

**УНИВЕРСИТЕТ ПО ХРАНИТЕЛНИ ТЕХНОЛОГИИ -
ПЛОВДИВ**

**UNIVERSITY OF FOOD TECHNOLOGIES -
PLOVDIV**



**SCIENTIFIC WORKS
Volume LVII, Issue 2
Plovdiv, October 15-16, 2010**

НАУЧНА КОНФЕРЕНЦИЯ С МЕЖДУНАРОДНО УЧАСТИЕ

**“ХРАНИТЕЛНА НАУКА, ТЕХНИКА И
ТЕХНОЛОГИИ 2010”**

**‘FOOD SCIENCE, ENGINEERING AND
TECHNOLOGIES 2010’**

НАУЧНИ ТРУДОВЕ

Том LVII, Свиськ 2

Пловдив, 15 - 16 октомври 2010



ИССЛЕДОВАНИЕ БАД – ИНГИБИТОРА ПАНКРЕАТИЧЕСКОЙ ЛИПАЗЫ В УСЛОВИЯХ *IN VIVO*

Вероника Яшкина, Галина Крусир

Исследовано влияние БАД – ингибитора панкреатической липазы на массу тела крыс. Определена рациональная суточная доза БАД для крыс и рассчитана таковая для человека. Показана эффективность применения исследуемой БАД в лечении и профилактике ожирения.

RESEARCH of BIOACTIVE ADDITION – INHIBITOR of PANCREATIC LIPASE in CONDITIONS *IN VIVO*

Veronika Iashkina, Galina Krusir

Influence of bioactive addition (BAD) – inhibitor of pancreatic lipase on mass of rats' body was analyzed. Rational day's dose of BAD is determined for rats and such is calculated for a man. Efficiency of application of probed BAD is showed in treatment and prophylaxis of obesity.

Ранее было определено, что семена рапса обладают антилиполитической активностью вследствие того, что в их составе содержатся ингибиторы липазы фосфолипидной и фенольной природы [1-4]. Оба ингибитора были выделены и исследованы на предмет проявления ингибиторной активности, а также определены их физико-химические свойства [5-8]. Показано также, что фенольная составляющая семян рапса проявляет значительно большую антилиполитическую активность (АЛА), чем липиды, дальнейшие исследования проводили на фенольных соединениях. Они характеризуются низкой pH- и термостабильностью, что определяет целесообразность их стабилизации.

Следующим этапом исследования стала стабилизация ингибитора – его иммобилизация на биополимерной матрице. В результате исследования было выяснено, что наиболее рациональным носителем для ингибитора фенольной природы являются пищевые волокна пшеничных отрубей (ПВПО), обеспечивающие максимальное сохранение антилиполитической активности ингибитора, а также pH- и термостабильность, стабильность ингибитора в модельных условиях желудочно-кишечного тракта.

Результаты исследований природы взаимодействий между ингибитором и носителем показали, что при иммобилизации образуются водородные связи между ингибитором и матрицей. Ингибирование панкреатической липазы иммобилизованным препаратом фенольных соединений проходит по смешанному (двухпараметрически согласованному) типу ингибирования, так же как и ингибирование комплексом нативных фенольных соединений [7].

Разработана рецептура биологически активной добавки (БАД), обладающей совокупно ингибиторными и сорбционными свойствами.

Целью данной работы стало исследование свойств разработанной БАД в условиях *in vivo*.

Ингибиторы липаз, участвующих в расщеплении и всасывании жиров в кишечнике, в качестве лекарственных препаратов применяются для лечения ожирения, поскольку они замедляют переваривание пищевых жиров и поступление в кровь продуктов их гидролиза – свободных жирных кислот и 2-моноацилглицеринов. Поскольку в результате действия ингибитора нерасщепленные жиры не всасываются в кишечнике, а выводятся с калом, уменьшается поступление калорий в организм и происходит снижение массы тела пациентов с ожирением.

Экспериментальные исследования на животных, проведенные в лаборатории биохимической фармакологии ГП "ГНЦЛС" г. Харьков, Украина, позволили изучить влияние длительного потребления испытуемых препаратов на активность эндогенных пищеварительных ферментов.

Изучение специфической фармакологической активности БАД Ингибитор липазы (БАД ИЛ) проводили на крысах, которые, помимо основного рациона вивария, получали высококалорийное дополнение к рациону с повышенным содержанием жиров – хлеб со сливочным маслом. В результате этого создаются условия для интенсивного прироста массы тела интактных животных, в основном за счет жирового компонента рациона. Указанная диета способствует отложению жира, поскольку, как известно, липиды представляют собой наиболее концентрированный источник энергии для организма, давая в два раза больше калорий на 1 грамм, чем углеводы и белки, и обеспечивая от 1/3 до половины общего количества калорий средней диеты населения развитых стран. Помимо расщепления путем β -окисления и тем самым выработки энергии, жирные кислоты, поступая в жировую ткань, вновь ресинтезируются в триацилглицерины и запасаются в виде жировых отложений [9].

В задачу настоящего исследования входило изучение влияния образца БАД ИЛ на приrost массы тела крыс в условиях содержания на высококалорийном рационе. В копрологических исследованиях изучено влияние БАД на содержание непереваренного жира в каловых массах крыс. Проведено также установление эффективной дозы БАД.

Методы исследований

В экспериментах использовали 24 белые беспородные крысы, самцы и самки, массой тела 280-320 г. Животных распределили на 4 группы по 6 голов в каждой:

- 1 – интактный контроль;
- 2 – БАД ИЛ в дозе 90 мг/кг;
- 3 – БАД ИЛ в дозе 135 мг/кг;
- 4 – БАД ИЛ в дозе 180 мг/кг.

Животные всех групп в течение всего эксперимента в качестве дополнения к основному рациону получали хлеб со сливочным маслом из расчета 2 г масла на животное в сутки.

Введение крысам образцов БАД ИЛ осуществляли ежедневно на протяжении всего эксперимента. Образцы БАД вводили крысам натошак, перед подачей корма, внутрь, с помощью внутрижелудочного зонда, в дозах 90, 135 и 180 мг/кг массы тела. Оценку массы тела крыс и копрологические исследования проводили 1 раз в неделю – определяли исходные показатели и на 7, 14 и 21 сутки эксперимента. При

копрологических исследованиях проводили микроскопию водной суспензии кала животных с добавлением красителя Судана III, который позволяет обнаружить в кале нейтральный жир и продукты его расщепления [10]. Микроскопию проводили с помощью микроскопа Биолан. Результаты микроскопии оценивали следующим образом:

в поле зрения	
нейтральный жир отсутствует; остатки жировой пищи выделяются преимущественно в виде мыл	N (норма)
1-5 зерен нейтрального жира; 2-4 иглы жирных кислот	+
5-10 зерен нейтрального жира; 5-10 игл жирных кислот	++
более 10 зерен нейтрального жира; более 10 игл жирных кислот, расположенных радиально, венчиком	+++

Результаты исследований обработаны по методу вариационной статистики с использованием критерия Стьюдента, принимался уровень значимости $P \leq 0,05$.

В результате экспериментов установлено, что в группе интактного контроля происходил существенный прирост массы тела крыс, находящийся в пределах физиологической нормы. Так, в первую неделю прибавка в массе составила 11,6 г, во вторую – 14,2, за третью неделю – 12,5 г; всего за время эксперимента прирост составил 12,5% (табл. 1). Выраженное увеличение этого показателя связано с получаемой животными высококалорийной добавкой к стандартному рациону.

Наблюдались выраженные изменения при введении крысам БАД ИЛ. Так, уже в дозе 90 мг/кг на 2-й неделе эксперимента отмечено достоверное снижение массы тела крыс по отношению к интактному контролю. Прирост массы тела за 3 недели составил 5,8%, что в 2,2 раза ниже, чем в контроле. Введение БАД в дозе 135 мг/кг привело к более существенному эффекту: прирост массы тела в течение эксперимента был в 4,2 раза ниже, чем в контроле. При этом на 2-й неделе исследования выявлены различия и по отношению к интактному контролю, и по отношению к исходным показателям, т.е. отмечалось не только замедление темпов естественного прироста массы тела, но и некоторое снижение этого показателя. Повышение дозы БАД ИЛ до 180 мг/кг вызвало незначительное усиление эффекта. По-видимому, доза 135 мг/кг является достаточной для данных условий эксперимента.

Таблица 1 – Влияние БАД Ингибитор липазы на массу тела крыс (n = 6)

Группы животных	Масса тела, г			
	Исх.	1 нед.	2 нед.	3 нед.
Контроль	306,7 ± 5,2	318,3 ± 5,6	332,5 ± 5,6*	345,0 ± 6,1*
БАД ИЛ				
90 мг/кг	302,5 ± 6,7	309,2 ± 8,2	**315,8 ± 6,5	320,0 ± 7,2*
135 мг/кг	303,3 ± 4,4	310,0 ± 6,6	**301,7 ± 4,2	**312,5 ± 2,1
180 мг/кг	306,7 ± 7,2	310,8 ± 8,4	**300,8 ± 6,8	**310,0 ± 7,7

Обозначения: * - достоверность различия по отношению к исходным показателям;

** - достоверность различия по отношению к показателям контроля.

Копрологические исследования подтвердили результаты, полученные при оценке массы тела крыс. Так, в каловых массах животных группы контроля во все

сроки наблюдения и в опытных группах при взятии исходных показателей не был обнаружен нейтральный жир и жирные кислоты. Это указывает на нормальное функционирование пищеварительной системы и отсутствие недостаточности липолитической активности кишечника (табл. 2).

Как известно, при недостаточности липолитической активности кишечника, например, при нарушении секреции липаз в условиях панкреатита, в кале обнаруживается в основном нейтральный жир. Небольшое количество образующихся жирных кислот полностью усваивается кишечником и в кале не обнаруживается [11].

Таблица 2 – Влияние БАД Ингибитор липазы на содержание жира в каловых массах крыс (n = 6)

Группы животных	Содержание жира в каловых массах, количество "+"			
	Исх.	1 нед.	2 нед.	3 нед.
Контроль	-	-	-	-
БАД ИЛ				
90 мг/кг	-	**1,50 ± 0,22*	**1,83 ± 0,31*	**1,33 ± 0,33*
135 мг/кг	-	**1,67 ± 0,33*	**2,17 ± 0,31*	**2,00 ± 0,26*
180 мг/кг	-	**1,67 ± 0,21*	**2,33 ± 0,33*	**2,17 ± 0,31*

Обозначения: * - достоверность различия по отношению к исходным показателям;

** - достоверность различия по отношению к показателям контроля.

При введении животным БАД ИЛ были установлены существенные изменения. Зерна нейтрального жира в кале отмечались при введении БАД во всех изученных дозах. Наибольшее его количество наблюдались в сроки, соответствующие максимальному подавлению прироста массы тела, т.е. на 2-й неделе эксперимента при введении БАД в дозах 135 и 180 мг/кг. В этих условиях отмечалось порой более 10 зерен в поле зрения, редко встречались также тонкие иглы жирных кислот.

Отсутствие существенных различий в действии БАД ИЛ в дозах 135 и 180 мг/кг позволяет сделать вывод о том, что доза 135 мг/кг является достаточно эффективной и может быть рекомендована для приема человеком. При пересчете указанной дозы, с применением коэффициентов пересчета для разных видов животных и человека по Рыболовлеву Ю.Р. [12], эта доза для человека должна составить около 1,5 г в сутки.

Таким образом БАД Ингибитор липазы с активностью 170,5 ИЕ/г, оказывает дозозависимое подавляющее действие на прирост массы тела крыс за счет ингибирования расщепления жиров в кишечнике, что подтверждается увеличением содержания непереваренных нейтральных жиров в кале крыс. БАД Ингибитор липазы обладает выраженным действием, как в отношении снижения массы тела крыс, так и в плане увеличения содержания нейтральных жиров в кале.

Установлена эффективная доза БАД Ингибитор липазы с активностью 170,5 ИЕ/г, которая составила 135 мг/кг, что при пересчете на терапевтическую дозу для человека может составить около 1,5 г в сутки, то есть около 255 ИЕ.

Список литературы

1. Черно Н. К. Перспективы использования некоторых видов растительного сырья, как ингибиторов липаз [Текст] / Н. К. Черно, Г. В. Крусир, В. В. Яшкіна // Зернові продукти і комбікорми. – 2004. – № 3. – С. 15–17.
2. Черно Н. К. Исследование антилиполитической активности фенольных соединений семян рапса [Текст] / Н. К. Черно, Г. В. Крусир, В. В. Мочуляк // Зернові продукти і комбікорми. – 2007. – № 4. – С. 14–16.
3. Черно Н. К. Фенольні сполуки насіння ріпаку – інгібітори панкреатичної ліпази [Текст] / Н. К. Черно, Г. В. Крусир, В. В. Мочуляк // Товари і ринки. – 2007. – № 2. – С. 142–147.
4. Черно Н. К. Ліпіди насіння ріпаку – інгібітори панкреатичної ліпази [Текст] / Н. К. Черно, Г. В. Крусир, В. В. Мочуляк // Товари і ринки. – 2007. – № 1. – С. 152–156.
5. Дослідження механізму інгібування панкреатичної ліпази фенольними сполуками ріпаку [Текст] / Н. К. Черно, Е. В. Севастьянова, Г. В. Крусир, В. В. Яшкіна // Харч. наука і технологія. – 2008. – № 2. – С. 23–25.
6. Фосфолипиды рапса – ингибиторы липаз [Текст] / Н. К. Черно, Г. В. Крусир, Е. В. Севастьянова, В. В. Яшкіна // Сб. науч. тр. МПА. – М., 2005. – Вып. 3. – С. 327–332.
7. Chernov N. Lipids from rapeseed: composition and antilipolytic activity [Text] / N. Chernov, G. Krusir, V. Yashkina // International Scientific Conference "Food Science, Engineering and Technologies – 2008", Plovdiv, 24–25 okt. 2008. – Plovdiv, 2008. – P.261–266.
8. Черно Н. К. Фенольные вещества семян рапса: состав и антилиполитическая активность [Текст] / Н. К. Черно, Г. В. Крусир, В. В. Мочуляк / Научна конференция с международно участие "Хранителна наука, техника и технологии 2007" Научни трудове, Пловдив 19–20 октомври 2007. – Т. LIV, свитък 1. – Пловдив, 2007г. – С. 264–268.
9. Основы биохимии: в 3-х томах / А.Уайт, Ф.Хендлер, Э.Смит, Р.Хилл, И.Леман.- М.: Мир, 1981.- Т.2.- С.740–742.
10. Методические рекомендации по экспериментальному (доклиническому) изучению ферментных препаратов, улучшающих процесс пищеварения / Под ред. Н.Ф. Масловой. – 2001. – 20 с.
11. Лабораторные методы исследования в клинике / Под ред. В.В.Меньшикова- М.: Медицина, 1987.- С.73.
12. Рыболовлев Ю.Р., Рыболовлев Р.С. Дозирование веществ для млекопитающих по константам биологической активности // Докл. АН СССР.- 1979.- № 6.- С.1513–1516.

Сведения об авторах:

1. Вероника Яшкіна, канд. техн. наук, ст. инспектор отдела международных связей, Одесская национальная академия пищевых технологий, Тел. +380487189708, E-mail: misato-san81@mail.ru
2. Галина Крусир, доцент, докт. техн. наук, каф. пищевой химии, Одесская национальная академия пищевых технологий, Тел. +380487124153