

## **ЖИРОВОЙ ТИП ПИТАНИЯ И ПОСЛЕДУЮЩАЯ КОРРЕКЦИЯ БИОТИКАМИ МИКРОБИОЦЕНОЗА ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА У КРЫС ПРЕПУБЕРТАТНОГО ВОЗРАСТА**

**Линецкая О.И., Нургалеева Е.А., Эткина Э.И., Фазылова А.А.**

*ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Уфа, e-mail: olineckaya@list.ru*

---

Проведен анализ взаимосвязи характера питания с преимущественным потреблением жиров (свыше 51% жиров в рационе) с биохимическими показателями сыворотки крови крыс препубертатного возраста до и после коррекции препаратом «Нормобакт». Установлено, что в группе крыс с «жировым» типом питания до коррекции микрофлоры препаратом «Нормобакт» достоверно превышали значения контроля следующие биохимические показатели крови: общий белок (на 8,9%), глюкоза (на 43,7%), общий холестерин (на 37,1%) и АЛТ (на 10,5%). Превышали значения контроля также триглицериды и ЛПНП (на 12% и 10,5% соответственно) на фоне относительно низкого содержания ЛПВП. Использование препарата «Нормобакт» достоверно приводило к снижению содержания триглицеридов, ЛПВП, ЛПНП, Apo-A1 протеина. Показатели общего белка и глюкозы соответствовали аналогичным параметрам контрольной группы

---

Ключевые слова: крысы, пребиотики, пробиотики, липидный профиль, жировая диета.

## **HIGH FAT DIET AND SUBSEQUENT CORRECTION BY GASTRO-INTESTINAL TRACT'S BIOTICS OF MICROBIOCENOSIS IN PREPUBERTAL AGE RATS**

**Linetskaya O.I., Nurgaleeva E.A., Etkina E.I., Fazylova A.A.**

*Federal State Budget Educational Institution of higher education «Bashkir State Medical University» of Health Ministry of the Russian Federation, Ufa, e-mail: olineckaya@list.ru*

---

The analysis of interconnections between the type of diet with predominant fats consumption (more than 51% of fat in the diet) with biochemical indicators of prepubertal age rats' blood serum before and after the "Normobakt" drug correction was carried out. It was found that in the group of rats with a "high fat" diet before the correction of microflora "Normobakt" drug significantly exceed the control values of the following blood biochemical parameters in control: total protein (up 8.9%), glucose (up 43.7%), total cholesterol (up 37.1%) and ALT (up 10.5%). Triglycerides and LDL (12% and 10.5%, respectively) due to the low content of HDL was exceeded too. The use of the "Normobakt" drug reliably leads to reduction of triglycerides content, HDL, LDL, Apo-A1 protein. Total protein and glucose indicators match those of the control group

---

Keywords: rat, prebiotics, probiotics lipid profile, high fat diet.

Одной из серьезных проблем, стоящих перед общественным здравоохранением в XXI веке, является детское ожирение. В мире, среди детей в период с 1980 по 2013 г., распространенность ожирения и избыточного веса выросла на 47%, причем во многих странах этот показатель стабилизировался на высоком уровне [9]. У детей с ожирением высок риск развития сопутствующих заболеваний, таких как метаболический синдром, безалкогольная жировая болезнь печени, сахарный диабет 2 типа и сердечно-сосудистые заболевания [13], они склонны к ожирению во взрослом возрасте, особенно если имеют высокий индекс массы тела или ожирением страдают их родители. В частности, у ребенка риск развития метаболического синдрома в 4 раза ниже, если родители не имеют его признаков заболевания, и в 9 раз выше при его наличии у обоих родителей. Есть свидетельства того, что среди детей с ожирением, чьи родители не страдают избыточной

массой тела, распространенность этого состояния составляет 18,2%, если же один или оба родителя имеют в анамнезе проявления метаболического синдрома, частота этого патологического состояния возрастает от 29,2% до 53,9% [14].

По мнению Everard A. (2013), помимо влияния факторов наследственности и окружающей среды, в развитии метаболических нарушений и ожирения важная роль принадлежит кишечной микробиоте [6]. Как краткосрочное, так и долгосрочное изменение рациона питания может влиять на микробные профили, а детское питание может иметь пожизненные последствия в результате бактериальной модуляции иммунной системы [12]. Избыточный вес и ожирение, а также связанные с ними болезни, в значительной степени предотвратимы, в том числе коррекция веса возможна за счет нормализации микробиоты желудочно-кишечного тракта. В литературных источниках есть сведения, что нарушение микробиоты приводит к изменениям биохимических показателей крови и последующему развитию ожирения, но данные весьма ограничены и противоречивы. Изменения метаболического профиля в подростковом периоде при избыточном потреблении пищевых жиров и коррекции жирового баланса при помощи про- и пребиотиков недостаточно изучены, хотя на отечественном рынке представлено очень большое количество их лекарственных форм. Необходимость получения дополнительных знаний о возможных механизмах действия про- и пребиотиков для развития диетических стратегий управления метаболическим синдромом является актуальной задачей фундаментальной медицины.

**Целью** данной работы явилось исследование биохимических показателей сыворотки крови крыс препубертатного периода в зависимости от характера питания и коррекции биотиками.

#### **Материал и методы исследования**

Для создания «семейной» модели ожирения использовались лабораторные крысы линии Вистар, получавшие пищу, богатую жирами животного происхождения (51% от общего рациона). После появления потомства крысята были разделены на 2 группы (грудное вскармливание лабораторных крыс продолжалось 14-16 дней). Первая группа получала пищу, богатую жирами животного происхождения, а во второй группе на фоне такого же питания проводилась коррекция препаратом «Нормобакт», включающим как про-, так и пребиотики. В его состав входят штаммы живых бактерий *Lactobacillus acidophilus* LA-5 и *Bifidobacterium* BB-12Y в соотношении 1:1. Контрольная группа животных того же возраста находилась на сбалансированном типе питания. В каждой группе содержалось по 10 крыс.

Исследования проводились в соответствии с требованиями правил проведения работ с экспериментальными животными, с соблюдением принципов гуманности, изложенных в директивах Европейского сообщества (86/609/ЕЕС) и Хельсинкской декларации. Выведение

крыс из эксперимента производилось при достижении ими препубертатного периода (6-7 недель) путем декапитации под эфирным наркозом. Для оценки уровня биохимических показателей в сыворотке крови использовался автоматический биохимический анализатор СА-400 (производство FURUNO ELECTRIC CO., LTD, Япония) с жидкими стабильными диагностическими наборами (Diasys, Германия) для определения общего белка, глюкозы, общего холестерина, аспартатаминотрансферазы (АСТ), аланинаминотрансферазы (АЛТ), триглицеридов (ТГ), липопротеинов высокой плотности (ЛПВП), липопротеинов низкой плотности (ЛПНП), Апо-А1-протеина (АпоА1П), Апо-В1-протеина (АпоВ2П). Высчитывался коэффициент атерогенности (КА).

Статистическая обработка проводилась с использованием пакета прикладных программ Statistica 6.0. Рассчитывались показатели описательной статистики (стандартные отклонения и средние значения), а также медиана (Ме) и межквартильные интервалы [25%; 75%]. Достоверность межгрупповых различий средних величин оценивали, используя U-критерий Манна-Уитни. Критической величиной уровня значимости считали 0,05.

**Результаты исследования.** Использование диеты с избытком жира преимущественно животного происхождения привело к значительному изменению показателей крови в сравнении с аналогичными значениями группы контроля (таблица). Так, общий белок увеличился на 9,04% ( $p \leq 0,05$ ), а уровень глюкозы - на 43% ( $p \leq 0,001$ ). Динамика показателей АЛТ и АСТ, характеризующих функциональное состояние печеночных клеток, показала, что значения АСТ не имели значимых отличий от нормы. Содержание АЛТ превысило контроль на 10,5% ( $p \leq 0,01$ ) в группе с жировым типом питания, однако находилось в пределах референсных значений.

Биохимические показатели крови крыс с различным типом питания и коррекцией препаратом «Нормобакт» (Ме [25; 75])

Показатель	Контроль	Жиры	Жиры нормобакт	P <sub>1</sub> *	P <sub>2</sub> **	P <sub>3</sub> ***
Общий белок, г/л	63,05 [61,80; 63,60]	68,75 [63,40; 70,40]	63,10 [62,90; 63,80]	<b><u>0,0412</u></b>	<b><u>0,0376</u></b>	0,7623
Глюкоза, ммоль/л	6,99 [6,70; 7,10]	10,05 [8,80; 10,70]	6,90 [6,80; 7,20]	<b><u>0,0004</u></b>	<b><u>0,0003</u></b>	0,7623
Общий холестерин ммоль/л	1,75 [1,60; 2,10]	2,40 [2,30; 2,50]	2,39 [2,30; 2,50]	0,8798	<b><u>0,0002</u></b>	<b><u>0,0002</u></b>
АСТ, Ед/л	172,0 [166,0; 189,0]	155,50 [112,0; 250,0]	154,50 [127,0; 180,0]	0,6501	0,5453	0,1124

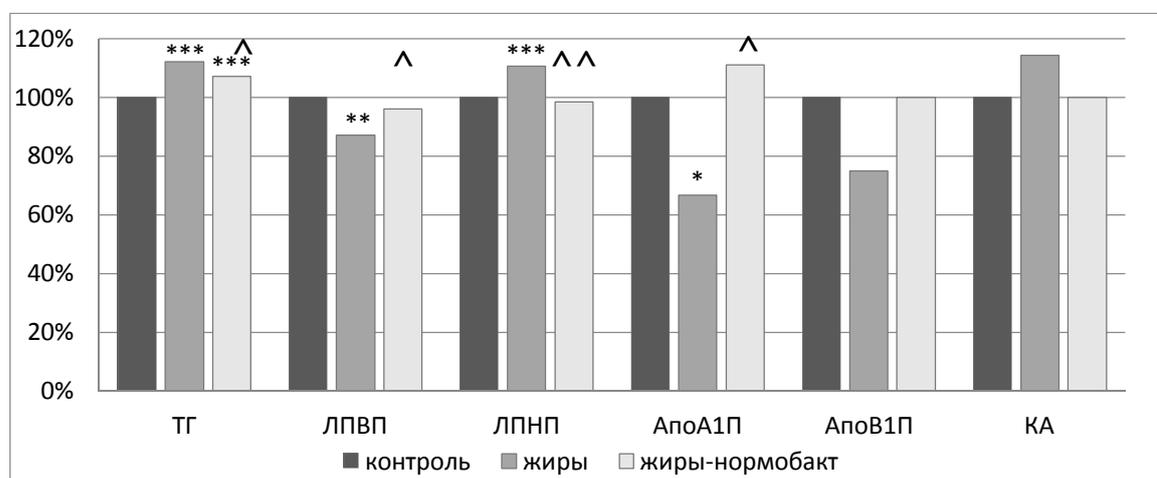
АЛТ, Ед/л	47,50 [45,0; 50,0]	52,50 [50,0; 56,0]	53,50 [50,0; 56,0]	0,9698	<u>0,0065</u>	<u>0,0101</u>
-----------	-----------------------	-----------------------	-----------------------	--------	---------------	---------------

\*P<sub>1</sub> – достоверность различий по показателям в группах жиры-коррекция препаратом «Нормобакт»;

\*\*P<sub>2</sub> - достоверность различий по показателям в группах контроль-жиры;

\*\*\*P<sub>3</sub> – достоверность различий по показателям в группах контроль-коррекция препаратом «Нормобакт».

Анализ липидного профиля в группе подопытных крыс с преимущественно жировым типом питания позволил выявить отклонения в жировом обмене организма подопытных животных. Так, уровень холестерина превысил аналогичный показатель контрольной группы на 37,1% ( $p \leq 0,001$ ), показатель триглицеридов оказался достоверно выше значений контроля на 12% ( $p \leq 0,001$ ), в то время как ЛПВП снизились на 12,9% ( $p \leq 0,01$ ) (таблица, рисунок).



*Показатели липидного профиля крыс с различным типом питания и коррекцией препаратом «Нормобакт»*

\*достоверность различий по показателям, в сравнении с группой контроля (\*  $p \leq 0,05$ ; \*\*  $p \leq 0,01$ ; \*\*\*  $p \leq 0,001$ );

^достоверность различий в группах жиры, коррекция препаратом «Нормобакт» (^  $p \leq 0,05$ ; ^^  $\leq 0,01$ )

Апо-А1-протеин (основной белок, входящий в состав липопротеидов высокой плотности) снизился на 33,4% ( $p \leq 0,05$ ), что свидетельствует о замедлении элиминации холестерина из сосудов и, соответственно, заметно увеличивает риск развития атеросклеротического поражения. Значения ЛПНП, являющиеся наиболее атерогенными липопротеинами, превысили показатели контроля на 10,5% ( $p \leq 0,001$ ), а значения Апо-В1-протеина не показали достоверно значимых различий. Коэффициент атерогенности превысил норму на 14,28%, что, однако, не явилось достоверно значимым. Таким образом, применение диеты с высоким содержанием жиров животного происхождения вызывает

существенные изменения липидного профиля крови и выраженное повышение уровня глюкозы.

Последующая коррекция выявленных нарушений препаратом «Нормобакт» привела к тому, что показатели общего белка и глюкозы крови практически приблизились к значениям группы контроля (таблица). Уровень АСТ показал тенденцию к снижению и составил 89,8% от контрольной группы, а АЛТ достоверно повысился на 12,6% ( $p \leq 0,01$ ). В значениях липидного профиля (рисунок) после коррекции препаратом «Нормобакт» произошло повышение показателя Апо-А1-протеина на 11,1% в сравнении с контролем, уровень Апо-В1-протеина практически не изменился, а ЛПВП остались ниже на 4% контрольных значений ( $p \leq 0,001$ ). После проведенной коррекции питания показатель общего холестерина практически не изменился, превышая показатели контрольной группы на 36,5% ( $p \leq 0,001$ ). Содержание триглицеридов снизилось на 5% ( $p \leq 0,001$ ), но оставалось достоверно выше значений контроля. Уровень значения ЛПНП пришел в норму.

Следовательно, применение препарата «Нормобакт» с целью нормализации микробиоты оказывало положительное влияние на биохимические показатели крови.

### **Обсуждение**

Диета с высоким содержанием жира является основным фактором, приводящим к ожирению. Экспериментальные и клинические исследования дают убедительные доказательства в поддержку этой гипотезы [3]. Однако долгосрочные рандомизированные клинические исследования, показавшие, что потребление жира в пределах от 18-40% от общего каллоража оказывает незначительное влияние на массу тела, выдвинутую гипотезу поставили под сомнение [15]. Опираясь на данные исследования, в настоящей работе использовалась диета с преимущественным потреблением жиров из расчета 51% на общую долю рациона.

Всестороннее исследование Ghibaуди с соавт. (2002) продемонстрировало изменения обмена веществ и набора массы тела крыс в зависимости от процентного содержания жиров в диете (10, 32 и 45%) [6]. Результаты приведенной работы показали, что увеличение массы тела, показателей глюкозы плазмы, общего холестерина, триглицеридов, свободных жирных кислот увеличилось дозозависимо, с увеличением доли пищевых жиров. В исследовании, где в рационе питания мышей процентное содержание жира составляло 60%, выявлено значительное увеличение массы тела, триглицеридов плазмы, общего холестерина и уровня ЛПНП [1]. В результате чрезмерного потребления жиров повышался уровень ЛПОНП, за счет которых осуществляется транспортировка триглицеридов. Высокий уровень общего холестерина, липопротеинов очень низкой плотности может привести к ожирению, дислипидемии и отложению холестерина в стенках артерий. Накопленные в печени

триглицериды способны привести к инсулинорезистентности [11]. Экспериментальная модель животных показала, что при использовании диеты с высоким содержанием жиров повышается уровень общего холестерина, ЛПНП и неэстерифицированного холестерина [2]. Другое недавнее исследование показало, что у мышей с преобладанием жиров в питании значительно увеличивалась масса тела, оказались повышенными липиды плазмы и инсулин в сравнении с характеристиками контрольной группы [11]. В нашем исследовании также отмечено, что диета с высоким содержанием жиров приводит к значительному повышению уровня глюкозы плазмы крови, а также общего холестерина, триглицеридов и ЛПНП, в свою очередь снижается уровень ЛПВП, Апо-А1-протеина.

Rashmi H. Mallappa с соавт. (2012) установили роль про- и пребиотиков в управлении весом с возможными механизмами повышения баланса микробиоты, снижения потребления пищи и степени абдоминального ожирения, а также улучшения морфофункциональной целостности слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта со снижением уровня воспалительной активности [10].

В толстом кишечнике человека находится наиболее значимое разнообразие и количество микроорганизмов, а именно до  $10^{12}$  микроорганизмов в одном миллилитре содержимого. Это, безусловно, самая высокая плотность, найденная в организме человека [4]. Подавляющее большинство микроорганизмов относится к типам *Firmicutes*, *Bacteroidetes* [5].

Известно, что диета с высоким содержанием жиров может приводить к уменьшению количества *Firmicutes* у крыс. По данным Power S.E. с соавт. (2013), это происходит в основном за счет резкого снижения количества *Lactobacillus intestinalis*. Содержание *Lactobacillus intestinalis* отрицательно коррелирует с изменением массы тела и уровнем лептина, доказывая связь снижения данного параметра с ожирением [9]. Исследования X. Zhao с соавт. (2011) показали, что количество *Lactobacillus Spp.* в дистальном отделе пищевода крыс, потреблявших пищу с высоким содержанием жира, уменьшается. В этой связи представляют интерес факты, полученные в работе Santacruz A. с соавт. (2009), обнаруживших значительное снижение уровня *Lactobacillus* в микробиоте подростков, имеющих избыточный вес [8]. Большинство исследований демонстрирует, что диета, особенно с низким содержанием клетчатки и высоким содержанием жира («западная диета»), резко негативно воздействует на микробный состав и функцию кишечника пациентов с метаболическим синдромом. Данные исследования указывают на необходимость дальнейшего изучения предполагаемых механизмов действия пробиотиков и пребиотиков для создания диетической стратегии управления метаболическим синдромом.

В нашей работе с целью коррекции выявленных нарушений применен препарат, содержащий в своем составе *Lactobacillus acidophilus* LA-5 и *Bifidobacterium* BB-12Y. После двухнедельного его применения уровень глюкозы, ЛПНП и коэффициент атерогенности достигли показателей группы контроля. Определилась тенденция к снижению уровня триглицеридов, в то время как показатели ЛПВП и Апо-А1-протеина возросли, что характеризует позитивные направления в обмене веществ.

**Заключение.** Диета с высоким содержанием жиров животного происхождения существенно изменяет биохимические показатели крови по сравнению со значениями группы контроля, в частности статистически значимо повышаются уровни триглицеридов и ЛПНП при снижении значений ЛПВП. Использование препарата «Нормобакт» приводит к нормализации основных показателей липидного профиля: ЛПВП, ЛПНП, Апо-А1, Апо-В1 протеинов, коэффициента атерогенности. Нормализация количественного и качественного состава микробиоты желудочно-кишечного тракта является одним из ключевых направлений в профилактике метаболических расстройств, вызванных чрезмерным употреблением пищи с высоким содержанием жиров животного происхождения.

#### Список литературы

1. A mouse model of metabolic syndrome: insulin resistance, fatty liver and non-alcoholic fatty pancreas disease (NAFPD) in C57BL/6 mice fed a high fat diet / J.C. Fraulob, R. Ogg-Diamantino, C. Fernandes-Santos et al. // J. Clin. Biochem. Nutrition. - 2010. - Vol. 46. – P. 212–223.
2. Bone density and hyperlipidemia: the T-lymphocyte connection / L.S. Graham, Y. Tintut, F. Parhami et al. // J. Bone Miner. Res. – 2010. - Vol. 25. – P. 2460–2469.
3. Bray G.A. Dietary fat intake does affect obesity / G.A. Bray, B.M. Popkin // Am. J. Clin. Nutrition. – 1998. - Vol. 68. – P. 1157–1173.
4. Comparative analysis of human gut microbiota by barcoded pyrosequencing / A.F. Andersson, M. Lindberg, H. Jakobsson et al. // Plos One. – 2008. - Vol. 3, № 7. – P. e2836. doi:org/10.1371/journal.pone.0002836.
5. Enterotypes of the human gut microbiome / M. Arumugam, J. Raes, E. Pelletier et al. // Nature. - 2011. - Vol. 473. – P. 174–180. doi: 10.1038 / nature09944.
6. Everard A. Diabetes, obesity and gut microbiota / A. Everard, P.D. Cani // Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol. – 2013. - Vol. 27. – P. 73–83. doi: 10.1016/j.bpg.2013.03.007.
7. Ghibaudi L.J. Fat intake affects adiposity, comorbidity factors, and energy metabolism of sprague-dawley rats / L.J. Ghibaudi, C.F. Cook // Obes. Res. – 2002. - Vol. 10. – P. 956–963.

8. Interplay between weight loss and gut microbiota composition in overweight adolescents / A. Santacruz, A. Marcos, J. Warnberg et al. // *Obesity (Silver Spring)*. – 2009. - Vol. 17. – P. 1906–1915. doi: 10.1038/oby.2009.112. pmid:19390523.
9. Intestinal microbiota, diet and health / S.E. Power, P.W. O'Toole, C. Stanton et al. // *Brit. J. Nutrition*. - 2014. - Vol. 111(3). – P. 387-402. doi: 10.1017/S0007114513002560.
10. Management of metabolic syndrome through probiotic and prebiotic interventions / H.M. Rashmi, N. Rokana, R.K. Duary et al. // *Ind. J. Endocrinol. Metab.* – 2012. - Vol. 16 (1). – P. 20–27.
11. Metabolic syndrome exacerbates inflammation and bone loss in periodontitis / Y. Li, Z. Lu, X. Zhang et al. // *J. Dent. Res.* – 2015. - Vol. 94. – P. 362–370.
12. Michael A.C. The Impact of Diet and Lifestyle on Gut Microbiota and Human Health / A.C. Michael, R. Anthony // *Nutrients*. – 2015. - Vol. 7, № 1. – P. 17–44. doi: 10.3390/nu7010017.
13. Strong Parent–Offspring Association of Metabolic Syndrome in Korean Families / E.G. Yoo, S.S. Park, S.W. Oh et al. // *Diabetes Care*. – 2012. - Vol. 35. – P. 293–295.
14. The relation of childhood BMI to adult adiposity: the Bogalusa Heart Study / D.S. Freedman, L.K. Khan, M.K. Serdula et al. // *Pediatrics*. – 2005. - Vol. 115. - P.22-27.
15. Willett W.C. Is dietary fat a major determinant of body fat // *Am. J. Clin. Nutrition*. – 1998. - Vol. 67 (3). – P. 556–562.