21]. Поэтому для обоснованного утверждения дефицитности рационов по тем или иным нутриентам их содержание должно быть менее 80% НФП. Вместе с тем в дошкольном возрасте энергетическая ценность рационов не превышает 60% НФП; содержание белка и жиров – 65–66% НФП, углеводов в 2 раза меньше НФП (см. табл. 1). Рационы школьников по энергетической ценности, а также содержанию белка и жиров близки к НФП соответствующего возраста.

Медианные величины потребления некоторых витаминов во всех возрастных группах ниже НФП: выявлен дефицит витаминов В₁ (снижение относительно НФП на 42–50%), В₂ (на 15–49%), С (на 43–64%), А (с учетом содержания в рационе β-каротина в пересчете на ретинол на 13% у второклассников и на 45–65% у остальных детей), в дошкольном возрасте также витамина Е (на 43%). С учетом особенностей разработки НФП расчетные значения, характеризующие усредненную картину в выборке, без учета использования витаминных комплексов так или иначе будут ниже НФП [5, 17]. Анализ данных потребления минеральных веществ свидетельствует о значительном дефиците кальция, поступление которого не превышало 50% НФП. Доступность кальция для усвоения усугубляется нерациональным соотношением с фосфором, который превышает содержание первого в 1,6–1,8 раза.

Таким образом, расчетные данные рационов анализируемой группы детей дефицитны по абсолютному содержанию витаминов В₁, В₂, С, А и кальция. Питание выходного дня детей дошкольного возраста, кроме того, дефицитно по витамину Е и имеет признаки белково-энергетической недостаточности, что не согласуется с результатами последних крупных эпидемиологических исследований питания детей и подростков России, в которых таких проблем не выявлено [5]. Однако подчеркнем, что в настоящей работе отсутствуют данные за будние дни.

По мнению ведущих специалистов [21], фактическое питание более достоверно характеризуют относительные величины потребления энергии за счет макронутриентов. Анализ собственных результатов показал, что, несмотря на невысокие абсолютные величины потребления макронутриентов в группе детей дошкольного возраста, белок обеспечивал 13,4 [11,4; 15,2]% суточного поступления энергии, что находится в пределах оптимальных величин 10–15% (рис. 1). В 3 возрастных

группах детей школьного возраста квоты белка при его достаточном абсолютном количестве незначительно различались и составляли соответственно 14,2 [12,2; 15], 12,9 [12,4; 13,6] и 12,5 [12; 13,3]%. При этом нельзя сказать, что содержание жиров и углеводов от общей калорийности было сбалансировано. Так, квота потребляемых жиров превышала рекомендуемые 30–32% и составляла в группе детей дошкольного возраста 32,5 [27,3; 38,5]%, среди школьников – 33,8 [32,3; 38,1], 34,8 [33,1; 36] и 33,8 [32,8; 36,3]%, соответственно. Квота углеводов, напротив, была снижена и не превышала 53% во всех группах.

Помимо прочего, следует обратить внимание на структуру белкового и жирового компонентов. Так, в общем количестве белка имеет значение квота белка животного происхождения, богатого эссенциальными аминокислотами, которые необходимы для нормального роста и развития детского организма. Вместе с тем в рационах детей дошкольного возраста их количество тождественно тому, что выявлено в других регионах [2], и составило 57 [44,8; 69,3] (вместо 65%), пятиклассников – 58,1 [54,2; 63,5]%, девятиклассников – 54,4 [51,3; 59,3] (вместо 60%), и только во вторых классах оно было в пределах оптимальных значений. В структуре жирового компонента содержание растительных жиров было ниже традиционно рекомендованной 1/3 и составило 19,9 [11,1; 32], 22 [13,9; 32,7], 27,9 [21,1; 29,1] и 27,5 [23,2; 31,5]%, соответственно возрастным группам.

Таким образом, питание детей дошкольного и школьного возраста характеризуется разбалансированностью

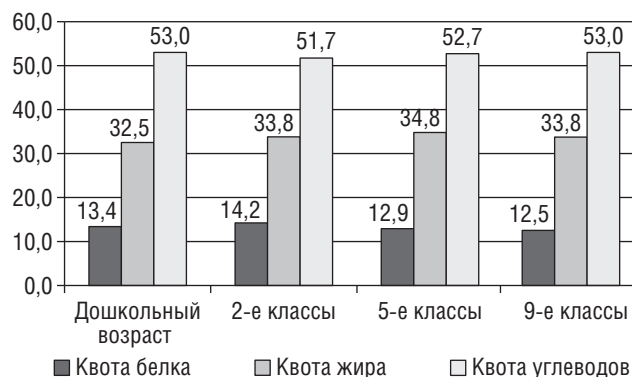


Рис. 1. Квоты макронутриентов по калорийности рационов детей дошкольного и школьного возраста, %

макронутриентов: при достаточной квоте белка наблюдается избыток потребления жиров, недостаток растительных жиров, животных белков и общих углеводов. Это отличается от существовавшей ранее тенденции к углеводно-жировой модели питания [8], но согласуется с данными одного из крупномасштабных исследований и свидетельствует о так называемом богатом питании, заключающемся в высокой квоте белка и жиров [5].

Продуктовый набор рационов

Результаты расчетов продуктового набора рационов детей и подростков в городской семье представлены

Таблица 2. Продуктовый набор рационов детей дошкольного и школьного возраста, г/сут на одного ребенка (брутто)

Пищевой продукт	Дети дошкольного возраста (n=153)	Школьники		
		2-й класс (n=175)	5-й класс (n=200)	9-й класс (n=189)
Хлеб ржаной	6 [°] , ^Δ [4; 17]	6 [▲] , [□] [4; 8]	17 [°] , [▲] [9; 20]	21 ^Δ , [□] [16; 26]
Хлеб пшеничный	38 [°] , ^Δ [24; 57]	47 [43; 53]	59 [°] [48; 69]	62 ^Δ [48; 71]
Мука пшеничная	17 [°] , ^Δ [9; 29]	19 [11; 41]	33 [°] [21; 37]	36 ^Δ [31; 42]
Крупы, бобовые	30 [°] [21; 46]	60 [°] , [□] [46; 70]	34 [26; 51]	23 [°] [17; 32]
Макаронные изделия	9 [°] , ^Δ [4; 23]	15 [°] [10; 18]	16 [°] [13; 25]	25 ^Δ , [□] [20; 31]
Овощи свежие, зелень	108 [71; 161]	100 [60; 140]	100 [81; 120]	101 [80; 115]
Картофель	82 [°] [52; 143]	113 [81; 128]	140 [°] [121; 172]	133 [94; 164]
Фрукты свежие	116 [°] [75; 150]	129 [116; 150]	181 [°] [143; 191]	108 [85; 159]
Фрукты сухие	4 [0; 7]	7 [1; 18]	4 [1; 7]	1 [0; 4]
Сок	59 [54; 96]	95 [24; 136]	83 [57; 147]	82 [59; 174]
Мясо	40 [°] , ^Δ [24; 71]	75 [°] [51; 98]	54 [42; 67]	77 ^Δ [51; 92]
Рыба	3 [°] , [°] [0; 12]	17 [4; 27]	13 [°] [8; 16]	11 [5; 19]
Птица	26 [12; 47]	17 [▲] , [□] [3; 20]	39 [▲] [23; 54]	30 [°] [22; 38]
Яйцо	8 [°] , [°] , ^Δ [5; 14]	25 [°] [13; 36]	14 [°] [11; 42]	27 ^Δ [18; 39]
Колбасные изделия	7 [°] , ^Δ [0; 26]	19 [▲] , [□] [10; 26]	38 [°] , [▲] [25; 44]	49 ^Δ , [□] [43; 56]
Молоко	182 [°] , [°] , ^Δ [136; 253]	114 [°] [73; 155]	120 [°] , [■] [101; 142]	87 ^Δ , [■] [47; 94]
Кисломолочные продукты	49 [15; 66]	53 [33; 89]	61 [27; 123]	43 [30; 75]
Творог	13 [0; 27]	20 [9; 24]	18 [5; 27]	12 [4; 16]
Сметана	2 [°] [1; 6]	5 [4; 13]	6 [°] [4; 13]	5 [2; 8]
Сыр	3 [°] , ^Δ [1; 4]	3 [2; 8]	10 [°] [7; 15]	8 ^Δ [5; 13]
Масло сливочное	21 [°] , [°] , ^Δ [17; 25]	28 [°] , [□] [24; 35]	25 [°] , [■] [22; 27]	22 [°] , [■] [19; 24]
Масло растительное	4 [3; 6]	5 [4; 10]	6 [3; 8]	5 [4; 6]
Кондитерские изделия	30 [°] , ^Δ [17; 54]	38 [°] [21; 67]	57 [°] , [■] [43; 61]	70 ^Δ , [□] , [■] [64; 90]
Сахар	26 [°] , [°] , ^Δ [20; 34]	52 [°] [28; 59]	44 [°] [36; 79]	45 ^Δ [33; 67]

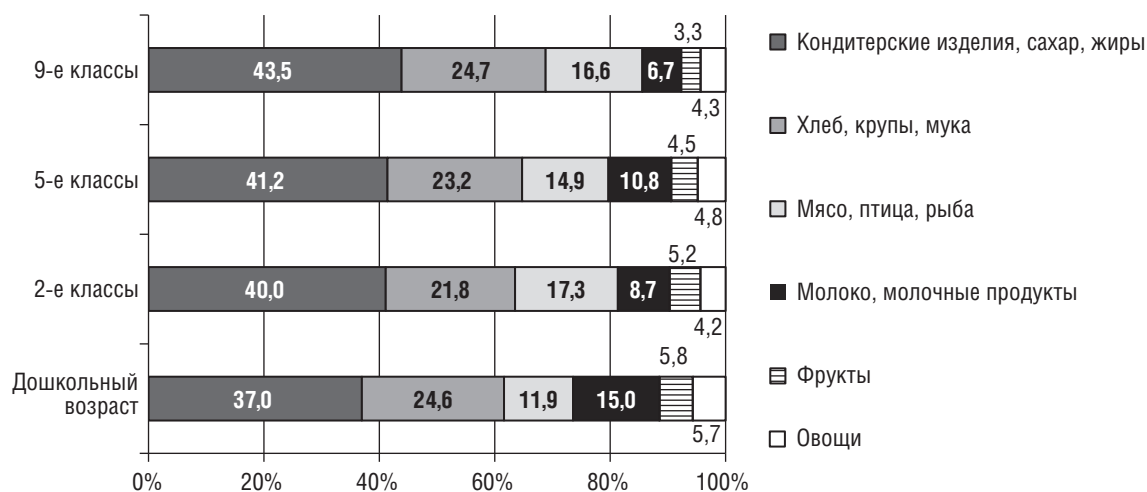


Рис. 2. Вклад основных групп пищевых продуктов в общую калорийность рационов детей дошкольного и школьного возраста, %

в табл. 2. Анализ данных позволил установить, что с возрастом уровень потребления некоторых продуктов остается неизменным или даже снижается. Так, количество круп, овощей, фруктов, используемых в рационах девятиклассников, значительно меньше, чем у младших детей. Причины дефицита кальция очевидны после расчета уровня потребления продуктов – основных его источников: если количество кисломолочных продуктов незначительно изменяется с возрастом и не превышает 61 г (у пятиклассников), то потребление молока снижается в 2 раза. Эти данные характеризуют сложившиеся общие тенденции среди детского населения, поскольку согласуются с результатами других авторов, которые выявляют отсутствие возрастной динамики в уровне потребления питьевого молока [22].

Вместе с тем потребление хлеба, макаронных изделий, муки, а также мяса и мясных продуктов с возрастом закономерно увеличивается. Обращает на себя внимание значительный прирост количества потребляемых колбасных изделий (в 7 раз), макаронных изделий (в 3 раза), кондитерских изделий (в 2 раза) и сахара (в 1,7 раза). В отношении выбора детьми птицы и рыбы четкой динамики не прослеживается: в школьном возрасте потребление птицы увеличивается, но у второклассников оно меньше, чем у детей дошкольного возраста; у них же в рационах зафиксировано максимальное количество рыбы.

Продуктовый набор формируется ассортиментом блюд и кулинарных изделий. Между тем в домашних условиях наиболее распространено приготовление вторых блюд и использование пищевых продуктов промышленного производства, готовых к употреблению. В рационах часто присутствуют мучные изделия, среди которых разнообразное печенье, а также выпечка, хлебобулочные продукты, блины и др.

Следует отметить, что дети не ограничены в выборе продуктов, не рекомендованных для детского питания. В дошкольном возрасте выявлен дебют потребления

сладкой газированной воды, чипсов, сухариков, жаренных во фритюре пирожков, пончиков, картофеля фри, а также приправ, майонеза, кетчупа. Хотя бы 1 раз в месяц потребляют эти продукты 40% детей. В школьном возрасте увеличивается как число детей, в чьем рационе присутствуют подобные продукты, так и величина порции. Так, количество съеденного майонеза среди девятиклассников составляет 7 [6; 11] г/сут, что в 2 раза больше, чем в начальной школе. Объем порции сладких газированных напитков, распространенность потребления которых в разных регионах одинакова [23], в старшем школьном возрасте также возрастает. Известно, что такие продукты повышают риск заболеваний пищеварительной системы, снижают резистентность организма и способствуют увеличению массы тела [9, 24].

В настоящей работе выполнена оценка структуры продуктового набора путем расчета вклада основных групп продуктов в суточную калорийность рационов (рис. 2). Установлено, что во всех возрастных группах наибольший вклад в общую калорийность вносят кондитерские изделия, сахар и жиры (37–44% энергии), на 2-м месте находятся хлеб, крупы и мука (21–25%), а 3-е место в дошкольном возрасте занимают молоко и молочные продукты (15%), тогда как у школьников – мясо, птица, рыба (15–17%). Фрукты и овощи как самостоятельные группы вносят равное количество энергии в каждой возрастной группе, но их доля снижается к старшему возрасту (до 3–4%). Учитывая эти данные и результаты оценки химического состава рационов, становится понятно, что на фоне общего дефицита углеводов они восполняются за счет продуктов, богатых моно- и дисахарами.

Выявленные особенности структуры продуктового набора не соответствуют пирамиде здорового питания и носят черты питания детей и подростков середины 1990-х гг., когда было отмечено высокое потребление кондитерских изделий и сладостей, вытесняющих из рациона продукты с высоким содержанием белка и поли-

Таблица 3. Калорийность отдельных приемов пищи детей дошкольного и школьного возраста

Прием пищи	Дети дошкольного возраста (n=153)	Школьники		
		2-й класс (n=175)	5-й класс (n=200)	9-й класс (n=189)
<i>Абсолютные значения калорийности, ккал</i>				
Завтрак	286 [202; 363]	225 [196; 321]	357 [301; 381]	336 [261; 378]
2-й завтрак	0 ^{•, ◦, Δ} [0; 76]	345 [•] [283; 526]	365 [◦] [289; 403]	350 ^Δ [233; 465]
Обед	265 ^{•, ◦, Δ} [179; 365]	477 [•] [419; 619]	625 [◦] [513; 681]	629 ^Δ [544; 678]
Полдник	80 [0; 215]	Н. д.	Н. д.	Н. д.
Ужин	269 ^{•, ◦, Δ} [186; 357]	487 [•] [375; 509]	546 [◦] [449; 614]	460 ^Δ [432; 500]
2-й ужин	43 ^{◦, Δ} [0; 124]	119 [□] [61; 159]	178 [◦] [133; 202]	317 ^{Δ, □} [214; 359]
Итого	1070 ^{•, ◦, Δ} [856; 1385]	1714 ^{•, Δ} [1556; 1792]	1838 ^{•, Δ} [1756; 2124]	2007 ^Δ [1769; 2028]
<i>Вклад отдельных приемов пищи в суточную калорийность, %</i>				
Завтрак	25 ^{•, ◦, Δ} [19; 33]	13 [•] [10; 19]	17 [◦] [15; 19]	17 ^Δ [14; 18]
2-й завтрак	0 ^{•, ◦, Δ} [0; 8]	20 [•] [17; 27]	18 [◦] [15; 21]	16 ^Δ [12; 22]
Обед	23 ^{◦, Δ} [18; 30]	30 [26; 33]	31 [◦] [28; 32]	31 ^Δ [29; 34]
Полдник	9 [0; 18]	Н. д.	Н. д.	Н. д.
Ужин	25 [16; 33]	27 [19; 30]	27 [23; 28]	23 [21; 26]
2-й ужин	4 ^Δ [0; 11]	8 [□] [3; 9]	9 [7; 10]	15 ^{Δ, □} [12; 17]

Примечание. Н. д. – нет данных.

сахаридов, а также недостаток фруктов [21]. Отличием является то, что, во-первых, указанная группа продуктов ранее вносила вклад в общую калорийность на 12% и занимала 2-е место после хлебопродуктов и круп, тогда как в настоящем исследовании их квота увеличилась более чем в 3 раза и стала основной. Во-вторых, доля овощей, роль которых известна как источника пищевых волокон, необходимых для поддержания оптимальной эвакуаторной деятельности пищеварительной системы, сорбции токсичных веществ и формирования нормального микробиоценоза кишечника, уменьшилась с 10% в 2 раза.

Особенности режима питания

Организация режима питания – одно из основных требований оптимального питания. Усвояемость пищевых веществ в желудочно-кишечном тракте и использование их организмом во многом определяется наличием аппетита. Формирование аппетита в свою очередь зависит от количества приемов пищи и интервалов между ними. Дети дошкольного и школьного возраста должны получать 4-кратное горячее питание с соблюдением 4-часовых промежутков между отдельными приемами пищи.

Установлено, что режим питания малышей в выходные дни характеризуется смещением времени приемов пищи на более позднее (на 1–3 ч) по отношению к режиму в ДОО, что не соответствует сформированному будним днем пищевому рефлексу и способно привести к нарушению пищеварения и снижению усвоения и без того недостаточного количества отдельных пищевых веществ. Анализ кратности приемов пищи показал, что 56% детей питаются 3 раза в день (не включая перекусы), 39% питаются 2 раза в день и 5% детей только 1 раз получают горячее блюдо. Интервалы между при-

емами пищи от 4 до 6,5 ч, что не физиологично для детей. Подобные нарушения были выявлены и в других регионах [2, 7].

Среди школьников 55% учащихся 2-х классов питаются 4 раза в день, при этом завтракают дети чаще всего в 7:00 и 9:00, обедают – в 13:00 и ужинают – в 19:00, т.е. интервалы между приемами пищи составляют от 2 до 6 ч. Доля учащихся старших классов с 4-разовым питанием уменьшается более чем в 2,5 раза (22% девятиклассников). Вместе с тем увеличивается число детей с 3- и 2-кратным питанием соответственно в 2,5 и 5 раз, что подтверждается результатами других авторов [3]. При этом из рациона выпадает завтрак либо обед, а интервалы составляют от 3 до 8 ч, что также неблагоприятно для подростков.

Оценка распределения калорийности по отдельным приемам пищи как одного из показателей режима питания позволила выявить, что в рационах дошкольной возрастной группы завтрак, обед и ужин вносят равный вклад в суточную калорийность (23–25%) (табл. 3). Тогда как у школьников, несмотря на отсутствие значимых различий в абсолютных величинах калорийности завтрака, доля последних в общем рационе снижена (до 13–17 вместо 20–25%). Справедливо отметить, что в этом возрасте присутствует 2-й завтрак, который позволяет достичь требуемых значений; и более 30% калорийности рациона реализуется за счет обеда, что оптимально. В старших классах не отказываются от позднего плотного ужина, который может составлять 15% от общей суточной калорийности, что в 3 раза больше таковой у детей дошкольного возраста.

Из вышеизложенного следует, что фактический режим питания детей и подростков в домашних условиях не отвечает физиологическим требованиям. Выявлено, что больше половины детей имеют 3-кратное

питание, интервалы между приемами пищи достигают 8 ч и распределение калорийности по приемам пищи нерационально, особенно у детей старшего школьного возраста, по причине увеличения калорийности во вторую половину дня.

Заключение

Анализ фактического питания детей дошкольного и школьного возраста не теряет своей актуальности, поскольку отражает влияние социально-экономической ситуации в стране и регионах в частности. Помимо этого, характер питания и пищевые предпочтения зависят от социальной среды, в которой находится ребенок, что необходимо учитывать при разработке действенных мер, направленных на оптимизацию питания.

Результаты настоящей работы свидетельствуют о том, что в условиях городской семьи рационы детей и подростков не являются оптимальными. Несмотря на увеличение с возрастом абсолютных значений энергетической ценности и содержания пищевых веществ, выявлен недостаток витаминов В₁, В₂, С, А и кальция, в дошкольном возрасте также витамина Е, белка и общей энергии пищи. Во всех возрастных группах наблюдается дисбаланс макронутриентов: при достаточной квоте белка отмечен избыток потребления общих жиров, недостаток растительных жиров и животных белков, что

отчасти отражает признаки так называемого богатого питания, характерного для современного детского населения России.

Вместе с тем основной вклад в суточную калорийность рационов вносят недорогие продукты пониженной пищевой плотности – кондитерские изделия, сахар и жиры (37–44% энергии). По-видимому, это является нарастающей с середины 1990-х гг. проблемой. Продукты массового потребления, хлеб, крупы и мука обеспечивают 21–25% энергии; молоко и молочные продукты – 15% в младшем возрасте и вдвое меньше у старшекласников; мясо, птица и рыба, наоборот, у школьников – 15–17% и меньше в дошкольной возрастной группе; доля овощей и фруктов минимальна в каждой из возрастных групп (3–6%).

Помимо прочего, нарушен режим питания, в формировании которого также важна роль взрослых, а значит, одним из основных инструментов в привитии стереотипов пищевого поведения по-прежнему остается системное проведение образовательных программ как среди детей, так и их родителей и педагогов.

Благодарность. Авторы выражают признательность и благодарность коллеге, доценту Н.Н. Сайкиной за помощь при подготовке материалов публикации.

Конфликт интересов. Авторы статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

Сведения об авторах

Лир Дарья Николаевна (Lir Darya N.) – кандидат медицинских наук, доцент кафедры гигиены питания и гигиены детей и подростков ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет им. акад. Е.А. Вагнера» Минздрава России (Пермь, Россия)

E-mail: darya.lir@mail.ru

<https://orcid.org/0000-0002-7738-6832>

Перевалов Александр Яковлевич (Perevalov Aleksandr Ya.) – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой гигиены питания и гигиены детей и подростков «Пермский государственный медицинский университет им. акад. Е.А. Вагнера» Минздрава России (Пермь, Россия)

E-mail: urcn@mail.ru

<https://orcid.org/0000-0002-8073-7517>

Литература

1. Воронцов И.М. Здоровье и нездоровье ребенка как основа профессионального мировоззрения и повседневной практики детского врача // Рос. педиатр. журн. 1999. № 2. С. 6–13.
2. Важенина А.А., Петров В.А., Иванова И.Л. Особенности домашних рационов выходного дня у дошкольников – воспитанников дошкольных образовательных организаций // Тихоокеанский мед. журн. 2016. Т. 61, № 3. С. 45–48.
3. Есауленко И.Э., Настаушева Т.Л., Жданова О.А., Минакова О.В. Характеристика физического развития и режима питания школьников Воронежа // Вопр. питания. 2017. Т. 86, № 4. С. 85–92.
4. Козубенко О.В., Вильмс Е.А., Глаголева О.Н., Боярская Л.А. Фактическое питание и риски нарушения пищевого статуса у подростков на территории Омской области // Вопр. питания. 2015. Т. 84, № 5. С. 43.
5. Мартинчик А.Н., Батуринов А.К., Кешабянц Э.Э., Фатьянова Л.Н., Семенова Я.А., Базарова Л.Б. 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.
6. Нагирная Л.Н., Ковальчук В.К., Саенко А.Г., Лучанинова В.Н., Яцкова В.А. Гигиеническая оценка фактического питания детей в Приморском крае // Здоровье населения и среда обитания. 2014. Т. 167, № 2. С. 35–37.
7. Тапешкина Н.В. Особенности структуры питания дошкольников в выходные дни (краткое сообщение) // Вопр. питания. 2014. Т. 83, № 2. С. 64–67.
8. Тапешкина Н.В. Гигиеническая оценка питания младших школьников // Вопр. питания. 2014. Т. 83, № 3. С. 88.
9. Лир Д.Н., Новоселов В.Г., Мишукова Т.А. Питание детей дошкольного возраста с ожирением: ретроспективное одномоментное исследование // Вопр. соврем. педиатрии. 2018. Т. 17, № 3. С. 229–235. doi: 10.15690/vsp.v17i3.1892
10. Тутельян В.А., Батуринов А.К., Конь И.Я. Распространенность ожирения и избыточной массы тела среди детского населения РФ: мультицентровое исследование // Педиатрия. 2014. Т. 93, № 5. С. 28–31.
11. Перевалов А.Я., Лир Д.Н. Влияние питания на компонентный состав тела детей дошкольного возраста города

- Перми // Здоровье семьи – 21 век (электронное периодическое издание). 2015. № 1. С. 116–125.
12. Ладодо К.С., Боровик Т.Э., Семенова Н.Н. Формирование правильного пищевого поведения // Леч. врач. 2009. № 1. [Электронный ресурс] URL: <http://www.lvrach.ru/2009/01/5898060/>
 13. Украинцев С.Е. Некоторые аспекты питания детей дошкольного возраста: формирование пищевых привычек и их влияние на состояние здоровья // Педиатрия. 2009. Т. 88, № 6. С. 92–95.
 14. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. М.: Медиа Сфера, 2006. 312 с.
 15. Методические рекомендации по оценке количества потребляемой пищи методом 24-часового (суточного) воспроизведения питания. Утв. зам. главного государственного санитарного врача РФ, № С1-19/14-17 от 26 февраля 1996 г.
 16. Мартинчик А.Н., Батуринов А.К., Баева В.С. Альбом порций продуктов и блюд. М.: Институт питания, 1995. 64 с.
 17. Методические рекомендации 2.3.1.2432-08 «Нормы физиологических потребностей в энергии и пищевых веществах для различных групп населения РФ».
 18. Лир Д.Н. Состояние фактического питания детей дошкольного возраста г. Перми // Здоровье семьи – 21 век (электронное периодическое издание). 2014. № 4. С. 105–118.
 19. Первалов А.Я., Лир Д.Н. Потребление пищевых веществ и энергии детьми в дошкольных организованных коллективах Перми // Вопр. питания. 2014. Т. 83 (Приложение). С. 83–84.
 20. Первалов А.Я., Канина А.О., Тукачева О.В., Часовников С.П., Лир Д.Н. Режим питания и пищевые предпочтения школьников Перми // Вопр. питания. 2014. Т. 83, (Приложение). С. 84.
 21. Мартинчик А.Н., Батуринов А.К., Баева В.С., Пескова Е.В., Зохири Н. Особенности фактического питания детей и подростков России в середине 90-х годов // Рос. педиатр. журн. 1998. № 6. С. 8–13.
 22. Мартинчик А.Н., Кешабянц Э.Э., Камбаров А.О., Пескова Е.В., Брянцева С.А., Базарова Л.Б. и др. Кальций в рационе детей дошкольного и школьного возраста: основные пищевые источники и факторы, влияющие на потребление // Вопр. питания. 2018. Т. 87, № 2. С. 24–33. doi:10.24411/0042-8833-2018-10015
 23. Ханферьян Р.А., Раджабканиев Р.М., Евстратова В.С., Галстян А.Г., Хуршудян С.А., Семин В.Б. и др. Потребление углеводосодержащих напитков и их вклад в общую калорийность рациона // Вопр. питания. 2018. Т. 87, № 2. С. 39–43. doi: 10.24411/0042-8833-2018-10017
 24. Конь И.Я., Волкова Л.Ю., Санникова Н.Е. и др. Связь между избыточной массой тела и фактическим потреблением кондитерских изделий, продуктов быстрого приготовления (fast food) и сладких безалкогольных газированных напитков (мультицентровое исследование российских школьников) // Вопр. питания. 2010. Т. 79, № 1. С. 1–4.

References

1. Voroncov I.M. Health and child's illness as basis of professional outlook and daily practice of the children's doctor. *Rossiyskiy pediatricheskiy zhurnal [Russian Journal of Pediatrics]*. 1999; (2): 6–13. (in Russian)
2. Vazhenina A.A., Petrov V.A., Ivanova I.L. Home diet during weekends of preschool children *Tikhookeanskiy meditsinskiy zhurnal [Pacific Medical Journal]*. 2016; 61 (3): 45–8. (in Russian)
3. Esaulenko I.E., Nastaushcheva T.L., Zhdanova O.A., Minakova O.V. Characteristics of Voronezh. *Voprosy pitaniia. [Problems of Nutrition]*. 2017; 86(4): 85–92. (in Russian)
4. Kozubenko O.V., Vil'ms E.A., Glagoleva O.N., Boiarskaia L.A. The actual food and risks of violation of the food status at teenagers in the territory of the Omsk region. *Voprosy pitaniia. [Problems of Nutrition]*. 2015; 84 (S5): 43. (in Russian)
5. Martinchik A.N., Baturin A.K., Keshabyants E.E., Fat'ianova 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)
6. Nagirnaia L.N., Koval'chuk V.K., Saenko A.G., Luchaninova V.N., Iatskova V.A. Hygienic assessment of the actual food of children in Primorsky Krai. *Zdorov'e naseleniya i sreda obitaniya [Public Health and Life Environment]*. 2014; 167 (2): 35–7. (in Russian)
7. Tapeshekina N.V. The structure of the nourishment of preschoolers during the weekend (short report). *Voprosy pitaniia. [Problems of Nutrition]*. 2014; 83 (2): 64–7. (in Russian)
8. Tapeshekina N.V. Hygienic assessment of food of younger school students. *Voprosy pitaniia. [Problems of Nutrition]*. 2014; 83 (S3): 88. (in Russian)
9. Lir D.N., Novoselov V.G., Mishukova T.A. Nutrition of pre-school children with obesity: a retrospective cross-sectional study. *Voprosy sovremennoy pediatrii [Problems of Modern Pediatrics]*. 2018; 17 (3): 229–35. doi: 10.15690/vsp.v17i3.1892 (in Russian)
10. Tutel'ian V.A., Baturin A.K., Kon' I.Ia. Prevalence of an obesity and excess body weight among the children's population of the Russian Federation: multicenter research. *Pediatriya [Pediatrics]*. 2014; 93 (5): 28–31. (in Russian)
11. Perevalov A.Ya., Lir D.N. Influence of nutrition on the component body composition of preschool children of perm. *Zdorov'e sem'i – 21 vek (elektronnoe periodicheskoe izdanie). [Family Health – the 21 Century]*. 2015; (1): 116–25. <http://fh-21.perm.ru/download/11-1-2015.pdf> (in Russian)
12. Ladodo K.S., Borovik T.E., Semenova N.N. Formation of the correct food behavior. *Lechashchiy vrach [Attending Physician]*. 2009; (1). <http://www.lvrach.ru/2009/01/5898060/> (in Russian)
13. Ukraintsev S.E. Some aspects of food of children of preschool age: formation of eating habits and their influence on the state of health. *Pediatriya [Pediatrics]*. 2009; 88 (6): 92–5. (in Russian)
14. Rebrova O.Yu. Statistical analysis of medical data. Moscow: Media Sfera, 2006: 312 p. (in Russian)
15. Methodical recommendations for estimating the amount of consumed food by the 24-hour recall. Approved. Deputy. Chief State Sanitary Doctor of the Russian Federation, No. C1-19/14-17 dated February 26, 1996. (in Russian)
16. Martinchik A.N., Baturin A.K., Baeva V.S. Album of portion sizes of food and dishes. Moscow: Institut Pitania RAMN, 1995: 64 p. (in Russian)
17. Norms of physiological needs in energy and nutrients for different groups of the population of the Russian Federation. Methodical recommendations MR 2.3.1.2432-08. (in Russian)
18. Lir D.N. Condition of the actual food of children of preschool age of Perm. *Zdorov'e sem'i – 21 vek (elektronnoe periodicheskoe izdanie) [Family Health – the 21 Century]*. 2014; (4). <http://www.fh-21.perm.ru/download/10-4-2014.pdf> (in Russian)
19. Perevalov A.Ya., Lir D.N. Consumption of feedstuffs and energy children in preschool organized collectives of Perm. *Voprosy pitaniia. [Problems of Nutrition]*. 2014; 83 (Suppl): 83–4. (in Russian)
20. Perevalov A.Ya., Kanina A.O., Tukacheva O.V., Chasovnikov S.P., Lir D.N. Diet and food preferences of school students of Perm. *Voprosy pitaniia. [Problems of Nutrition]*. 2014; 83 (Suppl): 84. (in Russian)
21. Martinchik A.N., Baturin A.K., Baeva V.S., Peskova E.V., et al. Features of the actual nutrition of children and adolescents in Russia in the mid-90s. *Rossiyskiy pediatricheskiy zhurnal [Russian Journal of Pediatrics]*. 1998; (6): 8–13. (in Russian)
22. Martinchik A.N., Keshabyants E.E., Kambarov A.O., Peskova E.V., et al. Dietary intake of calcium in pre-school and school children in Russia: main food sources and eating occasions. *Voprosy pitaniia. [Problems of Nutrition]*. 2018; 87 (2): 24–33. doi: 10.24411/0042-8833-2018-10015 (in Russian)
23. Khanferyan R.A., Radzhabkadev R.M., Evstratova V.S., Galstyan A.G., et al. Consumption of carbohydrate-containing beverages and their contribution to the total calorie content of the diet. *Voprosy pitaniia. [Problems of Nutrition]*. 2018; 87 (2): 39–43. doi: 10.24411/0042-8833-2018-10017 (in Russian)
24. Kon' I.Ya., Volkova L.Yu., Sannikova N.E., et al. Communication between the excess body weight and the actual consumption of confectionery, instant products (fast food) and sweet soft carbonated drinks (a multicenter research of the Russian school students). *Voprosy pitaniia. [Problems of Nutrition]*. 2010; 79 (1): 1–4. (in Russian)

Для корреспонденции

Ревакина Вера Афанасьевна – доктор медицинских наук, профессор, заведующая отделением аллергологии ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии»
 Адрес: 115446, Россия, г. Москва, Каширское шоссе, д. 21
 Телефон: (499) 794-36-21
 E-mail: 5356797@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-1149-7927>

Ревакина В.А., Короткова Т.Н., Кувшинова Е.Д., Ларькова И.А., Александрова Н.М.

Обеспеченность магнием и витамином В₂ детей с бронхиальной астмой и ожирением

Magnesium and vitamin B₂ status of children with bronchial asthma and obesity

Revyakina V.A., Korotkova T.N., Kuvshinova E.D., Larkova I.A., Alexandrova N.M.

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

Недостаточность или дефицит некоторых микронутриентов может быть дополнительным модифицирующим фактором, влияющим на патогенез заболевания и эффективность стандартной фармакотерапии.

Цель исследования – оценка содержания магния и витамина В₂ в сыворотке крови больных бронхиальной астмой и ожирением для разработки способов индивидуальной коррекции недостаточности.

Материал и методы. В исследование включен 51 ребенок в возрасте 12–17 лет. В 1-ю группу вошли 23 пациента (12 девочек и 11 мальчиков) с бронхиальной астмой с сопутствующей патологией (ожирением), а 2-ю группу составили 28 детей (10 девочек и 18 мальчиков) с ожирением. Концентрацию магния в сыворотке крови определяли колориметрическим методом без депротенинизации, уровень витамина В₂ – иммунологически микробиологическим методом.

Результаты и обсуждение. У 15 (65,2%) детей с бронхиальной астмой и ожирением уровень магния в сыворотке крови был снижен: средняя концентрация составляла 0,66±0,02 ммоль/л при норме 0,7–1,2 ммоль/л. Отмечено статистически значимое уменьшение концентрации магния у детей, страдающих бронхиальной астмой и ожирением, по сравнению с уровнем у детей с ожирением (0,66 [0,57; 0,73] против 0,71 [0,67; 0,73] ммоль/л, p<0,05). Низкие уровни магния в сыворотке крови у больных ожирением выявлялись статистически значимо (p<0,05) реже – только у 6 (21,4%) детей, в основном у пациентов с ожирением III степени. У остальных 22 (78,6%) детей содержание магния было в пределах нормы. У пациентов с низкими значениями магния в сыворотке крови отмечались повышенная раздражительность, нарушение сна, снижение памяти и концентрации внимания. Уровень витамина В₂ у всех обследованных детей находился в пределах нормы (137–370 нг/мл).

Заключение. Полученные результаты свидетельствуют о снижении концентрации магния и о нормальных значениях витамина В₂ в сыворотке крови у больных бронхиальной астмой и ожирением. Низкие уровни магния в сыворотке крови отмечены у больных с низким контролем бронхиальной астмы. Для повышения эффективности терапии и контроля за симптомами бронхиальной

Для цитирования: Ревакина В.А., Короткова Т.Н., Кувшинова Е.Д., Ларькова И.А., Александрова Н.М. Обеспеченность магнием и витамином В₂ детей с бронхиальной астмой и ожирением // *Вопр. питания*. 2019. Т. 88, № 3. С. 78–83. doi: 10.24411/0042-8833-2019-10032.

Статья поступила в редакцию 11.03.2019. **Принята в печать** 20.05.2019.

For citation: Revyakina V.A., Korotkova T.N., Kuvshinova E.D., Larkova I.A., Alexandrova N.M. Magnesium and vitamin B₂ status of children with bronchial asthma and obesity. *Voprosy pitaniia* [Problems of Nutrition]. 2019; 88 (3): 78–83. doi: 10.24411/0042-8833-2019-10032. (in Russian)

Received 11.03.2019. **Accepted** 20.05.2019.

астмы, особенно при сочетании с ожирением, необходима коррекция сопутствующего дефицита магния.

Ключевые слова: магний, витамин B₂, дети, сыворотка крови, бронхиальная астма, ожирение

Insufficiency or deficiency of some micronutrients may be additional modifying factors that influence the pathogenesis of the disease and the effectiveness of standard pharmacotherapy.

The aim of the study – to evaluate the level of magnesium and vitamin B₂ in blood serum of patients with bronchial asthma and obesity in order to develop methods for individual correction of deficiency.

Material and methods. The study included 51 children aged 12–17 years. The first group included 23 patients (12 girls and 11 boys) with asthma with comorbidities (obesity), and the second group consisted of 28 children (10 girls and 18 boys) with obesity. The concentration of magnesium in blood serum was determined by a colorimetric method without deproteinization, and vitamin B₂ – by an immunological microbiological method.

Results and discussion. When analyzing the concentration of magnesium in blood serum of the examined children, it was found that in patients with bronchial asthma and obesity, a reduced content of this mineral was observed in 15 (65.2%) patients. The average magnesium concentration was 0.66 ± 0.02 mmol/l at a rate of 0.7–1.2 mmol/l. A statistically significant decrease in the magnesium level in children suffering from asthma and obesity was noted, compared with the level in children with obesity (0.66 [0.57; 0.73] vs 0.71 [0.67; 0.73] mmol/l, $p < 0.05$). Low serum magnesium levels in obese patients were detected more rarely ($p < 0.05$) – only in 6 (21.4%) children, mostly in patients with grade III obesity. The remaining 22 (78.6%) children had magnesium level within the normal range. Patients with low serum magnesium levels showed increased irritability, sleep disturbance, loss of memory and concentration. Vitamin B₂ levels in all examined children were within the normal range (137–370 ng/ml).

Conclusion. The results indicate a decrease in the concentration of magnesium and normal levels of vitamin B₂ in serum in patients with bronchial asthma and obesity. Low serum magnesium levels were observed in children with low bronchial asthma control. To increase the effectiveness of therapy and control the symptoms of bronchial asthma, especially when combined with obesity, correction of the accompanying magnesium deficiency is necessary.

Keywords: magnesium, vitamin B₂, children, blood serum, bronchial asthma, obesity

С изменением характера и структуры питания, повышением умственных, физических, эмоциональных и стрессовых нагрузок на организм тесно связано ухудшение здоровья взрослого и детского населения, а также формирование различных заболеваний [1–4]. В полной мере это относится к двум на сегодняшний день актуальным проблемам детского населения – бронхиальной астме и ожирению, распространенность которых стремительно растет во всем мире. Длительные элиминационные диеты (при аллергии) и однообразные рационы питания (при ожирении); употребление термически обработанной пищи и продуктов позднего гликирования; использование большого количества продуктов, изготовленных с помощью высоких технологий; рафинированных продуктов и продуктов длительного хранения; овощей и фруктов, выращенных в парниковых условиях, и др. может привести к недостаточной обеспеченности организма микронутриентами. Недостаточность или дефицит некоторых микронутриентов может быть дополнительным модифицирующим фактором, влияющим как на патогенез заболевания, так и на эффективность стандартной фармакотерапии. Например, дефицит магния может стать одним из таких сопутствующих факторов. По данным некоторых

исследований, дефицит магния у детей с бронхиальной астмой напрямую связан с тяжестью заболевания, высокой частотой обострений и госпитализаций [5–9]. Известно, что магний вызывает релаксацию гладкомышечных клеток бронхов в результате торможения поглощения ими ионов кальция [10, 11]. Однако терапевтические эффекты препаратов магния у пациентов с бронхиальной астмой обусловлены не только их бронходилататическим действием, но и способностью снижать образование и выброс гистамина тучными клетками и выделение ацетилхолина нервными окончаниями и оказывать седативное действие [12, 13].

Эффективность дополнительного назначения магния при обострениях бронхиальной астмы продемонстрирована в ряде работ [14–17]. Однако исследований по оценке содержания магния в крови детей вне обострения бронхиальной астмы практически не проводилось. Отсутствуют исследования, посвященные изучению обеспеченности магнием у детей с бронхиальной астмой в сочетании с ожирением. Проведение таких исследований позволит расширить возможности персонализированной фармакотерапии бронхиальной астмы и ожирения у детей с сопутствующим дефицитом или недостаточностью магния.

Таблица 1. Распределение больных по возрасту и полу

Группа	<i>n</i>	Дети 12–14 лет, абс. (%)	Дети 15–17 лет, абс. (%)	Девочки, абс. (%)	Мальчики, абс. (%)
1-я (бронхиальная астма + ожирение)	23	8 (34,8)	15 (65,2)	12 (52,2)	11 (47,8)
2-я (ожирение)	28	19 (67,9)*	9 (32,1)*	10 (35,7)	18 (64,3)
Всего	51	27	24	25	26

Примечание.* – статистически значимое отличие ($p < 0,05$) от доли детей с бронхиальной астмой согласно критерию Фишера.

Важную роль в патогенезе бронхиальной астмы, согласно данным литературы, играет дисбаланс в оксидантно-антиоксидантной системе [18–20]. Нарушения, вызванные дисбалансом в этой системе, проявляются у больных бронхиальной гиперреактивностью, снижением объема легких, бронхо- и вазоконстрикцией. Все это способствует недостаточной эффективности проводимой терапии [21]. В этой связи возникает вопрос о целесообразности назначения в качестве антиоксиданта витамина В₂ (рибофлавина), который предотвращает повреждение клеток свободными радикалами, способствует нормальному белково-жировому обмену, усилению регенерации клеток и тканей [22]. Вследствие этого исследование обеспеченности витамином В₂ детей с бронхиальной астмой и ожирением является актуальным для решения вопроса о необходимости его назначения этой категории больных детей. В литературе имеются лишь данные о содержании этого витамина в крови пациентов с ожирением и сопутствующими сердечно-сосудистыми заболеваниями, сахарным диабетом [23–25].

Следует отметить, что адекватное обеспечение организма детей витаминами и минеральными веществами является важным фактором формирования устойчивости к воздействиям внешней и внутренней среды, а также одним из способов профилактики и комплексного лечения различных заболеваний, в том числе бронхиальной астмы и ожирения.

Цель данного исследования – оценка содержания магния и витамина В₂ в сыворотке крови у детей с бронхиальной астмой и ожирением для последующей разработки способов индивидуальной коррекции.

Материал и методы

В исследование был включен 51 ребенок в возрасте 12–17 лет. В 1-ю группу вошли 23 пациента (12 девочек и 11 мальчиков) с бронхиальной астмой с сопутствующей патологией (ожирением), во 2-ю группу – 28 детей (10 девочек и 18 мальчиков) с ожирением. В качестве диагностического критерия избыточной массы тела и ожирения у детей рекомендовано определение величины стандартных отклонений (*SDS*) индекса массы тела (*ИМТ*). Согласно федеральным клиническим рекомендациям, с учетом рекомендаций Всемирной организации здравоохранения, ожирение у детей и подростков от 0 до 19 лет следует определять как $ИМТ \geq +2,0$ *SDS* *ИМТ*, а избыточную массу тела от $+1,0$ до $+2,0$ *SDS* *ИМТ*. Нормальная масса тела диагностируется при *ИМТ* в пределах $\pm 1,0$ *SDS* *ИМТ* [<http://who.int/childgrowth/software/en/>].

Детям измеряли антропометрические параметры (массу тела, длину тела стоя, обхват живота и бедер; определяли *ИМТ* по стандартной формуле, вычисляли *Z-score* *ИМТ*).

Диагноз бронхиальной астмы соответствовал всем критериям данного заболевания [26], и на момент обследования дети находились в состоянии вне обострения (подавляющее большинство – больше 6 мес). Поскольку у них не было явлений пищевой аллергии, ограничения в питании (гипоаллергенная диета) не соблюдались.

Концентрацию магния в сыворотке крови определяли колориметрическим методом без депротеинизации с использованием наборов «Магний-Витал» (Vital, РФ). Концентрацию витамина В₂ в сыворотке крови определяли иммуноферментным микробиологическим методом с использованием коммерческих наборов «ID-Vit vitamin В₂ in serum» (Immundiagnostik AG, Германия).

Статистическую обработку данных проводили с помощью программы Microsoft Excel 6.0 (StatSoft Inc., США). Рассчитывали среднюю величину (*M*), среднеквадратичное отклонение (*σ*), ошибку стандартного отклонения (*m*), медиану и интерквартильный размах *Me* [*Q1*; *Q2*]. Достоверными считали различия при уровне значимости $p < 0,05$. Для статистической обработки использовали *t*-критерий Стьюдента, для оценки достоверности различий долей – критерий Фишера.

Результаты и обсуждение

Под наблюдением находился 51 больной в возрасте 12–17 лет с бронхиальной астмой и/или ожирением (табл. 1).

Таблица 2. Распределение наблюдаемых больных по степени ожирения или наличию избыточной массы тела

Группа	<i>n</i>	Избыточная масса тела, абс. (%)	Ожирение I степени, абс. (%)	Ожирение II степени, абс. (%)	Ожирение III степени, абс. (%)
1-я (бронхиальная астма + ожирение)	23	7 (30,4)	6 (26,1)	8 (34,8)	2 (8,7)
2-я (ожирение)	28	11 (39,3)	7 (25,0)	5 (17,9)	5 (17,9)
Всего	51	18 (35,3)	13 (25,5)	13 (25,5)	7 (13,7)

Таблица 3. Концентрация магния и витамина В₂ (рибофлавина) в сыворотке крови у наблюдаемых детей (Ме [Q1; Q2])

Показатель	Нормальные значения	1-я группа (бронхиальная астма + ожирение, n=23)	2-я группа (ожирение, n=28)
Магний, ммоль/л	0,7–1,2	0,66 [0,57; 0,73]	0,71 [0,67; 0,73]*
Витамин В ₂ , нг/мл	137–370	244 [209; 285]	276 [215; 300]

Примечание. * – статистически значимое отличие ($p < 0,05$) от показателя детей с бронхиальной астмой.

В группе детей с бронхиальной астмой и ожирением преобладали больные в возрасте от 15 до 17 лет, а в группе детей с ожирением – больные 12–14 лет. Среди страдающих бронхиальной астмой среднетяжелое течение наблюдалось у 13 (56,5%), тяжелое – у 10 (43,5%) детей. Тяжесть бронхиальной астмы соответствовала критериям степени тяжести заболевания вне обострения в соответствии с Национальной программой [26].

Распределение детей по степени ожирения или наличию избыточной массы тела представлено в табл. 2. Статистически значимых различий по частоте выявления разной степени ожирения у детей из обеих групп не выявлялось. Избыточная масса тела выявлена примерно у 1/3 детей, ожирение I степени – у каждого 4-го обследованного из обеих групп.

Оценка концентрации магния в сыворотке крови у обследованных детей показала его снижение относительно нижней границы нормы у 15 (65,2%) детей в 1-й группе (с бронхиальной астмой и ожирением). Средняя концентрация магния в сыворотке крови у этих детей составляла $0,59 \pm 0,07$ ммоль/л. Отмечено статистически значимое уменьшение концентрации магния у больных из этой группы по сравнению с показателями детей без бронхиальной астмы (табл. 3).

Сниженная концентрация магния в сыворотке крови во 2-й группе выявлялась статистически значимо реже – у 6 (21,4%) детей ($p < 0,01$), в основном у пациентов с ожирением III степени. Средняя концентрация магния у них составляла $0,48 \pm 0,04$ ммоль/л. У остальных 22 (78,6%) детей содержание магния было в пределах нормы.

Концентрация витамина В₂ (рибофлавина) в сыворотке крови детей 1-й и 2-й групп соответствовала нормативным параметрам (см. табл. 3).

Заключение

Проведенное исследование показало, что у 65,2% больных бронхиальной астмой в сочетании с ожирением

наблюдалось снижение концентрации магния в сыворотке крови по сравнению с нормой. Наиболее низкие значения магния в сыворотке крови отмечались у детей с тяжелым течением бронхиальной астмы. Установлена отрицательная корреляционная связь между концентрацией этого макроэлемента и тяжестью бронхиальной астмы ($r = -0,58$, $p = 0,03$), что согласуется с данными литературы [7]. Тяжелое течение бронхиальной астмы из-за частых обострений болезни является дополнительным фактором снижения концентрации данного макроэлемента у больных. У пациентов с низкими значениями магния в сыворотке крови отмечались такие симптомы, как повышенная раздражительность, нарушения сна, снижение памяти и концентрации внимания.

Во 2-й группе больных ожирением снижение концентрации магния в сыворотке крови отмечено статистически значимо реже – лишь в 21,4% случаев ($p < 0,01$).

Содержание витамина В₂ в сыворотке крови у детей 1-й и 2-й групп было в пределах нормы.

Полученные результаты продемонстрировали снижение концентрации магния в сыворотке крови у ряда детей с бронхиальной астмой и сопутствующим ожирением. Для коррекции недостаточности магния у этих больных рекомендуется обогащение рациона питания продуктами, богатыми магнием. При выраженном дефиците этого макроэлемента необходимо назначать препараты, содержащие магний, с соблюдением условий совместимости магния с другими микроэлементами и витаминами (особенно группы В). Результаты работы указывают на необходимость определения концентрации магния в сыворотке крови и оценки рационов питания у больных бронхиальной астмой в сочетании с ожирением. Для обоснования оптимальных доз препаратов магния и других витаминов для больных бронхиальной астмой с сочетанной патологией требуются дальнейшие научные исследования.

Конфликт интересов. Авторы статьи подтверждают отсутствие конфликта интересов.

Сведения об авторах

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

Ревякина Вера Афанасьевна (Revyakina Vera A.) – доктор медицинских наук, профессор, заведующая отделением аллергологии

E-mail: 5356797@mail.ru

<https://orcid.org/0000-0002-1149-7927>

Короткова Татьяна Николаевна (Korotkova Tatyana N.) – кандидат медицинских наук, заведующая лабораторией клинической биохимии, иммунологии и аллергологии

E-mail: tntisha@gmail.com

<https://orcid.org/0000-0002-3684-9992>

Кувшинова Елена Дмитриевна (*Kuvshinova Elena D.*) – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отделения аллергологии

E-mail: allegro.ion@gmail.com

<https://orcid.org/0000-0003-3650-6305>

Ларькова Инна Анатольевна (*Larkova Inna A.*) – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отделения аллергологии

E-mail: allegro.ion@gmail.com

<https://orcid.org/0000-0001-7640-0754>

Александрова Наталья Михайловна (*Alexandrova Natalya M.*) – научный сотрудник лаборатории клинической биохимии, иммунологии и аллергологии

E-mail: allegro.ion@gmail.com

<https://orcid.org/0000-0002-7102-6510>

Литература

1. Тутельян В.А., Спиричев В.Б., Суханов Б.П., Кудашева В.А. «Микронутриенты в питании здорового и больного человека. М.: Колос, 2002.
2. Коденцова В.М., Вржесинская О.А., Рисник Д.В., Никитюк Д.Б., Тутельян В.А. Обеспеченность населения России микронутриентами и возможности ее коррекции. Состояние проблемы // *Вопр. питания.* 2017. Т. 86, № 4. С. 113–124. doi: 10.24411/0042-8833-2017-00067
3. Мартинчик А.Н., Батуринов А.К., Кешабянц Э.Э., Фатьянова Л.Н., Семенова Я.А., Базарова Л.Б. 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. doi: 10.24411/0042-8833-2017-00059
4. Растительные источники фитонутриентов для специализированных пищевых продуктов антидиабетического действия / под ред. В.А. Тутельяна, Т.А. Киселевой, А.А. Кочетковой. М.: Библио-Глобус, 2016. 422 с.
5. Шишиморов И.Н., Перминов А.А., Нефедов И.В. Оценка эффективности фармакотерапии бронхиальной астмой // *Саратовский науч.-мед. журн.* 2014. Т. 10, № 1. С. 211–214.
6. Gilardi E., Marsiliani D., Nicolò R., Petrucci M., Torelli E., Racco S., et al. Magnesium sulphate in the Emergency Department: an old, new friend // *Rev. Med. Pharmacol. Sci.* 2019. Vol. 23, N 9. P. 4052–4063. doi: 10.26355/eurev_201905_17836
7. Prawin K., Jagdish P.G. Serum magnesium levels and its correlation with level of control in patients with asthma: a hospital-based, cross-sectional, prospective study // *Lung India.* 2019. Vol. 36, N 1. P. 89–90. doi: 10.4103/lungindia.lungindia_418_18
8. Miraglia Del Giudice M., Indolfi C., Ciprandi G., Decimo F., Campana G., Umamo G.R., et al. Magnesium alginate in children with uncontrolled asthma // *J. Biol. Regul. Homeost. Agents.* 2019. Vol. 33, N 2. P. 593–599.
9. Abuabat F., Al Alwan A., Masuadi E., Murad M.H., Jahdali H.A., Ferwana M.S. The role of oral magnesium supplements for the management of stable bronchial asthma: a systematic review and meta-analysis // *NPJ Prim. Care Respir. Med.* 2019. Vol. 29, N 1. P. 4. doi: 10.1038/s41533-019-0116-z.
10. Stojak B.J., Halajian E., Guthmann R.A., Nashelsky J. Intravenous magnesium sulfate for acute asthma exacerbations // *Am. Fam. Physician.* 2019. Vol. 99, N 2. P. 127–128.
11. Ianello S., Spina P., Leotta P. Hypomagnesemia and smooth muscle contractility: diffuse oesophageal spasm in an old female patient // *Miner. Electrol. Metab.* 1998. Vol. 24, N 5. P. 348–356.
12. Eriksson U. Human bronchial epithelium controls Th2 responses by Th1-induced, nitric oxide-mediated STAT5 dephosphorylation: implications for the pathogenesis of asthma // *J. Immunol.* 2005. Vol. 175. P. 2715–2720. doi: 10.4049/jimmunol.175.4.2715
13. Poleszak E. Immobility stress induces depression-like behavior in the forced swim test in mice: effect of magnesium and mipramine // *Pharm. Rep.* 2006. Vol. 58, N 5. P. 746–752.
14. Шишиморов И.Н., Магницкая О.В., Перминов А.А., Нефедов И.В. Распространенность и влияние дефицита магния на течение бронхиальной астмы у детей // *Вестн. Волгоградского гос. мед. ун-та.* 2015. № 2 (50). С. 124–128.
15. AlAlawi A.M., Majoni S.W., Falhammar H. Magnesium and human health: perspectives and research directions // *Int. J. Endocrinol.* 2018. Vol. 2018. Article ID 9041694. doi: 10.1155/2018/9041694
16. Becker S.M., Job K.M., Lima K., Forbes T.J., Wagstaff J., Tran N.K. et al. Prospective study of serum and ionized magnesium pharmacokinetics in the treatment of children with severe acute asthma // *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 2019. Vol. 75, N 1. P. 59–66. doi: 10.1007/s00228-018-2557-7
17. Powell C., Kolamunnage-Dona R., Lowe J., Boland A., Petrou S., Doull I. et al.; MAGNETIC Study Group. Magnesium sulphate in acute severe asthma in children (MAGNETIC): a randomised, placebo-controlled trial // *Lancet Respir. Med.* 2013. Vol. 1, N 4. P. 301–308. doi: 10.1016/S2213-2600(13)70037-7
18. Латышева А.Н., Смирнова С.В., Колпакова А.Ф. Бронхиальная астма и хроническая обструктивная болезнь легких: особенности системы оксидант-антиоксидант. Красноярск: Изд-во КраГМУ, 2011. 110 с.
19. Лазуткина Е.Л., Музыченко Л.М., Ландышев Ю.С., Цырендоржиев Д.Д., Лазаренко Л.Л. Особенности про- и антиоксидантного статуса сыворотки крови больных бронхиальной астмой при разных вариантах дыхания // *Бюл. физиологии и патологии дыхания.* 2014. № 51. С. 15–19.
20. Содаева С.К. Свободнорадикальные механизмы повреждения при болезнях органов дыхания // *Пульмонология.* 2012. № 1. С. 5–10.
21. Филатова Ю.И. Перспективы использования антиоксидантов в терапии бронхиальной астмы // *Молодой ученый.* 2014. № 1. С. 5–10.
22. Спиричев В.Б. Витамины, витаминподобные и минеральные вещества: справочник. Чехов: МЦФР, 2004. 240 с.
23. Кошелева О.В., Бекетова Н.А., Коденцова В.М., Переверзева О.Г., Сокольников А.А., Ворожков И.В. и др. Оценка витаминного статуса с артериальной гипертензией и ожирением // *Вопр. диетологии.* 2016. Т. 6, № 2. С. 22–29. doi: 10.20953/2224-5448-2016-2-22-29
24. Вржесинская О.А., Коденцова В.М., Оглобин Н.А., Бекетова Н.А., Переверзева О.Г. Оценка обеспеченности пациентов с ожирением и сердечно-сосудистыми заболеваниями витаминами С, В₂ и А: сопоставление данных о поступлении витаминов с пищей и с их уровнем в крови // *Вопр. питания.* 2008. Т. 77, № 4. С. 46–51.
25. Бекетова Н.А., Кошелева О.В., Вржесинская О.А., Коденцова В.М., Шарафетдинов Х.Х., Плотнокова О.А. и др. Обеспеченность витаминами пациентов с сахарным диабетом 2 типа и ожирением в осенний период // *Кардиоваскулярная тер. и профилактика.* 2019. Т. 18, № 1. С. 95–101. URL: <https://doi.org/10.15829/1728-8800-2019-1-95-101>
26. Национальная программа «Бронхиальная астма у детей. Стратегия лечения и профилактика. 5-е изд., перераб. и доп. М., 2017. 184 с.

References

- Tutelyan V.A., Spirichev V.B., Sukhanov B.P., Kudasheva V.A. Micronutrients in the nutrition of a healthy and sick persons. Moscow: Kolos, 2002. (in Russian)
- Kodentsova V.M., Vrzhesinskaya O.A., Risnik D.V., Nikityuk D.B., Tutelyan V.A. Micronutrient status of population of the Russian Federation and possibility of its correction. State of the problem. *Voprosy pitaniia* [Problems of Nutrition]. 2017; 86 (4): 113–24. doi: 10.24411/0042-88 (in Russian)
- Martinchik A.N., Baturin A.K., Keshabyants E.E. Fatyanova L.N., Semenova Y.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. doi: 10.24411/0042-8833-2017-00059 (in Russian)
- Plant sources of phytonutrients for specialized food products of anti-diabetic action. Edited by V.A. Tutelyan, T.A. Kiseleva, A.A. Kochetkova. Moscow: Biblio-Globus, 2016: 422 p. (in Russian)
- Shishimorov I.N., Perminov A.A., Nefedov I.V. Evaluation of the effectiveness of pharmacotherapy for bronchial asthma. *Saratovskiy nauchno-meditsinskiy zhurnal* [Saratov Journal of Medical Scientific Research]. 2014; 10 (1): 211–4. (in Russian)
- Gilardi E., Marsiliani D., Nicolò R., Petrucci M., Torelli E., Racco S., et al. Magnesium sulphate in the Emergency Department: an old, new friend. *Rev Med Pharmacol Sci.* 2019; 23 (9): 4052–63. doi: 10.26355/eurrev_201905_17836
- Prawin K., Jagdish P.G. Serum magnesium levels and its correlation with level of control in patients with asthma: a hospital-based, cross-sectional, prospective study. *Lung India.* 2019; 36 (1): 89–90. doi: 10.4103/lungindia.lungindia_418_18
- Miraglia Del Giudice M., Indolfi C., Ciprandi G., Decimo F., Campana G., Umano G.R., et al. Magnesium alginate in children with uncontrolled asthma. *J Biol Regul Homeost Agents.* 2019; 33 (2): 593–9.
- Abuabat F., Al Alwan A., Masuadi E., Murad M.H., Jahdali H.A., Ferwana M.S. The role of oral magnesium supplements for the management of stable bronchial asthma: a systematic review and meta-analysis. *NPJ Prim Care Respir. Med.* 2019; 29 (1): 4. doi: 10.1038/s41533-019-0116-z
- Stojak B.J., Halajian E., Guthmann R.A., Nashelsky J. Intravenous magnesium sulfate for acute asthma exacerbations. *Am Fam Physician.* 2019; 99 (2): 127–8.
- Ianello S., Spina P., Leotta P. Hypomagnese mia and smooth muscle contractility: diffuse oesophageal spasm in an old female patient. *Miner Electrol Metab.* 1998; 24 (5): 348–56.
- Eriksson U. Human bronchial epithelium controls Th2 responses by Th1-induced, nutritive oxide-mediated STAT5 dephosphorylation: implications for the pathogenesis of asthma. *J Immunol.* 2005; 175: 2715–20. doi: 10.4049/jimmunol.175.4.2715
- Poleszak E. Immobility stress induces depression-like behavior in the forced swim test in mice: effect of magnesium and mipramine. *Pharm Rep.* 2006; 58 (5): 746–52.
- Shishimorov I.N., Magnitskaya O.V., Perminov A.A., Nefedov I.V. The prevalence and effect of magnesium deficiency on the course of bronchial asthma in children. *Vestnik Volgogradskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta* [Bulletin of the Volgograd State Medical University]. 2015; 2 (50): 124–8. (in Russian)
- Al Alawi A.M., Majoni S.W., Falhammar H. Magnesium and human health: perspectives and research directions. *Int J Endocrinol.* 2018; 2018: 9041694. doi: 10.1155/2018/9041694
- Becker S.M., Job K.M., Lima K., Forbes T.J., Wagstaff J., Tran N.K., et al. Prospective study of serum and ionized magnesium pharmacokinetics in the treatment of children with severe acute asthma. *Eur J Clin Pharmacol.* 2019; 75 (1): 59–66. doi: 10.1007/s00228-018-2557-7
- Powell C., Kolamunnage-Dona R., Lowe J., Boland A., Petrou S., Doull I., et al. MAGNETIC Study Group. Magnesium sulphate in acute severe asthma in children (MAGNETIC): a randomised, placebo-controlled trial. *Lancet Respir Med.* 2013; 1 (4): 301–8. doi: 10.1016/S2213-2600(13)70037-7
- Latysheva A.N., Smirnova S.V., Kolpakova A.F. Bronchial asthma and chronic obstructive pulmonary disease: antioxidant-antioxidant system features. *Krasnoyarsk: Izdatel'stvo KraGMU,* 2011: 110 p. (in Russian)
- Lazutkina E.L., Muzychenko L.M., Landyshev Yu.S., Tsyrendorzhiyev DD, Lazarenko L.L. Features of the pro- and antioxidant status of the blood serum of patients with bronchial asthma with different sensitization options. *Byulleten' fiziologii i patologii dykhanii* [Bulletin Physiology and Pathology of Respiration]. 2014; (51): 15–9. (in Russian)
- Sodaeva S.K. Free radical damage mechanisms in diseases of the respiratory system. *Pul'monologiya* [Pulmonology]. 2012; (1): 5–10. (in Russian)
- Filatova Yu.I. Prospects for the use of antioxidants in the treatment of bronchial asthma. *Molodoy uchoniyy* [Young Scientist]. 2014; (1): 5–10. (in Russian)
- Spirichev V.B. Vitamins, vitamin-like and mineral substances: Reference book. Chekhov: MTsFR, 2004: 240 p. (in Russian)
- Kosheleva O.V., Beketova N.A., Kodentsova V.M., Pereverzeva O.G., Sokolnikov A.A., Vorozhko I.V., et al. Assessment of vitamin status in obese patients with arterial hypertension. *Voprosy dietologii* [Problems of Dietology]. 2016; 6 (2): 22–9. doi: 10.20953/2224-5448-2016-2-22-29 (in Russian)
- Vrzhesinskaya O.A., Kodentsova V.M., Ogloblin N.A., Beketova N.A., Pereverzeva O.G., et al. Analysis of vitamin C, B₂ and A provision in patients with obesity and cardiovascular: comparable data on the basis of foodstuff consumption and blood serum level detection. *Voprosy pitaniia* [Problems of Nutrition]. 2008; 77 (4): 46–51. (in Russian)
- Beketova N.A., Kosheleva O.V., Vrzhesinskaya O.A., Kodentsova V.M., Sharafetdinov H.H., Plotnikova O.A., et al. Supply of vitamins for patients with type 2 diabetes and obesity in the autumn. *Kardiovaskulyarnaya terapiya i profilaktika* [Cardiovascular Therapy and Prevention]. 2019; 18 (1): 95–101. <https://doi.org/10.15829/1728-8800-2019-1-95-101> (in Russian)
- National program «Bronchial asthma in children. Strategy of treatment and prevention». 5th ed., revised and additional. Moscow, 2017: 184 p. (in Russian)

Для корреспонденции

Алексашина Софья Анатольевна – аспирант кафедры «Технология и организация общественного питания» ФГБОУ ВО «Самарский государственный технический университет»
 Адрес: 443100, Россия, г. Самара, ул. Молодогвардейская, д. 244, главный корпус
 Телефон: (846) 278-43-11
 E-mail: vsasofi@rambler.ru
<https://orcid.org/0000-0002-4527-8773>

Алексашина С.А.¹, Макарова Н.В.¹, Деменина Л.Г.²

Антиоксидантный потенциал плодов шиповника

Antioxidant potential of wild rose

Aleksashina S.A.¹, Makarova N.V.¹, Demenina L.G.²

¹ ФГБОУ ВО «Самарский государственный технический университет», Самара, Россия

² ГБУ Самарской области «Научно-исследовательский институт садоводства и лекарственных растений «Жигулевские сады», Самара, Россия

¹ Samara State Technical University, Samara, Russia

² Research Institute of Horticulture and Medicinal Plants «Zhigulevskie Sady» (The Village of Experimental Station for Horticulture), Samara, Russia

Наличие в плодах шиповника комплекса биологически активных веществ обуславливает антиоксидантное действие.

Цель исследования – оценка антиоксидантной активности плодов сортового шиповника из коллекции ГБУ Самарской области «Научно-исследовательский институт садоводства и лекарственных растений «Жигулевские сады», выращенного в Самарском регионе в сезон 2016 г.

Материал и методы. Определены антиоксидантная активность [антирадикальная активность, восстанавливающая сила по методу FRAP (железо-восстанавливающая антиоксидантная сила), антиоксидантная активность в системе с линолевой кислотой], содержание фенольных веществ в пересчете на галловую кислоту и флавоноидов в пересчете на катехин. Помимо этого определены содержание витамина С, общее содержание органических кислот, редуцирующих сахаров, сухих растворимых веществ.

Результаты и обсуждение. Результаты исследования свидетельствуют о высокой антиоксидантной активности анализируемых образцов плодов шиповника. Так, максимальное содержание фенолов имеют сорта Самарский Юбилейный (966 мг галловой кислоты на 100 г исходного сырья), Самарский (922 мг/100 г), Десертный (858 мг/100 г), Крупноплодный ВНИВИ (723 мг/100 г). Высокое содержание флавоноидов определено у сорта Десертный (442 мг катехина/100 г исходного сырья) и вида *Rosa spinosissima* L. (418 мг/100 г). Присутствие антоцианов наблюдалось только у вида *Rosa spinosissima* L. (90,86 мг цианидин-3-гликозида/100 г сырья), что подтверждается его насыщенным фиолетовым цветом. Сорт Десертный показал наибольший показатель антирадикальной активности ($IC_{50}=2,7$ мг/см³) и восстанавливающей силы (18,18 моль Fe²⁺/1 кг исходного сырья). Способность ингибировать окисление

Для цитирования: Алексашина С.А., Макарова Н.В., Деменина Л.Г. Антиоксидантный потенциал плодов шиповника // Вопр. питания. 2019. Т. 88, № 3. С. 84–89. doi: 10.24411/0042-8833-2019-10033.

Статья поступила в редакцию 10.01.2019. **Принята в печать** 20.05.2019.

For citation: Aleksashina S.A., Makarova N.V., Demenina L.G. Antioxidant potential of wild rose. Voprosy pitaniia [Problems of Nutrition]. 2019; 88 (3): 84–89. doi: 10.24411/0042-8833-2019-10033. (in Russian)

Received 10.01.2019. **Accepted** 20.05.2019.

линолевой кислоты проявили все представленные образцы. Были определены содержание витамина С (лидер вид *Rosa mollis* Sm. – 67,3 мг%, сорта Самарский Юбилейный – 50,12 мг% и Крупноплодный ВНИВИ – 47,3 мг%), кислотность (лидер сорт Юбилейный – 1,39%), массовая доля редуцирующих сахаров (лидер сорт Самарский – 9,9%), содержание растворимых сухих веществ (лидер сорт Десертный – 22,2%).

Заключение. Представленные сорта шиповника обладают высокой антиоксидантной активностью.

Ключевые слова: *Rosa L.*, антиоксиданты, витамин С, фенолы, антирадикальная активность

The presence in the hips of a complex of biologically active substances causes an antioxidant effect.

The aim of this study was to evaluate antioxidant activity of varietal rosehip of the Scientific Research Institute «Zhigulevskiy Sady» collection, which was cultivated in Samara region in the season 2016.

Material and methods. Antioxidant activity was analysed (antiradical activity, restoring force by FRAP method (Ferric Reducing Antioxidant Power), antioxidant activity in the system of linoleic acid), the content of total phenols and total flavonoids was determined. Along with this, vitamin C content, the total content of organic acids, reducing sugars, soluble substances were determined.

Results and discussion. The results of this research indicated high biological activity of the rosehip test samples. Thus, the maximum content of total phenols was found in the following varieties: SamarSKIY Yubileyniy (966 mg of gallic acid/100g of feedstock), SamarSKIY (922 mg/100g), Desertniy (858 mg/100 g), Krupnoplodniy VNI VI (723 mg/100 g). High content of total flavonoids was determined in Desertniy variety (442 mg of catechin/100g of feedstock) and *Rosa spinosissima L.* variety (418 mg/100 g). Anthocyan presence was observed only in *Rosa spinosissima L.* (90.86 mg cyanidin-3-glycoside/100g of feedstock), as evidenced by its deep purple color. Desertniy variety showed the highest indicator of antiradical activity ($IC_{50}=2.7$ mg/cm³) and restoring force (18.18 mol Fe²⁺/1 kg of feedstock). The ability to inhibit the oxidation of linoleic acid was demonstrated by all the given samples. For the rosehip the content of vitamin C (leading variety: *Rosa mollis* Sm. – 67.3 mg%, Krupnoplodniy VNI VI – 47.3 mg%), acidity (leading variety: Yubileyniy – 1.39%), mass fraction of reducing sugars (leading variety: SamarSKIY – 9.9%), the content of soluble substances (leading variety: Desertniy – 22.2%) were determined.

Conclusion. Hence, the given varieties of rosehip have a high antioxidant activity. According to this, it can be recommended for mass cultivation on the territory of Samara region.

Keywords: *Rosa L.*, antioxidants, vitamin C, phenols, anti-radical activity

Плоды шиповника (*Rosa L.*) широко применяются в качестве лекарственного и пищевого компонента. Показана их эффективность в уменьшении риска сердечно-сосудистых заболеваний, раковых опухолей, а также в профилактике недостатка витамина С при употреблении в сыром виде [1, 2]. Плоды шиповника используются в пищу в виде чая, как компонент кондитерских изделий (мармелад, цукаты, варенье), в блюдах общественного питания.

С точки зрения современных исследователей, именно использование пищевой продукции растительного происхождения с высоким содержанием биологически активных веществ способно повысить уровень здоровья людей, а также значительно увеличить качество жизни.

В качестве источников биологически активных веществ в рационе человека могут быть использованы плоды произрастающих в Самарском регионе культур: шиповника, барбариса, калины, рябины, отличающихся высокой урожайностью и неприхотливостью. Современные технологии консервирования позволяют сохранить в этих культурах весь комплекс активных веществ

в течение года и больше [3–5]. Представленные растения достаточно хорошо приспособлены для промышленного культивирования с внедрением индустриальных технологий, основанных на технологическом процессе с использованием максимальной механизации.

Содержание витамина С в свежих плодах шиповника сравнимо с его содержанием в цитрусовых. Кроме того, наличие в них целого комплекса биологически активных веществ позволяет рекомендовать плоды шиповника в качестве общеукрепляющего средства [6].

Цель данной работы – оценка антиоксидантной активности сортового шиповника из коллекции НИИ «Жигулевские сады», выращенного в Самарском регионе в сезон 2016 г.

Материал и методы

Для выявления зависимости антиоксидантной активности и химического состава от сорта исследуемого сырья выбраны различные формы шиповника.

Объекты исследования представлены сортами и видами шиповника (*Rosa L.*) из коллекции НИИ «Жигулевские сады», собранными в Самарском регионе в сезон 2016 г.: сорта Самарский, Самарский Юбилейный, Десертный, Юбилейный, Крупноплодный ВНИВИ, вид *Rosa mollis Sm.* (шиповник мягкий), вид *Rosa spinosissima L.* (шиповник колючий).

Из анализируемых образцов получали экстракты при соотношении сырье (свежие плоды) : 50% этанол 1:10. Повторность опытов трехкратная.

В ходе исследования определяли следующие показатели: общее содержание фенольных соединений, общее содержание флавоноидов, общее содержание антоцианов, антиоксидантная активность по методу DPPH (2,2-дифенил-1-пикрилгидразил), восстанавливающая сила по методу FRAP (Ferric Reduce Antioxidant Power), антиоксидантная активность в системе линолевой кислоты, содержание витамина С, титруемая кислотность, содержание редуцирующих сахаров, содержание растворимых сухих веществ.

Общее содержание фенольных веществ определяли спектрофотометрическим методом с реактивом Фолина–Чокальтеу [7], в пересчете на галловую кислоту. Для определения общего содержания флавоноидов (в пересчете на катехин) был выбран метод, основанный на взаимодействии антиоксиданта с хлоридом алюминия и нитритом натрия [8]. Общее содержание антоцианов определяли методом pH-дифференциальной спектрофотометрии согласно ГОСТ Р 53773-2010 «Продукция соковая. Методы определения антоцианов».

Антирадикальную активность исследовали спектрофотометрически с использованием свободного радикала 2,2-дифенил-1-пикрилгидразида (DPPH) при $\lambda=517$ нм и выражали как минимальная концентрация, необходимая для ингибирования 50% радикалов [9].

Железовосстанавливающая антиоксидантная способность (FRAP) отражает способность антиоксиданта тормозить переход ионов железа, катализирующий процессы окисления, и выражается в моль Fe^{2+} на 1 кг. Перед проведением анализа подготовили реактив FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power): в колбу помещали 10 см³ ацетатного буферного раствора (pH 3,6), 20 см³ раствора хлорида железа (III), 1 см³ реагента TPTZ [2,4,6-три-(2-пиридил)-1,3,5-триамина]. Смесь выдержи-

вали в термостате в течение 10 мин при температуре 37 °С при периодическом перемешивании. В пробирки помещали 1 см³ реактива FRAP; 3 см³ дистиллированной воды; 0,1 см³ анализируемого экстракта (концентрацией 0,1 мг/см³). В контрольную пробу добавляли вместо экстракта 0,1 см³ дистиллированной воды. Смесь выдерживали 4 мин при температуре 37 °С при периодическом помешивании [10].

Определение антиоксидантной активности в системе линолевой кислоты, отражающей способность экстракта шиповника тормозить ее окисление, проводили фотоколориметрией железотиоцианатных комплексов [11]. Перокисление линолевой кислоты происходит при реакции веществ (образующихся при нагревании до 40 °С на протяжении 120 ч экстракта, линолевой кислоты и фосфатного буферного раствора) с радикалом аммония и хлоридом железа (II). Данный показатель выражали в процентах ингибирования.

Витамин С определяли согласно ГОСТ 24556-89 «Продукты переработки плодов и овощей. Методы определения витамина С», общее содержание органических кислот – по ГОСТ ISO 750-2013 «Продукты переработки фруктов и овощей. Определение титруемой кислотности», редуцирующие сахара – по ГОСТ 8756.13-87 «Продукты переработки плодов и овощей. Методы определения сахаров», содержание сухих растворимых веществ – по ГОСТ ISO 2173-2013 «Продукты переработки фруктов и овощей. Рефрактометрический метод определения растворимых сухих веществ».

Результаты и обсуждение

Результаты определения общего содержания фенольных соединений, флавоноидов и антоцианов представлены в табл. 1.

На основании данных по содержанию фенольных веществ высокие результаты показали образцы плодов сортов Самарский, Самарский Юбилейный, Десертный, Крупноплодный ВНИВИ. Однако неожиданно низкие показатели обнаружены у плодов шиповника мягкого (вид *Rosa mollis Sm.*) и колючего (вид *Rosa spinosissima L.*). Наибольшее количество флавоноидов выявлено в плодах сорта Десертный и вида *Rosa spinosissima L.* Сред-

Таблица 1. Содержание фенольных веществ, флавоноидов и антоцианов в шиповнике

Шиповник	Содержание, мг на 100 г исходного сырья		
	фенольные соединения в пересчете на галловую кислоту	флавоноиды в пересчете на катехины	антоцианы в пересчете на цианидин-3-гликозид
Самарский	922	306	Не обнаружено
Самарский Юбилейный	966	231	Не обнаружено
Десертный	858	442	Не обнаружено
Юбилейный	270	229	Не обнаружено
Крупноплодный ВНИВИ	723	182	Не обнаружено.
<i>Rosa mollis Sm.</i>	261	246	Не обнаружено
<i>Rosa spinosissima L.</i>	234	418	90,86

Таблица 2. Антиоксидантная активность по методам DPPH, FRAP и в системе линолевой кислоты для шиповника

Шиповник	Показатель		
	DPPH, IC ₅₀ , мг/см ³	FRAP, моль Fe ²⁺ /1 кг исходного сырья	% ингибирования окисления линолевой кислоты
Самарский	5,0	16,38	41,9
Самарский Юбилейный	7,7	16,56	26,8
Десертный	2,7	18,18	23,7
Юбилейный	23,5	17,46	33,9
Крупноплодный ВНИВИ	41,0	16,74	21,1
<i>Rosa mollis Sm.</i>	30,5	16,02	28,3
<i>Rosa spinosissima L.</i>	4,7	17,28	38,5

ние значения у шиповника Самарского, *Rosa mollis Sm.*, Десертного, Самарского Юбилейного. Минимальное содержание общих флавоноидов отмечено в плодах шиповника сорта Крупноплодный ВНИВИ. Достаточную концентрацию антоцианов для определения можно предположить лишь в шиповнике колючем, который имеет темно-фиолетовую окраску, что подтверждено экспериментально. В прочих представленных образцах антоцианы не обнаружены.

Результаты определения антиоксидантных свойств (в системе линолевой кислоты, по методам DPPH и FRAP) представлены в табл. 2.

Свободный радикал 2,2-дифенил-1-пикрилгидразил (DPPH) используется для анализа способности исследуемых образцов сырья приостанавливать цепные реакции радикального окисления. Антиоксиданты, содержащиеся в экстрактах плодов шиповника, отдают протоны радикалу, обесцвечивая фиолетовый цвет раствора DPPH. При этом снижается степень поглощения. Ингибирование более 50% свободных радикалов при наименьшей концентрации экстракта считается наилучшим результатом [10]. Таковым свойством обладает шиповник Десертный. Он показал наилучший результат антирадикальной активности.

Железозостванавливающая сила для исследуемых образцов шиповника колебалась незначительно: от 16,02 (вид *Rosa mollis Sm.*) до 18,18 (сорт Десертный) ммоль Fe²⁺ на 1 кг исходного сырья.

При окислении полиненасыщенной линолевой кислоты она образует пероксиды, которые окисляют ионы Fe²⁺ до Fe³⁺, образуя тиоцианат-комплексы. Антиоксидантная активность тем меньше, чем больше пе-

роксидов. При изучении свойств плодов шиповника по данному показателю из табл. 2 видно, что все сорта способны ингибировать окисление полиненасыщенных жирных кислот. При этом наилучшие результаты показали образцы Самарский, *Rosa spinosissima L.* Низкие показатели принадлежат сортам Крупноплодный ВНИВИ и Десертный.

Содержание в плодах шиповника витамина С, титруемой кислотности, редуцирующих сахаров и общего содержания растворимых сухих веществ представлены в табл. 3. Плоды шиповника вида *Rosa mollis Sm.* значительно опережают прочие представленные образцы по содержанию витамина С. Хорошие результаты также показали сорта Самарский Юбилейный и Крупноплодный ВНИВИ. Образцы шиповника отличаются незначительным расхождением в результатах определения титруемой кислотности. Минимальное количество кислот было установлено в сортах Самарский и Крупноплодный ВНИВИ. Больше всего кислот содержится в сортах Юбилейный, Самарский Юбилейный.

Необходимо отметить незначительную разницу в полученных данных содержания редуцирующих сахаров. Однако максимальным содержанием сахаров характеризуется сорт Самарский.

Максимальное содержание растворимых сухих веществ у плодов шиповника сорта Десертный. Минимальный результат по сравнению с прочими образцами показал вид *Rosa spinosissima L.* Подобный эффект объясняет органолептический анализ плода: мякоть мясистая с небольшой семечковой камерой, при механическом воздействии выделяется достаточно много сока для данного вида растения.

Таблица 3. Массовая доля аскорбиновой кислоты и титруемая кислотность редуцирующих сахаров и общего содержания растворимых сухих веществ в шиповнике

Шиповник	Массовая доля аскорбиновой кислоты, мг%	Кислотность, в пересчете на лимонную кислоту, %	Массовая доля сахаров, %	Содержание растворимых сухих веществ, %
Самарский	29,8	0,70	9,9	17,0
Самарский Юбилейный	50,12	1,35	9,4	19,0
Десертный	18,3	1,02	9,8	22,2
Юбилейный	18,5	1,39	9,8	15,4
Крупноплодный ВНИВИ	47,3	0,76	9,4	13,6
<i>Rosa mollis Sm.</i>	67,3	1,26	9,4	20,0
<i>Rosa spinosissima L.</i>	18,2	0,82	9,8	3,0

Заключение

Результаты, представленные выше, показали, что плоды всех видов и сортов шиповника, выращенных в Самарском регионе, действительно обладают антиоксидантным эффектом, содержат фенольные соединения, флавоноиды, витамин С. Большинство из анализируемых образцов могут составить конкуренцию не только типичному местному сырью (яблоки, злаки) [12–14], но и зарубежному [15].

Таким образом, можно сделать вывод, что шиповник рода *Rosa L.*, выращенный в Самарском регионе, можно предложить для промышленного культивирования. При этом логично выделить ряд очень перспективных сортов и видов:

- по содержанию фенольных соединений и флавоноидов – Самарский, Самарский Юбилейный, Десертный, Крупноплодный ВНИВИ;
- присутствие антоцианов наблюдалось лишь у вида *Rosa spinosissima L.*, о чем свидетельствует его насыщенный темно-фиолетовый цвет;
- по антирадикальной активности и железовосстанавливающей антиоксидантной способности – Десертный;
- по содержанию витамина С – *Rosa mollis Sm.*

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Сведения об авторах

Алексашина Софья Анатольевна (Aleksashina Sofiya A.) – аспирант кафедры «Технология и организация общественного питания» ФГБОУ ВО «Самарский государственный технический университет» (Самара, Россия)

E-mail: vsasofi@rambler.ru

<https://orcid.org/0000-0002-4527-8773>

Макарова Надежда Викторовна (Makarova Nadezhda V.) – доктор химических наук, профессор, заведующая кафедрой «Технология и организация общественного питания» ФГБОУ ВО «Самарский государственный технический университет» (Самара, Россия)

E-mail: makarovav1969@yandex.ru

<https://orcid.org/0000-0002-4282-5989>

Деменина Любовь Георгиевна (Demeniina Lyubov' G.) – заместитель директора по науке ГБУ Самарской области «Научно-исследовательский институт садоводства и лекарственных растений “Жигулевские сады”» (Самара, Россия)

Литература

1. Korkmaz M., Dogan N.Y. Analysis of genetic relationships between wild roses (*Rosa L. Spp.*) growing in Turkey // *Food Chem.* 2018. Vol. 60, N 4. P. 305–310.
2. Saricaoglu F.T. Application of multi pass high pressure homogenization to improve stability, physical and bioactive properties of rosehip (*Rosacandina L.*) nectar // *Food Chem.* 2019. Vol. 282, N 1. P. 67–75.
3. Козлова А.Б. Оценка развития и продуктивности перспективных сортов шиповника в условиях Благовещенска // *Дальневосточный аграрный вестн.* 2018. № 4. С. 94.
4. Furriancu M. Hypoglycemic effect of *Berberismicrophylla G Forst root extract* // *Trop. J. Pharm. Res.* 2017. Vol. 16, N 9. P. 2179–2184.
5. Дубцова Г.Н., Кусова И.У., Куницына И.К. Пищевая ценность продуктов из шиповника // *Вопр. питания.* 2018. Т. 87, № 55. С. 85.
6. Marmol I. Therapeutic applications of rose hips from different *Rosa Species* // *Int. J. Mol. Sci.* 2017. Vol. 18, N 6. P. 1137.
7. Augusto T.R. Phenolic compounds and antioxidant activity of hydroalcoholic extracts of wild and cultivated murtila (*Ugnimolinae Turcz*) // *Food Sci. Technol.* 2014. Vol. 34, N 4. P. 667–673.
8. Wang J. Free radical and reactive oxygen species scavenging activities of peanut skins extract // *Food Chem.* 2007. Vol. 104, N 2. P. 242–250.
9. Wijngaard H.H. A survey of Irish fruit and byproducts as a source of polyphenolic antioxidants // *Food Chem.* 2009. Vol. 116, N 1. P. 202–207.
10. Mussatto S.I. Extraction of antioxidant phenolic compounds from spent coffee grounds // *Sep. Purif. Technol.* 2011. Vol. 83. P. 173–179.
11. Ebrahimzadeh M.A. Antioxidant and antihaemolytic activities of the leaves of *Kefe cumin (Laser trilobum L) umbelliferae* // *Trop. J. Pharm.* 2010. Vol. 9, N 5. P. 441–449.
12. Макарова Н.В., Валиулина Д.Ф., Бахарев В.В. Антиокислительные свойства и химический состав зимних сортов яблок // *Изв. вузов. Пищевая технология.* 2012. № 5. С. 27–28.
13. Бординова В.П., Макарова Н.В. Антиоксидантные свойства зерна ячменя, овса, сорго, риса и продуктов их переработки // *Изв. вузов. Пищевая технология.* 2011. № 5. С. 5–6.
14. Петрова С.Н., Ивкова А.В. Химический состав и антиоксидантные свойства видов рода *Rosa L.* (обзор) // *Химия растительного сырья.* 2014. № 2. С. 13.
15. Roman I., Stănilă A. Bioactive poudns and antioxidant activity of *Rosa canina L.* biotypes from spontaneous flora of Transylvania // *Chem. Centr. J.* 2013. Vol. 7, N 73. P. 3–7.

References

1. Korkmaz M., Dogan N.Y. Analysis of genetic relationships between wild roses (*Rosa L. Spp.*) growing in Turkey. *Food Chem.* 2018; 60 (4): 305–10.
2. Saricaoglu F.T. Application of multi pass high pressure homogenization to improve stability, physical and bioactive properties of rosehip (*Rosacandina L.*) nectar. *Food Chem.* 2019; 282 (1): 67–75.
3. Kozlova A.B. Assessment of the development and productivity of promising wild rose varieties in Blagoveshchensk. *Dal'nevostochnyi agrarniy vestnik [Far Eastern Agrarian Bulletin]*. 2018; (4): 94. (in Russian)
4. Furriancu M. Hypoglycemic effect of *Berberismicrophylla G Forst root extract*. *Trop J Pharm Res.* 2017; 16 (9): 2179–84.

5. Dubtsova G.N., Kusova I.U., Kunitsyna I.K. The nutritional value of dogrose products. *Voprosy pitaniia* [Problems of Nutrition]. 2018; 87 (S5): 85. (in Russian)
6. Marmol I. Therapeutic applications of rose hips from different Rosa Species. *Int J Mol Sci*. 2017; 18 (6): 1137.
7. Augusto T.R. Phenolic compounds and antioxidant activity of hydroalcoholic extracts of wild and cultivated murtilla (*Ugnimolinae Turcz.*). *Food Sci Technol*. 2014; 34 (4): 667–73.
8. Wang J. Free radical and reactive oxygen species scavenging activities of peanut skins extract. *Food Chem*. 2007; 104 (2): 242–50.
9. Wijngaard H.H. A survey of Irish fruit and byproducts as a source of polyphenolic antioxidants. *Food Chem*. 2009; 116 (1): 202–7.
10. Mussatto S.I. Extraction of antioxidant phenolic compounds from spent coffee grounds. *Sep. Purif Technol*. 2011; 83: 173–9.
11. Ebrahimzadeh M.A. Antioxidant and antihemolytic activities of the leaves of Kefe cumin (*Laser trilobum L.*) umbelliferae. *Trop J Pharm*. 2010; 9 (5): 441–9.
12. Makarova N.V., Valiulina D.F., Bakharev V.V. Antioxidant properties and chemical composition of winter apple varieties. *Izvestiya vuzov. Pischevaya tehnologiya* [News of Higher Educational Institutions. Food Technology]. 2012; (5): 27–8. (in Russian)
13. Bordinova V.P., Makarova N.V. Antioxidant properties of barley grain, oats, sorghum, rice and their products. *Izvestiya vuzov. Pischevaya tehnologiya* [News of Higher Educational Institutions. Food Technology]. 2011; (5): 5–6. (in Russian)
14. Petrova S.N., Ivkova A.V. The chemical composition and antioxidant properties of species of the genus Rosa L. (review). *Khimiya rastitel'nogo syr'ia* [Chemistry of Plant Raw Material]. 2014; (2): 13. (in Russian)
15. Roman I., Stănilă A. Bioactive compounds and antioxidant activity of *Rosa canina L.* biotypes from spontaneous flora of Transylvania. *Chem Centr J*. 2013; 7 (73): 3–7.

Для корреспонденции

Новокшанова Алла Львовна – кандидат технических наук, доцент, доцент кафедры технологии молока и молочных продуктов ФГБОУ ВО «Вологодская государственная молочнохозяйственная академия им. Н.В. Верещагина»

Адрес: 160555, Россия, г. Вологда, с. Молочное, ул. Шмидта, д. 2
Телефон: (8172) 52-47-11

E-mail: alnovokshanova@gmail.com

<https://orcid.org/0000-0002-5049-1472>

Новокшанова А.Л.¹, Топникова Е.В.², Абабкова А.А.³

Анализ аминокислотного состава обезжиренного молока и пахты для производства кисломолочного напитка при внесении гидролизата сывороточных белков

Analysis of amino acid composition of skim milk and buttermilk for the production of dairy drink when introducing whey protein hydrolysate

Novokshanova A.L.¹, Topnikova E.V.², Ababkova A.A.³

- ¹ ФГБОУ ВО «Вологодская государственная молочнохозяйственная академия им. Н.В. Верещагина», Вологда, Россия
- ² ВНИИМС – филиал ФГБНУ «Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН, Москва, Россия
- ³ АО «Учебно-опытный молочный завод» ВГМХА им. Н.В. Верещагина, Вологда, Россия
- ¹ Vologda State Dairy Farming Academy named after N.V. Vereshchagin, Vologda, Russia
- ² All-Russian Scientific Research Institute of Butter- and Cheesemaking – Branch of V.M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems of RAS, Moscow, Russia
- ³ JSC "Experimental Dairy Plant", Vologda State Dairy Farming Academy named after N.V. Vereshchagin, Vologda, Russia

Дисбаланс макронутриентного состава рационов населения обуславливает актуальность разработки функциональных пищевых продуктов – источников белка и незаменимых аминокислот.

Цель работы заключалась в анализе аминокислотного состава и определении функциональной значимости продукта на основе обезжиренного молока и пахты при внесении гидролизата сывороточных белков.

Материал и методы. Контрольными вариантами служили образцы обезжиренного молока, пахты и их смеси в соотношении 1:1. В экспериментальных вариантах к тем же образцам молочной основы добавляли от 1 до 3% гидролизата сывороточных белков молока (ГСБ) со степенью гидролиза около 60% пептидных связей. Аминокислотный состав анализировали с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии с использованием катионообменного анализатора и последующей постколоночной дериватизацией нингидрином.

Для цитирования: Новокшанова А.Л., Топникова Е.В., Абабкова А.А. Анализ аминокислотного состава обезжиренного молока и пахты для производства кисломолочного напитка при внесении гидролизата сывороточных белков // *Вопр. питания.* 2019. Т. 88, № 3. С. 90–96. doi: 10.24411/0042-8833-2019-10034.

Статья поступила в редакцию 18.03.2019. **Принята в печать** 20.05.2019.

For citation: Novokshanova A.L., Topnikova Ye.V., Ababkova A.A. Analysis of amino acid composition of skim milk and buttermilk package for the production of dairy drink when introducing whey protein hydrolysate. *Voprosy pitaniia* [Problems of Nutrition]. 2019; 88 (3): 90–6. doi: 10.24411/0042-8833-2019-10034. (in Russian)

Received 18.03.2019. **Accepted** 20.05.2019.

Результаты и обсуждение. Содержание эссенциальных аминокислот в 100 г ГСБ составляет 50,6–168,0% адекватного уровня их суточного потребления, в то время как в обезжиренном молоке и пахте только 3,0–22,3 и 2,6–19,9% соответственно. Несмотря на практически одинаковое содержание белка в обезжиренном молоке и пахте, равное соответственно $3,36 \pm 0,02$ и $3,09 \pm 0,01\%$, абсолютное содержание всех незаменимых аминокислот в пахте ниже, чем в обезжиренном молоке. Это объясняется различиями качественного состава белков данных видов молочного сырья.

Заключение. Благодаря внесению 3% ГСБ аминокислотный состав молочной основы, состоящей из смеси пахты и обезжиренного молока в соотношении 1:1, позволяет позиционировать продукт как функциональный в отношении Вал, Иле, Лей, Лиз, Тре и Три, поскольку порция продукта массой 200 г обеспечивает 15% адекватного суточного потребления данных эссенциальных аминокислот. В маркировке разработанного продукта помимо пищевой и энергетической ценности есть основания включать дополнительную информацию: обезжиренный, низкокалорийный, содержит только натуральные сахара и источник белка для лиц, чья потребность в белке не превышает 99 г/сут.

Ключевые слова: гидролизат сывороточных белков, обезжиренное молоко, пахта, аминокислотный состав, функциональный пищевой продукт, функциональный пищевой ингредиент

The imbalance of macronutrient composition of people's diets determines the relevance of the functional foods development – sources of protein and essential amino acids.

The aim of the work was to analyze the amino acid composition and determine the functional significance of the product based on skim milk and buttermilk by adding whey protein hydrolysate.

Material and methods. The control options were samples of skimmed milk, buttermilk and their mixtures in a 1:1 ratio. From 1 to 3% of the whey protein hydrolysate with a degree of hydrolysis of about 60% of peptide bonds were added to the same milk base samples in the experimental options. The amino acid composition was analyzed by high performance liquid chromatography using a cation exchange analyzer and subsequent post-column derivatization with ninhydrin.

Results and discussion. The content of essential amino acids per 100 g of whey protein hydrolysate (WPH) is 50.6–168.0% from the adequate level of their daily intake, while there are only 3.0–22.3 and 2.6–19.9% in skimmed milk and buttermilk, respectively. Despite the practically equal protein content in skimmed milk and buttermilk 3.36 ± 0.02 and $3.09 \pm 0.01\%$, respectively, the absolute content of all essential amino acids in buttermilk is lower than in skimmed milk. This can be explained by differences in the qualitative composition of proteins in these types of dairy raw materials.

Conclusion. The amino acid composition of the milk base, consisting of buttermilk and skimmed milk mixture in a 1:1 ratio, can be presented as «functional» product in relation to Val, Ile, Leu, Lis, Trp and Tyr, due to the addition of 3% WPH, because the product portion of 200 g provides 15% of adequate daily intake of these essential amino acids. There is the reason to include additional information: low-fat, low-calorie, contains only natural sugars and a source of protein for people whose protein requirement does not exceed 99 grams per day in the labeling of the developed product, in addition to its nutritional and energy value.

Keywords: whey protein hydrolysate, skimmed milk, buttermilk, amino acid composition, functional food, functional food ingredient

В настоящее время сохраняется устойчивый интерес к производству функциональных и специализированных пищевых продуктов. Разработка таких продуктов, в частности молочных, направлена на стремление поддерживать здоровый образ жизни людей, что во многом определяет их общее благополучие. Создание новых продуктов здорового питания часто сопряжено с включением в их состав функциональных пищевых ингредиентов. При разработке технологии новых кисломолочных продуктов в качестве функционального пищевого ингредиента целесообразно использовать гидролизаты сывороточных белков молока (ГСБ) [1–3].

Основанием для этого служит, во-первых, насыщенность таких пищевых ингредиентов незаменимыми аминокислотами, во-вторых, имеющаяся информация об отклонениях макронутриентного состава рационов населения от оптимальных соотношений, в частности о дефиците животного белка [4–6]. Одно из известных отличий обмена белков от обмена углеводов и липидов заключается в отсутствии белкового депо как такового при недостатке потребления незаменимых аминокислот их источниками служат продукты распада белковых соединений разных тканей организма человека. В то же время считается, что если потребление белка превышает

ет потребность в нем, то это лишь усиливает окисление аминокислот, поскольку кинетические характеристики участвующих в этих процессах ферментов выше, чем у ферментов, активирующих анаболизм белков, и рацион, в котором 12% калорийности приходится на белок, обеспечивает организм взрослого человека необходимыми аминокислотами [7].

Сравнительно недавно опубликованы результаты серии наблюдений с использованием более совершенной методики – с использованием изотопной метки для индикации аминокислот [8]. В зарегистрированных клинических исследованиях с участием различных групп людей, отличающихся по возрасту, полу, физической активности, установлено, что существующие рекомендации потребления белка для взрослых 0,75–1,00 г на 1 кг массы тела, по-видимому, занижены примерно на 1/3 [9–11]. В связи с этим разработка функциональных пищевых продуктов с разным содержанием белка и аминокислот сохраняет свою актуальность.

Основными отличительными характеристиками гидролизатов являются исходное сырье, технология производства и состав конечного продукта. Используемый в работе гидролизат (ВНИИМС – филиал ФГБНУ «Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН) получают из белков молочной сыворотки ферментативным путем [12, 13]. Он представляет собой белки молочной сыворотки с деструкцией пептидных связей более чем на 60% и с содержанием свободных аминокислот около 33%. Это является ключевым преимуществом данного гидролизата: при такой глубине гидролиза не остается крупных белковых молекул, вызывающих аллергические реакции на молочные белки у некоторых потребителей. По данным ФГБНУ «ФИЦ питания и биотехнологии», остаточная антигенность гидролизатов до 17 000 раз ниже антигенно активных сывороточных белков [14]. Поскольку свободные аминокислоты легко всасываются в желудочно-кишечном тракте, ГСБ является не только источником незаменимых аминокислот, но и отличается их повышенной биодоступностью, что имеет существенное значение для организма при различных нарушениях пищеварения, которые могут вызываться как заболеваниями желудочно-кишечного тракта, так и возрастными особенностями.

Ранее нами установлено предельное количество внесения данного ГСБ в молочное сырье и выбрана молочная основа: обезжиренное молоко, пахта или их сочетание [15]. При этом выяснено, что максимальное количество ГСБ с данной степенью гидролиза не может превышать 3%, поскольку более высокие концентрации делают вкус и запах молочного сырья неприемлемым

из-за возникновения пороков: альбуминного, горького и соленого вкуса, изменения цвета и консистенции [16]. Выбор в пользу пахты и обезжиренного молока сделан с позиций пищевой ценности, чтобы обеспечить минимальное содержание жира в продукте, а также из экономических соображений [17]. Во-первых, в условиях дефицита молока-сырья использование обезжиренного молока и пахты особенно актуально, во-вторых, это сырье имеет более низкую стоимость по сравнению с цельным молоком, что в конечном итоге важно потребителю. Целенаправленное сочетание такого сырья с гидролизатами способствует улучшению пищевой и биологической ценности изготавливаемого продукта. Поскольку одним из основных критериев биологической ценности пищевого продукта служит аминокислотный набор его белковой составляющей, **цели** данного этапа работы – анализ аминокислотного состава и определение функциональной значимости продукта на основе обезжиренного молока и пахты при внесении гидролизата сывороточных белков.

Материал и методы

Контрольными вариантами служили образцы обезжиренного молока, пахты и их смеси в соотношении 1:1. В экспериментальных вариантах к тем же образцам молочной основы добавляли от 1 до 3% ГСБ молока со степенью гидролиза около 60% пептидных связей. Аминокислотный состав анализировали с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии с использованием катионообменного анализатора (Knauer, ФРГ) и последующей постколоночной дериватизацией нингидрином. Содержание аминокислот относительно адекватного уровня определяли расчетным методом.

Результаты и обсуждение

Физико-химические показатели молочного сырья, получаемого в промышленных условиях, соответствовали требованиям действующих стандартов (ГОСТ Р 31658-2012 «Молоко обезжиренное – сырье. Технические условия» и ГОСТ Р 53513-2009 «Пахта и напитки на ее основе. Технические условия») и представлены в табл. 1.

Согласно данным изготовителя [14], в ГСБ содержание пептидов с молекулярной массой >4,5 кДа составило 31,10±7,80%, от 1,7 до 4,5 кДа – 21,48±5,46%; <1,7 кДа – 50,40±6,40%, т.е. преобладали пептиды с небольшими и средними молекулярными массами, что обеспечивает

Таблица 1. Физико-химический состав молочного сырья

Вид сырья	Массовая доля, %				Плотность, кг/м ³	Титруемая кислотность, °Т
	жир	белок	сухие вещества	лактоза		
Пахта	0,414±0,014	3,09±0,01	8,09±0,01	4,31±0,02	1028,2±0,3	14,2±0,6
Обезжиренное молоко	0,048±0,005	3,36±0,02	9,08±0,02	4,73±0,01	1032,5±0,6	16,2±0,6

Таблица 2. Содержание незаменимых аминокислот в молочном сырье

Незаменимая аминокислота	Адекватный уровень потребления, мг/сут	Абсолютное содержание, мг/100 г		
		ГСБ	обезжиренное молоко	пахта
Вал	2500	1568	106	92
Иле	2000	1755	89	79
Лей	4600	3378	203	167
Лиз	4100	2966	174	142
Мет + Цис	1800	910	55	47
Тре	2400	2861	99	87
Три	800	1344	178	159
Фен + Тир	4400	2164	191	163

гипоаллергенные свойства этого пищевого ингредиента, поскольку белковые молекулы утрачивают аллергенность, если их размеры находятся в пределах от 2,5 до 3,0 кДа [18].

В табл. 2 представлен аминокислотный состав ГСБ, обезжиренного молока и пахты в сравнении с величинами адекватного уровня потребления.

Из данных табл. 2 видно, что содержание эссенциальных аминокислот в 100 г ГСБ находится в пределах 50,6–168,0% от адекватного уровня их суточного потребления, а в обезжиренном молоке и пахте – 3,0–4,5 и 2,6–4,0%, соответственно. Только концентрация Три в этих видах молочного сырья, составляющая 22,3% в обезжиренном молоке и 19,9% в пахте, отвечает требованию функциональности, поскольку превышает 15% адекватного суточного потребления. Причем заметно, что, несмотря на практически одинаковое содержание белка в обезжиренном молоке и пахте, равное $3,36 \pm 0,02$ и $3,09 \pm 0,01\%$ соответственно, содержание всех незаменимых аминокислот в пахте ниже, чем в обезжиренном молоке. Объяснение можно найти в особенностях технологии получения этих видов вторичного молочного сырья. При отделении обезжиренного молока в нем присутствуют практически все фракции белков цельного молока, которые традиционно считаются биологически полноценными. Пахта – побочный продукт производства масла. Этот процесс сопряжен с изменениями дисперсных фаз сливок и насыщением пахты белками оболочек жировых шариков. На долю этих белков приходится лишь 1% от всех белков молока, но по составу и свойствам они существенно отличаются от казеина и сы-

вороточных белков. С помощью электрофореза в белках оболочек жировых шариков удалось выделить примерно 40 различных минорных компонентов молока со специфическими свойствами [19], таких как муцины, бутирофилин – гликопротеин с ярко выраженной гидрофобностью, белки, связывающие жирные кислоты и пр. Как известно, функциональные особенности белков обуславливаются именно аминокислотным составом, и даже минимальные отличия в наборе аминокислот влияют на физико-химические свойства белков. В нашем случае такие отличия первоначально были выявлены технологическим путем. При сквашивании обезжиренного молока и пахты, несмотря на равные количества добавленного ГСБ, наблюдалась существенная разница в реологических показателях готовых продуктов, в частности усиление синергетических свойств сгустков обезжиренного молока по сравнению с пахтой, а также отличие других структурно-механических характеристик [20]. На основании этих исследований установлено, что сочетание обезжиренного молока и пахты в соотношении 1:1 позволяет получить готовый продукт, отличающийся консистенцией, характерной для традиционных кисломолочных продуктов.

В связи с этим далее была проведена оценка аминокислотного состава таких смесей пахты и обезжиренного молока. Хотя в соответствии с действующей в настоящее время нормативной базой, регулирующей оборот функциональных пищевых продуктов, аминокислоты не рассматриваются как отличительный признак, белки и составляющие их аминокислоты однозначно признаны важнейшими макронутриентами, обеспе-

Таблица 3. Аминокислотный состав контрольных и опытных вариантов смесей пахты и обезжиренного молока (1:1) в расчете на порцию продукта массой 200 г

Незаменимые аминокислоты	Содержание аминокислоты в смеси, мг/200 г		Содержание аминокислоты относительно адекватного уровня, %	
	без ГСБ	с 3% ГСБ	без ГСБ	с 3% ГСБ
Вал	198	370	8	15
Иле	168	350	8	18
Лей	370	692	8	15
Лиз	316	604	8	15
Мет + Цис	102	188	6	10
Тре	186	434	8	18
Три	337	468	42	59
Фен + Тир	354	558	8	13

Таблица 4. Пищевая и энергетическая ценность готового кисломолочного продукта с массовой долей гидролизатов сывороточных белков 3%

Показатель	Количество
Массовая доля жира, %	0,2
Массовая доля белка, %, не менее	4,95
Массовая доля углеводов, %	4,5
Калорийность/энергетическая ценность, ккал/кДж	40,0/170,0

чивающими реализацию физиолого-биохимических процессов, закрепленных в гено типе человека. Также в Методических рекомендациях по рациональному питанию незаменимые и заменимые аминокислоты указаны в числе **пищевых и биологически активных компонентов** пищи [21], а термин «**пищевое или биологически активное вещество**» является определяющим в условиях использования «информации об отличительных признаках и эффективности» согласно ГОСТ Р 55577-2013 «Продукты пищевые функциональные. Информация об отличительных признаках и эффективности». С учетом этого проведено сравнение аминокислотного состава продукта с адекватным уровнем потребления индивидуальных аминокислот. Результаты представлены в табл. 3.

По полученным данным можно утверждать, что ГСБ значительно улучшает аминокислотный профиль продукта. Как видно из табл. 3, при внесении 3% ГСБ содержание Вал, Иле, Лей, Лиз, Тре и Три в порции продукта массой 200 г достигает 15% уровня адекватного суточного потребления, требуемого для использования термина «функциональный продукт».

Для использования информации об отличительных признаках оценен макронутриентный состав продукта с массовой долей ГСБ 3%. Показатели пищевой и энергетической ценности представлены в табл. 4.

Как видно из табл. 4, продукт содержит менее 0,5 г жира на 100 г/см³, следовательно, он, согласно ГОСТ Р 55577-2013, является **обезжиренным**, а также **низкокалорийным**, так как обладает калорийностью <40 ккал (170 кДж)/100 г. С учетом норм физиологических потребностей в энергии и пищевых веществах

для различных групп населения Российской Федерации установлено, что продукт *является источником белка* для детей, подростков, женщин, а также мужчин, у которых потребность в белке не превышает 99 г/сут [22]. В таком случае количество белка в 100 г продукта составляет не менее 5% суточной потребности в белке, причем 12,5% энергетической ценности пищевого продукта обеспечивается белком. Поскольку в продукте нет добавленных углеводов, в информации об отличительных признаках согласно ГОСТ Р 55577-2013 также можно указывать, что он *содержит только натуральные сахара*.

Расчет экономических показателей, учитывающих стоимость сырья, вносимого ГСБ, производственных расходов и логистики, показал, что цена на новый продукт меньше, чем на традиционные кисломолочные продукты на основе цельного молока, что предопределяет его высокую конкурентоспособность на рынке функциональных пищевых продуктов.

На основании выполненной работы можно сделать следующее заключение: аминокислотный состав молочной основы, состоящей из смеси пахты и обезжиренного молока в соотношении 1:1, в сочетании с ГСБ (массовая доля 3%) позволяет позиционировать продукт как функциональный в отношении Вал, Иле, Лей, Лиз, Тре и Три, поскольку порция продукта массой 200 г обеспечивает 15% адекватного суточного потребления данных эссенциальных аминокислот. Также в соответствии с ГОСТ Р 55577-2013 и руководствуясь статьей 7 ТР ТС 021/2012 «О безопасности пищевой продукции», в маркировке разработанного продукта помимо пищевой и энергетической ценности есть основания включать **дополнительную** информацию:

- **обезжиренный, низкокалорийный и содержит только натуральные сахара;**
- благодаря внесению ГСБ в количестве 1–3% продукт является **источником белка** для лиц, чья потребность в белке не превышает 99 г/сут.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Сведения об авторах

Новокшанова Алла Львовна (Novokshanova Alla L.) – кандидат технических наук, доцент, доцент кафедры технологии молока и молочных продуктов ФГБОУ ВО «Вологодская государственная молочнохозяйственная академия им. Н.В. Верещагина» (Вологда, Россия)

E-mail: alnovokshanova@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-5049-1472>

Топникова Елена Васильевна (Topnikova Elena V.) – доктор технических наук, директор ВНИИМС – филиала ФГБНУ «Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН (Москва, Россия)

E-mail: topnikova.l@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0003-0225-6870>

Абабкова Анна Александровна (Ababkova Anna A.) – аспирант кафедры технологии молока и молочных продуктов ФГБОУ ВО «Вологодская государственная молочнохозяйственная академия им. Н.В. Верещагина», ведущий менеджер по качеству АО «Учебно-опытный молочный завод» ВГМХА им. Н.В. Верещагина (Вологда, Россия)

E-mail: primadonna.88@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0002-0828-3266>

Литература

1. Банникова А.В., Евдокимов И.А. Молочные продукты, обогащенные сывороточными белками. Технологические аспекты создания // Мол. пром-сть. 2015. № 1. С. 64–66.
2. Богданова Е.В., Мельникова Е.И. Гидролизаты сывороточных белков в технологии продуктов для спортивного питания // Мол. пром-сть. 2018. № 4. С. 45–47.
3. Королёва О.В., Агаркова Е.Ю., Ботина С.Г. и др. Перспективы использования гидролизатов сывороточных белков в технологии кисломолочных продуктов // Мол. пром-сть. 2013. № 7. С. 66–68.
4. Мартинчик А.Н., Маев И.В., Янушевич О.О. Общая нутрициология. М.: МЕДпресс-информ, 2005. 92 с.
5. Коденцова В.М., Вржесинская О.А., Рисник Д.В., Никитюк Д.Б., Тутельян В.А. Обеспеченность населения России микронутриентами и возможности ее коррекции. Состояние проблемы // Вопр. питания. 2017. Т. 86, № 4. С. 113–124. doi: 10.24411/0042-8833-2017-00067.
6. Боярская Л.А., Вильмс Е.А., Турчанинов Д.В. и др. Гигиеническое обоснование применения функциональных молочных продуктов в профилактике дефицита макро- и микроэлементов // Гиг. и сан. 2016. № 11 (95). С. 1095–1099.
7. Institute of Medicine, Panel on Macronutrients, and Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary Reference Intakes. Dietary reference intakes for energy, carbohydrate, fiber, fat, fatty acids, cholesterol, protein, and amino acids (Vol. 1). Natl Academy Pr., 2005.
8. Bandegan Arash. Indicator Amino Acid Derived Estimates of Dietary Protein Requirement in Exercise-Trained Individuals. 2016. Electronic Thesis and Dissertation Repository. 4055. [Электронный ресурс] URL: <https://ir.lib.uwo.ca/etd/4055>
9. Cermak N.M., Res P.T., de Groot L., Saris W.H.M., van Loon L.J.C. Protein supplementation augments the adaptive response of skeletal muscle to resistance-type exercise training: a meta-analysis // Am. J. Clin. Nutr. 2012. Vol. 96, N 6. P. 1454–1464.
10. Snijders T., Smeets J. S., van Vliet S., van Kranenburg J., Maase K., Kies A.K. et al. Protein ingestion before sleep increases muscle mass and strength gains during prolonged resistance-type exercise training in healthy young men // J. Nutr. 2015. Vol. 145. P. 1178–1184.
11. Raffi M., Chapman K., Elango R., Campbell W.W., Ball R.O., Pencharz P.B. et al. Dietary protein requirement of men >65 years old determined by the indicator amino acid oxidation technique is higher than the current estimated average requirement // J. Nutr. 2016. Vol. 146, N 4. P. 681–687.
12. Свириденко Ю.Я., Мягконос Д.С., Абрамов Д.В., Овчинникова Е.Г. Разработка технологии производства гидролизатов сывороточных белков молока с использованием мембранной техники. Часть 1. Подбор ферментного препарата для проведения гидролиза в ферментативном мембранном реакторе // Пищ. пром-сть. 2017. № 7. С. 46–48.
13. Свириденко Ю.Я., Мягконос Д.С., Абрамов Д.В., Овчинникова Е.Г. Разработка технологии производства гидролизатов сывороточных белков молока с использованием мембранной техники. Часть 2. Оптимизация технологических режимов производства гидролизатов сывороточных белков молока в ферментативном мембранном реакторе // Пищ. пром-сть. 2017. № 8. С. 40–43.
14. Абрамов Д.В., Свириденко Ю.Я., Мягконос Д.С., Овчинникова Е.Г., Кангин М.П., Кокарева Н.В. Разработка ферментативных гидролизатов сывороточных белков молока – технологии, свойства и применение. [Электронный ресурс]. URL: <http://www.dairynews.ru/processing/razrabotka-fermentativnykh-gidrolizatov-syvorotoch.html> (дата обращения: 20.01.2018).
15. Абабкова А.А., Абрамов Д.В., Новокшанова А. Л. Напиток с гидролизатом сывороточных белков молока // Мол. пром-сть. 2016. № 12. С. 58–60.
16. Новокшанова А.Л., Абабкова А. А., Иванова С. В. Определенные дозы внесения гидролизата сывороточных белков в кисломолочный продукт методом органолептической оценки // Молочнохозяйственный вестн. 2015. № 1 (17). С. 79–86.
17. Вышемирский Ф.А., Ожгихина Н.Н. Пахта: минимум калорий – максимум биологической ценности // Мол. пром-сть. 2011. № 9. С. 54–56.
18. Химия пищевых продуктов / Ш. Дамодаран, К.Л. Паркин, О.Р. Феннема (ред.-сост.); пер. с англ. СПб.: Профессия, 2012. 1040 с.
19. Тепел А. Химия и физика молока: пер. с нем. / под ред. С.А. Фильчаковой. СПб.: Профессия, 2012. 832 с.
20. Абабкова А.А., Неронова Е.Ю., Новокшанова А.Л. Исследование реологических характеристик кисломолочных створок обогащенных гидролизатом сывороточных белков // Молочнохозяйственный вестн. 2016. № 3 (23). С. 37–45.
21. МР 2.3.1.1915-04 Методические рекомендации. Рациональное питание Рекомендуемые уровни потребления пищевых и биологически активных веществ.
22. Нормы физиологических потребностей в энергии и пищевых веществах для различных групп населения Российской Федерации: методические рекомендации. МР 2.3.1.2432-08. М.: Минздрав России, 2008. 41 с.

References

1. Bannikova A.V., Evdokimov I.A. Milk products enriched with whey proteins. Technological aspects of developing. *Molochnaya promyshlennost'* [Dairy Industry]. 2015; (1): 64–66. (in Russian)
2. Bogdanova E.V., Melnikova E.I. Hydrolysates of whey proteins in the technology of products for specialized sports nutrition. *Molochnaya promyshlennost'* [Dairy Industry]. 2018; (4): 45–7. (in Russian)
3. Koroleva O.V., Agarkova E.Yu., Botina S.G., Nikolaev I.V., Ponomareva N.V., Melnikova E.I., et al. Prospects of applying whey protein hydrolysates in the fermented milk products technology. *Molochnaya promyshlennost'* [Dairy Industry]. 2013; (7): 66–8 (in Russian)
4. Martinchik A.N., Mayev I.V., Yanushevich O.O. General nutrition Research. Moscow: MEDpress-inform, 2005: 392 p.
5. Kodentsova V.M., Vrzhesinskaya O.A., Risnik D.V., Nikityuk D.B., Tutelyan V.A. Micronutrient status of population of the Russian Federation and possibility of its correction. State of the problem. *Voprosy pitaniia* [Problems of Nutrition]. 2017; 86 (4): 113–24. doi: 10.24411/0042-88 (in Russian)
6. Boyarskaya L.A., Vil'ms E.A., Turchaninov D.V., Bogdashin I.V., Erofeev Yu.V. Hygienic substantiation of application of functional dairy products in the prevention of macro- and micronutrient deficiency. *Gigiena i sanitariya* [Hygiene and Sanitation]. 2016; 11 (95): 1095–9. doi: 10.18821/0016-9900-2016-95-11-1095-1099
7. Institute of Medicine, Panel on Macronutrients, and Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary Reference Intakes. Dietary reference intakes for energy, carbohydrate, fiber, fat, fatty acids, cholesterol, protein, and amino acids (Vol. 1). Natl Academy Pr., 2005.
8. Bandegan Arash. Indicator Amino Acid Derived Estimates of Dietary Protein Requirement in Exercise-Trained Individuals. 2016. Electronic Thesis and Dissertation Repository. 4055. <https://ir.lib.uwo.ca/etd/4055>
9. Cermak N.M., Res P.T., de Groot L., Saris W.H.M., van Loon L.J.C. Protein supplementation augments the adaptive response of skeletal

- muscle to resistance-type exercise training: a meta-analysis. *Am J Clin Nutr.* 2012; 96 (6): 1454–64.
10. Snijders T., Smeets J. S., van Vliet S., van Kranenburg J., Maase K., Kies A K., et al. Protein ingestion before sleep increases muscle mass and strength gains during prolonged resistance-type exercise training in healthy young men. *J Nutr.* 2015; 145: 1178–84.
 11. Rafii M., Chapman K., Elango R., Campbell W.W., Ball R.O., Pencharz P.B., et al. Dietary protein requirement of men >65 years old determined by the indicator amino acid oxidation technique is higher than the current estimated average requirement. *J Nutr.* 2016; 146 (4): 681–7.
 12. Sviridenko Yu.Ya., Magkonosov D.S., Abramov D.V., Ovchinnikova Ye.G. The technology of whey protein hydrolysates when applying a membrane technique. Part 1. Selection of enzyme preparation for hydrolysis in an enzymatic membrane reactor. *Pishchevaya promyshlennost' [Food Industry].* 2017; (7): 46–8. (in Russian)
 13. Sviridenko Yu.Ya., Magkonosov D.S., Abramov D.V., Ovchinnikova Ye.G. The technology of whey protein hydrolysates when applying a membrane technique. Part 2. The technological optimization of whey protein hydrolysates in an enzymatic membrane reactor. *Pishchevaya promyshlennost' [Food Industry].* 2017; (8): 40–3. (in Russian)
 14. Abramov D.V., Sviridenko Yu.Ya., Myagkonosov D.S., Ovchinnikova E.G., Kangin M.P., Kokareva N.V. Development of whey proteins enzymatic hydrolysates – technology, properties and application. <http://www.dairynews.ru/processing/razrabotka-fermentativnykh-gidrolizatov-syvorotoch.html>. (date of access January 20, 2018)
 15. Ababkova A.A., Abramov D.V., Novokshanova A.L. A drink with hydrolyzed whey milk proteins. *Molochnaya promyshlennost' [Dairy Industry].* 2016; (12): 58–60. (in Russian)
 16. Novokshanova A.L., Ababkova A.A., Ivanova S.V. Inoculation dose determination of whey proteins hydrolysate into fermented milk product by means of organoleptic evaluation. *Molochnokhozyaistvennyi vestnik [Dairy Bulletin].* 2015; 1 (17): 79–86. (in Russian)
 17. Vyshemirskiy F.A., Azhgikhina N.N. Buttermilk: the minimum of calories is the maximum of biological value. *Molochnaya promyshlennost' [Dairy Industry].* 2011; (9): 54–6. (in Russian)
 18. Food Chemistry. In: Sh. Damodaran, K.L. Parkin, O.R. Fennem (eds). trans. from English. Saint Petersburg: Professiya, 2012: 1040 p.
 19. Tepel A. Chemistry and physics of milk. Saint Petersburg: Professiya, 2012: 832 p.
 20. Ababkova A.A., Neronova E.Yu., Novokshanova A.L. Studying of rheological characteristics of fermented curds enriched by the hydrolysis of whey proteins. *Molochnokhozyaistvennyi vestnik [Dairy Bulletin].* 2016; 3 (23): 37–45. (in Russian)
 21. MR 2.3.1.1915-04 Methodical recommendations. Nutrition Recommended levels of consumption of food and biologically active substances.
 22. Norms of physiological needs in energy and nutrients for various groups of the population of the Russian Federation: methodological recommendations. MR 2.3.1.2432-08. Moscow: Minzdrav RF, 2008: 41 p. (in Russian)