

ВЛИЯНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ АОРТЫ СВИНЕЙ, НА ЖИРНОКИСЛОТНЫЙ СОСТАВ СЫВОРОТКИ КРОВИ КРЫС С МОДЕЛЬЮ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ГИПЕРЛИПИДЕМИИ

Чернуха И.М., Федулова Л.В., Котенкова Е.А.*

Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН, Москва, Россия

Ключевые слова: липиды, жирнокислотный состав, гиперлипидемия, индекс атерогенности

Аннотация

В статье приведены результаты определения индекса атерогенности (ИА) сыворотки крови крыс с моделью гиперлипидемии на основе ее жирнокислотного состава. Объектами исследования являлись коммерческая добавка к пище (БАД), содержащая смесь пептидов, выделенных из сосудов сельскохозяйственных животных (Научно-производственный центр ревитализации и здоровья (НПЦРиЗ), Россия), низкомолекулярный ультрафильтрат (НМУФ, Мм < 5 кДа) и средномолекулярный ультрафильтрат (СМУФ, Мм 5–30 кДа) экстракта аорты свиней. У крыс-самцов стока Wistar моделировали экспериментальную гиперлипидемию, по окончании моделирования животным 2 группы вводили 0,9 % раствор натрия хлорида, 3 группы — БАД, 4 группы — НМУФ, 5 группы — СМУФ, 1 группа состояла из интактных крыс, содержащихся при сходных условиях. Все исследуемые образцы вводились *per os* из расчета 0,3 мг белка/кг массы тела на протяжении 14 суток. В результате проведенного исследования было отмечено, что у крыс, получавших БАД, наблюдалось увеличение доли полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК) на 67,2 % ($P < 0,05$) на фоне снижения доли мононенасыщенных жирных кислот (МНЖК) на 29,5 % ($P < 0,05$) по сравнению с контролем, однако ИА не изменялся. Внутривенное введение НМУФ вызывало похожий эффект, что и БАД: наблюдалось увеличение доли ПНЖК в 2,5 раза ($P < 0,05$) по сравнению с контролем на фоне снижения доли МНЖК на 39,7 % ($P < 0,05$), преимущественно, за счет снижения олеиновой кислоты на 66,3 % ($P < 0,05$); относительное содержание насыщенных жирных кислот (НЖК) снизилось на 27,8 % ($P < 0,05$), в основном за счет уменьшения содержания пальмитиновой кислоты на 45,3 % ($P < 0,05$) по сравнению с контролем, что способствовало снижению ИА сыворотки крови на 56,4 % ($P < 0,05$). Внутривенное введение СМУФ не оказывало влияния на относительное содержание МНЖК, хотя и доля олеиновой кислоты была снижена на 48,0 % ($P < 0,05$), также отмечалось увеличение доли ПНЖК на 85,8 % ($P < 0,05$) по сравнению с контролем, ИА сыворотки крови снизился на 76,9 % ($P < 0,05$) по сравнению с контрольной группой также за счет уменьшения доли пальмитиновой кислоты на 78,2 % ($P < 0,05$).

Original scientific paper

THE INFLUENCE OF BIOACTIVE SUBSTANCES ISOLATED FROM PORCINE AORTA ON THE SERUM FATTY ACID COMPOSITION OF HYPERLIPIDEMIC RATS

Irina M. Chernukha, Liliya V. Fedulova, Elena A. Kotenkova*

V.M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems of Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

Key words: lipids, fatty acid composition, hyperlipidemia, atherogenic index

Abstract

Based on results of fatty acid composition in serum of hyperlipidemic rats atherogenic index (AI) was calculated. The objects of the study were a commercial bioactive additive (BAA) containing a mixture of peptides isolated from the vessels of farm animals (Scientific and Production center of Revitalization and Health (SPRH), Russia), low molecular weight (LMUF), Mm < 5 kDa and medium molecular weight (MMUF), Mm 5–30 kDa ultrafiltrates of porcine aorta extract. Experimental hyperlipidemia was stimulated in male Wistar rats. After modeling animals in group 2 consumed 0.9 % sodium chloride solution, 3 groups — BAA, 4 groups — LMUF, 5 groups — MMUF, 1 group consisted of intact rats, contained under similar conditions. All studied samples were administered *per os* in a quantity of 0.3 mg protein / kg body weight for 14 days. As a result of the study, it was noted that in serum of rats treated with BAA there was polyunsaturated fatty acids (PUFA) increase by 67.2 % ($P < 0.05$), while monounsaturated fatty acids (MUFA) was decreased by 29.5 % ($P < 0.05$) compared to the control, but there was no change in AI. *Per os* administration of LMUF caused a similar effect as BAA: there was an increase in the proportion of PUFA by 2.5 times ($p < 0.05$) compared with control, while MUFA decreased by 39.7 % ($P < 0.05$), mainly due to a reduction of oleic acid by 66.3 % ($P < 0.05$). The

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Чернуха И.М., Федулова Л.В., Котенкова Е.А. Влияние биологически активных веществ, выделенных из аорты свиней, на жирнокислотный состав сыворотки крови крыс с моделью экспериментальной гиперлипидемии. Теория и практика переработки мяса. 2018; 3(4): 16–22. DOI 10.21323/2414-438X-2018-3-4-16-22

FOR CITATION: Chernukha I.M., Fedulova L.V., Kotenkova E.A. The influence of bioactive substances isolated from porcine aorta on the serum fatty acid composition of hyperlipidemic rats. Theory and practice of meat processing. 2018; 3(4): 15–22. (In Russ.). DOI 10.21323/2414-438X-2018-3-4-16-22

relative content of saturated fatty acids (SFA) decreased by 27.8 % ($P < 0.05$), mainly due to reduction of palmitic acid content by 45.3 % ($P < 0.05$) compared to the control, which contributed to a decrease in serum AI by 56.4 % ($P < 0.05$). Per os administration of MMUF did not impact on relative content of MUFA, although the share of oleic acid was reduced by 48.0 % ($P < 0.05$), there was also an increase of PUFA content by 85.8 % ($P < 0.05$) compared with the control, serum AI reduced by 76.9 % ($P < 0.05$) compared with the control group also due to a decrease of palmitic acid by 78.2 % ($P < 0.05$).

Введение

Сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) продолжают занимать лидирующую позицию в мире как по смертности, так и по инвалидизации населения. Большинство патологий ССЗ являются следствием во время не выявленных нарушений липидного и белкового обмена, поэтому ключевым звеном борьбы с ССЗ является восстановление этих метаболических сбоев [1].

В настоящий момент разработаны биологически активные модули, содержащие растительные волокна, природные антиоксиданты, полифенолы, полиненасыщенные жирные кислоты и пр. [2,3,4]. В качестве функциональных добавок к пище последнее время стали рассматривать и пептиды животного происхождения, нативные или полученные с помощью ферментализации белков молока и мяса, обладающие гипотензивным, антиоксидантным, антимикробным, противоопухолевым, антитромбозным, липидоснижающим, опиоидным действиями, при этом наиболее изученными остаются пептиды гипотензивной направленности [5,6,7]. Однако до сих пор достаточно мало изучаются и идентифицируются тканеспецифичные вещества белковой и пептидной природы, содержащихся в соответствующих субпродуктах убоа.

Ранее авторами в аорте свиней был обнаружен ряд тканеспецифичных белков и пептидов с молекулярной массой менее 30 кДа, также было показано, что наибольшей эффективностью обладала выделенная из аорт свиней белково-пептидная фракция с молекулярной массой (Мм) менее 30 кДа [8], которая также стимулировала восстановление функций эндотелиального слоя сосудов [9]. В дальнейшем было выявлено, что вещества с молекулярной массой от 5 до 30 кДа обладали выраженным гиполлипидемическим действием, в то время как смесь пептидов с молекулярной массой менее 5 кДа проявляла более интенсивную регуляторную активность [10].

Стоит отметить, что при оценке тяжести и глубины липидных сбоев в качестве маркёров традиционно определяют такие показатели, как концентрация в сыворотке крови холестерина (ХС), триглицеридов (ТГ), липопротеинов высокой и низкой плотности (ЛПВП и ЛПНП), индекс атерогенности (ИА) [11,12]. Известно, что содержание общего ХС и ТГ могут не отличаться от нормальных, однако соотношение ЛП, в частности, превалирование атерогенных фракций, способствует развитию атеросклероза. Кроме того, сам состав ТГ, а именно преобладание определенных жирных кислот, в частности, пальмитиновой, может также способст-

вовать увеличению риска развития атеросклероза на фоне общей гиперлипидемии [14]. Таким образом, особый интерес может представлять изучение модификаций жирнокислотного состава сыворотки крови при развитии гиперлипидемии, что отображено в публикациях последних лет и является весьма значимым показателем риска развития липидных сбоев [13,14]. Поэтому целью настоящей работы было оценить изменение ЖК состава сыворотки крови крыс с моделью алиментарной гиперлипидемии, которые затем в течение 14 суток получали тканеспецифичные биологически активные вещества.

Объекты и методы

Объектами исследования являлись коммерческая добавка к пище (БАД), содержащая смесь пептидов, выделенных из сосудов сельскохозяйственных животных (НПЦРиЗ, Россия), низкомолекулярный (НМУФ, Мм < 5 кДа) и средномолекулярный (СМУФ, Мм 5–30 кДа) ультрафильтраты экстракта аорты свиней в 0,9 % растворе натрия хлорида (концентрация белка $0,9 \pm 0,1$ г/л).

Для оценки эффективности исследуемых объектов на 40 крысах-самцах стока Wistar массой 350 ± 20 г, произвольно разделенных на 4 группы, моделировали экспериментальную гиперлипидемию [15], по окончании моделирования животным 2 группы (контроль, $n = 10$) вводили 0,9 % раствор натрия хлорида, 3 группы — БАД ($n = 10$), 4 группы — НМУФ ($n = 10$), 5 группы — СМУФ ($n = 10$). 1 группа состояла из интактных крыс ($n = 10$), содержащихся при сходных условиях. Все исследуемые образцы вводились *per os* из расчета 0,3 мг белка/кг массы тела на протяжении 14 суток. По истечении эксперимента животных усыпляли в камере для эвтаназии (VETtech, Великобритания), проводили забор крови для биохимических исследований и определения жирнокислотного состава сыворотки крови.

Содержание ХС и ТГ определяли на автоматическом анализаторе BioChem FC-360 (НТИ, США) в соответствии с методиками, приложенными к реактивам (НТИ, США).

Выделение липидов из сыворотки крови осуществляли экстракцией хлороформом/метанолом по методу Фолча. Чистоту выделенных липидов проверяли методом тонкослойной хроматографии. Определение состава жирных кислот проводили на газовом хроматографе HP 6890 фирмы «Hewlett Packard». Описание методов изложено в «Руководстве по методам анализа качества и безопасности пищевых продуктов» [16],

а также в монографии «Методы практической биотехнологии. Анализ компонентов и микропримесей в мясных и других пищевых продуктах» [17]. По полученным результатам определяли содержание пальмитиновой и олеиновой кислот, количество насыщенных (НЖК), моно- (МНЖК) и полиненасыщенных (ПНЖК) жирных кислот. Расчет индекса атерогенности (ИА) сыворотки крови осуществляли по формуле, приведенной Ulbriht T.L.V. и Southgate D.A.T., (1991) [18]:

$$\text{ИА} = (\text{C12} + \text{C14} + \text{C16} + \text{Транс ЖК}) : (\text{ПНЖК} + \text{C18:1} + \text{другие МНЖК})$$

Статистический анализ проводили с использованием программы STATISTICA 10. Результаты представлялись в виде «среднее значение \pm среднее квадратическое отклонение» ($M \pm SD$). Статистическая достоверность рассчитывалась с применением однопараметрического ANOVA теста с применением критерия Тьюки при уровне значимости 0,05.

Результаты и обсуждение

По результатам биохимических исследований крови, наибольшее снижение ХС наблюдалось у животных, получавших СМУФ (группа 5) и достигало 30,1% ($P < 0,05$) по сравнению с контролем (группа 2). Концентрация ТГ во всех опытных группах значительно превышала интактный уровень более чем в 2 раза ($P < 0,05$).

Результаты определения жирнокислотного состава сыворотки крови крыс приведены в Табл. 1. Несмотря на длительное содержание животных на проатерогенной диете, у животных контрольной группы (группа 2) не наблюдалось изменений по всем оцениваемым показателям (содержание пальмитиновой и олеиновой кислот, НЖК, МНЖК, ПНЖК и ИА) в сравнении с интактной группой (группа 1).

Внутрижелудочное введение БАД не приводило к снижению ИА, содержание НЖК как и пальмитиновой кислоты оставалось также на уровне групп 1 (интакт) и 2 (контроль), однако наблюдалось увеличение доли ПНЖК на 67,2% ($P < 0,05$) по сравнению с группой 2 (контроль) на фоне снижения доли МНЖК на 29,5% ($P < 0,05$), преимущественно, за счет снижения олеиновой кислоты на 32,3% ($P < 0,05$).

У животных, которым вводили НМУФ (группа 4) и СМУФ (группа 5) было отмечено значительное снижение доли НЖК на 27,8% ($P < 0,05$) и 34,3% ($P < 0,05$), соответственно, по сравнению с контролем (группа 2), доля пальмитиновой кислоты была также снижена на 45,3% ($P < 0,05$) и 78,2% ($P < 0,05$), соответственно. Внутрижелудочное введение НМУФ (группа 4) вызвало похожий эффект, что и БАД (группа 3): наблюдалось увеличение доли ПНЖК в 2,5 раза ($P < 0,05$) по сравнению с группой 2 (контроль) на фоне снижения доли МНЖК на 39,7% ($P < 0,05$), преимущественно, за счет снижения олеиновой кислоты на 66,3% ($P < 0,05$). Внутрижелудочное введение СМУФ (группа 5) не оказывало влияния на относительное содержание МНЖК, хоть и доля олеиновой кислоты была снижена на 48,0% ($P < 0,05$), также отмечалось увеличение доли ПНЖК на 85,8% ($P < 0,05$) по сравнению с контролем (группа 2).

Отмеченные изменения в ЖК составе сыворотки крови не приводили к снижению ИА сыворотки крови крыс, получавших БАД (группа 3). Напротив, внутрижелудочное введение НМУФ (группа 4) и СМУФ (группа 5) приводило к снижению ИА на 56,4% ($P < 0,05$) и 76,9% ($P < 0,05$), соответственно, по сравнению с контрольной группой (группа 2).

При анализе соотношения НЖК:(МНЖК+ПНЖК), были получены следующие значения: группа 1 (интакт) — 1:1,15; группа 2 (контроль) — 1:1,17; группа 3 (БАД) — 1:1,23; группа 4 (НМУФ) — 1:2; группа 5 (СМУФ) — 1:2,3. При подсчете соотношения НЖК:МНЖК были получены следующие значения: группа 1 (интакт) — 1:0,73; группа 2 (контроль) — 1:0,79; группа 3 (БАД) — 1:0,57; группа 4 (НМУФ) — 1:0,66; группа 5 (СМУФ) — 1:1,19. Таким образом, основной вклад в снижение ИА вносило уменьшение доли пальмитиновой кислоты в сыворотке крови опытных животных на фоне увеличения ПНЖК.

Заключение

В результате проведенного исследования было отмечено, что длительное содержание животных на проатерогенной диете не приводило к изменению жирнокислотного состава сыворотки крови, однако внутрижелудочное введение биологически активных

Таблица 1. Результаты определения жирнокислотного состава сыворотки крови экспериментальных крыс на 14 сутки эксперимента

| № группы | Всего, г/100 г | % от суммы идентифицированных ЖК | | | | | ИА |
|----------|-------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|
| | | C16:0 | C18:1n9c | НЖК | МНЖК | ПНЖК | |
| 1 | 69,7 \pm 1,2 ^{б,в} | 19,8 \pm 0,5 ^{б,г} | 29,8 \pm 0,4 ^{б,г,е} | 45,5 \pm 0,5 ^{б,г} | 34,2 \pm 0,3 ^{б,г} | 19,2 \pm 0,3 ^{б,г,е} | 0,40 \pm 0,01 ^{б,г} |
| 2 | 73,6 \pm 0,3 ^б | 19,0 \pm 0,1 ^{б,г} | 29,4 \pm 0,4 ^{б,г,е} | 46,1 \pm 0,5 ^{б,г} | 36,3 \pm 0,4 ^{б,г} | 17,7 \pm 0,5 ^{б,г,е} | 0,39 \pm 0,01 ^{б,г} |
| 3 | 79,9 \pm 2,9 ^{б,г} | 19,5 \pm 0,6 ^{б,г} | 19,9 \pm 0,6 ^{б,г,е} | 44,8 \pm 2,0 ^{б,г} | 25,6 \pm 1,3 ^а | 29,6 \pm 2,2 ^{а,г} | 0,39 \pm 0,03 ^{б,г} |
| 4 | 58,9 \pm 1,9 ^а | 10,4 \pm 1,1 ^{а,г} | 9,9 \pm 0,5 ^{б,в,е} | 33,3 \pm 1,1 ^а | 21,9 \pm 1,8 ^б | 44,7 \pm 1,4 ^{б,в,е} | 0,17 \pm 0,02 ^{а,г} |
| 5 | 74,7 \pm 1,3 ^б | 4,1 \pm 0,3 ^{б,в} | 15,3 \pm 0,33 ^{б,д} | 30,3 \pm 0,5 ^б | 36,8 \pm 0,5 ^{б,г} | 32,9 \pm 0,4 ^{б,д} | 0,09 \pm 0,01 ^{б,в} |

^{а-б, в-г, д-е} — достоверные отличия между экспериментальными группами ($P < 0,05$)

веществ, напротив, способствовало модификации соотношения классов жирных кислот уже по истечении 14 суток эксперимента. Так, у крыс, получавших коммерческую добавку к пище, отмечалось увеличение доли ПНЖК на 67,2% ($P < 0,05$) на фоне снижения доли МНЖК на 29,5% ($P < 0,05$) по сравнению с контролем, однако ИА не изменялся. Внутрижелудочное введение низкомолекулярного ультрафильтрата экстракта аорты свиней ($M_m < 5$ кДа) вызывало похожий эффект, что и БАД, что обусловлено схожестью состава: обе добавки представляют смесь пептидов, выделенных из сосудов сельскохозяйственных животных. Однако в случае низкомолекулярного ультрафильтрата отмечалось снижение доли пальмитиновой кислоты на 45,3% ($P < 0,05$) по сравнению с контролем, что способствовало уменьшению ИА сыворотки крови на 56,4% ($P < 0,05$). Среднемолекулярный ультрафильтрат способствовал модификации жирнокислотного состава сыворотки крови опытных крыс иным образом: относительное содержание МНЖК не изменялось, хоть и доля олеиновой кислоты была сниже-

на на 48,0% ($P < 0,05$), ПНЖК увеличились на 85,8% ($P < 0,05$) по сравнению с контролем. В итоге ИА сыворотки крови снизился на 76,9% ($P < 0,05$) по сравнению с контрольной группой также за счет уменьшения доли пальмитиновой кислоты на 78,2% ($P < 0,05$). Согласно результатам исследования Титова В.Н. (2012) отмечалось, что изоформы триглицеридов, содержащих много пальмитиновой кислоты, способствуют их накоплению в адипоцитах, что, в свою очередь, ведет к увеличению в крови безлигандных и высокоатерогенных ЛПНП с плотностью ЛПОНП (липопротеины очень низкой плотности) [14]. В проведенном нами исследовании отмечалось, что внутрижелудочное введение веществ, выделенных из сосудов свиней, в диапазоне молекулярных масс от 5 до 30 кДа способствует снижению индекса атерогенности сыворотки крови именно за счет уменьшения пальмитиновой жирной кислоты, что позволяет рассматривать отмеченных белково-пептидный комплекс как перспективный для разработки на его основе пищевой добавки для лиц, страдающих от липидного дисбаланса.

Introduction

Cardiovascular diseases (CVD) continue to occupy the leading position in the world in terms of both mortality and disability. The majority of CVD cases are the result of promptly undetectable disorders of lipid and protein metabolism, therefore the key aspect of CVD prevention is the recovery of these metabolic failures [1].

At the moment modern biologically active modules were developed, which contain plant fibers, natural antioxidants, polyphenols, polyunsaturated fatty acids and *etc.* [2,3,4]. Recently, peptides of an animal origin, native or obtained by enzymatic hydrolysis of milk and meat proteins, possessing hypotensive, antioxidant, antimicrobial, antitumor, antithrombotic, lipid-lowering, opioid actions, have been considered as functional additives to food, while the most studied peptides are hypotensive [5,6,7]. However, tissue-specific substances of protein and peptide nature contained in slaughter by-products are still not well-studied.

Previously, the authors found a number of tissue-specific proteins and peptides with molecular weight less than 30 kDa in the aorta of pigs, also it was shown that the protein-peptide fraction isolated from the aorta of pigs with molecular weight (MW) less than 30 kDa [8] demonstrated the highest efficiency and also stimulated the restoration of endothelial layer in vessels [9]. Further it was found, that substances with a molecular weight from 5 to 30 kDa had a pronounced lipid-lowering effect, while mixture of peptides with a molecular weight less than 5 kDa showed more intense regulatory activity [10].

It should be noted that for assessment of the severity and depth of lipid failures, such indicators as the concentration of cholesterol (CL), triglycerides (TG), high and

low density lipoproteins (HDL and LDL), atherogenic index (AI) are traditionally determined as markers [11,12]. It is known that the content of total CL and TG may not differ from the normal, but the ratio of LP, especially the prevalence of its atherogenic fractions, contributes to the development of atherosclerosis. In addition, the composition of TG, particularly the predominance of certain fatty acids, especially, palmitic acid, may also increase the risk of atherosclerosis on the background of general hyperlipidemia development [14]. Thus, the study of modifications of serum fatty acid composition is in interest during the hyperlipidemia development. This investigation area is reflected in the publications of recent years as a very significant indicator of the risk of lipid failure [13,14]. Therefore, the aim of this work was to assess the change in the fatty acids (FA) composition in serum of hyperlipidemic rats, which then received tissue-specific biologically active substances within 14 days.

Objects and methods

The objects of the study were a commercial food bioactive additive (BAA) containing a mixture of peptides isolated from the vessels of farm animals (Scientific and Production center of Revitalization and Health (SPRH), Russia), low molecular weight (LMUF, MW < 5 kDa) and medium molecular weight (MMUF, MW = 5–30 kDa) ultrafiltrates of pig aorta extract in 0.9% sodium chloride solution (protein concentration 0.9 ± 0.1 g/L).

40 male *Wistar* rats with body mass of 350 ± 20 g were randomly divided into 4 groups and stimulated hyperlipidemia [15]. At the end of modeling animals of group 2 (control, n=10) were administered 0.9% solution of sodium chloride, 3 groups — food additive (BAA) (n=10),

group 4 — LMUF (n=10), 5 groups — MMUF (n=10). Group 1 consisted of intact rats (n=10) kept under similar conditions. All samples were administered *per os* in dose 0.3 mg protein / kg body weight for 14 days. After the experiment, the animals were euthanized (VETtech, UK), blood samples for biochemical studies and determination of fatty acid composition were taken

The content of CL and TG was determined on automatic analyzer BioChem FC-360 (HTI, USA) in accordance with the methods applied to the reagents (HTI, USA).

Serum lipids were isolated by chloroform/methanol extraction by the Folch method. The purity of the isolated lipids was tested by thin-layer chromatography. Determination of the composition of fatty acids was carried out on a gas chromatograph HP 6890 company «Hewlett Packard». The description of methods is stated in the «Manual on methods of analysis of quality and safety of food products» [16], as well as in the monograph «Methods of practical biotechnology. Analysis of components and micro-impurities in meat and other food products» [17]. Contents of palmitic and oleic acids, amounts of saturated (SFA), mono- (MUFA) and polyunsaturated (PUFA) fatty acids were determined. Calculation of atherogenic index (AI) of serum was performed according to the formula given Ulbriht T. L. V. and Southgate D. A. T., (1991) [18]:

$$AI = \frac{(C12 + C14 + C16 + TRANS\ FA)}{(PUFA + C18:1 + other\ MUFA)}$$

Statistical analysis was performed using the program STATISTICA 10. The results were presented as «mean ± standard deviation» (M ± SD). Statistical validity was calculated using a one-parameter ANOVA test using the Tukey test at a significance level of 0.05.

Results and discussion

According to the results of biochemical analysis, the greatest decrease of serum CL was observed in animals treated with MMUF (group 5) and reached 30.1% (P < 0.05) compared with the control (group 2). The concentration of TG in all experimental groups significantly exceeded the intact level by more than 2 times (P < 0.05).

The results of determination of fatty acid composition of rat serum are given in Table 1. Despite on the long-term

consumption of proatherogenic diet, in animals of the control group (group 2) there were no changes in all estimated parameters (the content of palmitic and oleic acids, SFA, MUFA, PUFA and AI) in comparison with the intact group (group 1).

Per os administration of BAA did not lead to a AI decrease, the content of SFA as well as palmitic acid remained also at the level of groups 1 (intact) and 2 (control), but there was an increase in the share of PUFA by 67.2% (P < 0.05) compared to group 2 (control), while the share of MUFA decreased by 29.5% (P < 0.05), mainly due to a reduction of oleic acid by 32.3% (P < 0.05).

Administration of LMUF (group 4) and MMUF (group 5) led to a significant decrease in the proportion of SFA by 27.8% (P < 0.05) and 34.3% (P < 0.05), respectively, compared with the control (group 2), the proportion of palmitic acid was also reduced by 45.3% (P < 0.05) and 78.2% (P < 0.05), respectively. *Per os* administration of LMUF (group 4) caused a similar effect as BAA (group 3): there was an increase in the share of PUFA by 2.5 times (P < 0.05) compared to group 2 (control), while the share of MUFA decreased by 39.7% (P < 0.05), mainly due to a reduction of oleic acid by 66.3% (P < 0.05). *Per os* administration of MMUF (group 5) had no effect on the relative content of MUFA, although the share of oleic acid was reduced by 48.0% (P < 0.05), there was also an increase in rate of PUFA by 85.8% (P < 0.05) compared with the control (group 2).

Marked changes in FA serum composition of rats receiving BAA (group 3) did not lead to decrease of AI. On the contrary, *per os* administration of LMUF (group 4) and MMUF (group 5) resulted in reduction of AI by 56.4% (P < 0.05) and 76.9% (P < 0.05), respectively, compared to the control group (group 2).

The following values were obtained when analyzing the ratio of SFA: (MUFA + PUFA) : group 1 (intact) — 1:1.15; group 2 (control) — 1:1.17; group 3 (BAA) — 1:1.23; group 4 (LMUF) — 1:2; group 5 (MMUF) — 1: 2.3. The ratios of SFA: MUFA were calculated: group 1 (intact) — 1:0.73; group 2 (control) — 1:0.79; group 3 (BAA) — 1:0.57; group 4 (LMUF) — 1:0.66; group 5 (MMUF) — 1:1.19. Thus, a decrease in the proportion of palmitic acid in rat serum made the main contribution to the reduction of serum AI, as well as increasing of PUFA.

Table 1. Results of fatty acid composition determination in rat serum on the 14th day of the experiment

| № group | Total, g/100 g | % from the amount identified FA | | | | | AI |
|---------|---------------------------|---------------------------------|------------------------------|---------------------------|---------------------------|-----------------------------|----------------------------|
| | | C16:0 | C18:1n9c | SFA | MUFA | PUFA | |
| 1 | 69.7 ± 1.2 ^{b,c} | 19.8 ± 0.5 ^{b,d} | 29.8 ± 0.4 ^{b,d,f} | 45.5 ± 0.5 ^{b,d} | 34.2 ± 0.3 ^{b,d} | 19.2 ± 0.3 ^{b,d,f} | 0.40 ± 0.01 ^{b,d} |
| 2 | 73.6 ± 0.3 ^b | 19.0 ± 0.1 ^{b,d} | 29.4 ± 0.4 ^{b,d,f} | 46.1 ± 0.5 ^{b,d} | 36.3 ± 0.4 ^{b,d} | 17.7 ± 0.5 ^{b,d,f} | 0.39 ± 0.01 ^{b,d} |
| 3 | 79.9 ± 2.9 ^{b,d} | 19.5 ± 0.6 ^{b,d} | 19.9 ± 0.6 ^{a,d,f} | 44.8 ± 2.0 ^{b,d} | 25.6 ± 1.3 ^a | 29.6 ± 2.2 ^{a,d} | 0.39 ± 0.03 ^{b,d} |
| 4 | 58.9 ± 1.9 ^a | 10.4 ± 1.1 ^{a,d} | 9.9 ± 0.5 ^{b,c,f} | 33.3 ± 1.1 ^a | 21.9 ± 1.8 ^c | 44.7 ± 1.4 ^{b,c,f} | 0.17 ± 0.02 ^{a,d} |
| 5 | 74.7 ± 1.3 ^b | 4.1 ± 0.3 ^{b,c} | 15.3 ± 0.33 ^{b,d,e} | 30.3 ± 0.5 ^c | 36.8 ± 0.5 ^{b,d} | 32.9 ± 0.4 ^{d,e} | 0.09 ± 0.01 ^{b,c} |

^{a-b, c-d, e-f} significant differences between the experimental groups (P < 0.05)

Conclusion

As a result of the study, it was noted that the long-term consumption of proatherogenic diet did not lead to a change in the serum fatty acid composition, but *per os* administration of biologically active substances, on the contrary, contributed to the modification of the ratio of fatty acid types after 14 days of the experiment. Thus, in rats receiving a commercial food additive, there was an increase in the share of PUFA by 67.2% ($P < 0.05$), while the share of MUFA was reduced by 29.5% ($P < 0.05$) compared with the control, but the AI did not change. *Per os* administration of low molecular weight ultrafiltrate of pig aorta extract ($M_w < 5$ kDa) caused a similar effect as dietary BAA, due to the similarity of the composition: both additives are a mixture of peptides isolated from the vessels of farm animals. However, in case of low molecular weight ultrafiltrate (LMUF) there was a decrease in the proportion of palmitic acid by 45.3% ($P < 0.05$) compared with the control, which contributed to a decrease in serum AI by 56.4% ($P < 0.05$). The medium-molecular weight ultrafiltrate (MMUF) contributed to the modifica-

tion of the fatty acid composition of rat serum in a different way: the relative content of MUFA did not change, although the share of oleic acid was reduced by 48.0% ($P < 0.05$), PUFA increased by 85.8% ($P < 0.05$) compared with the control. As a result, serum AI decreased by 76.9% ($P < 0.05$) compared to the control group also due to a decrease in the proportion of palmitic acid by 78.2% ($P < 0.05$). According to the results of the study Titova V.N. (2012) it was noted that the isoforms of triglycerides containing a lot of palmitic acid contribute to their accumulation in adipocytes, which leads to an increase in the blood of non-ligand and high-atherogenic LDL with a density of VLDL (very low density lipoproteins) [14]. In our study, it was noted that *per os* administration of substances isolated from pig vessels in the range of molecular weights from 5 to 30 kDa contributes to a decrease in the serum atherogenicity index mainly due to reduction of palmitic fatty acid. This observation allows us to consider the noted protein-peptide complex as a promising for the development on its basis a food additive for persons suffering from lipid disorders.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. World heart federation [Электронный ресурс: URL: <http://www.world-heart-federation.org/cardiovascular-health/cardiovascular-disease-risk-factors> Дата обращения: 04.08.2017]
2. Arihara, K. (2006). Strategies for designing novel functional meat products. *Meat science*, 74(1), 219–229.
3. Weiss, J., Gibis, M., Schuh, V., Salminen, H. (2010). Advances in ingredient and processing systems for meat and meat products. *Meat science*, 86(1), 196–213.
4. Кочеткова, А.А., Воробьева, В.М., Воробьева, И.С., Саркисян, В.А., Зорина, Е.Е., Шатнюк, Л.Н., Михеева, Г.А., Юдина, А.В. (2016). Теоретические и практические аспекты разработки специализированных пищевых продуктов для диетотерапии при сердечно-сосудистых заболеваниях. *Пищевая промышленность*, 8, 8–12.
5. Ahmmed, A.M., Muguruma, M. (2010). A review of meat protein hydrolysates and hypertension. *Meat science*, 86, 110–118.
6. Lafarga, T., Hayes, M. (2014). Bioactive peptides from meat muscle and by-products: generation, functionality and application as functional ingredients. *Meat science*, 98, 227–239.
7. Udenigwe, C.C., Howard, A. (2013). Meat proteome as source of functional biopeptides. *Food Research International*, 54, 1021–1032.
8. Chernukha, I.M., Fedulova, L.V., Kotenkova, E.A. (2015). Meat By-product is a Source of Tissue-specific Bioactive Proteins and Peptides Against Cardio-vascular Diseases. *Procedia Food Science*, 5, 50–53.
9. Чернуха, И.М., Федулова, Л.В., Котенкова, Е.А. (2016). Влияние тканеспецифичных биомолекул на дисфункцию эндотелия при атеросклерозе. *Все о мясе*, 1, 46–49.
10. Котенкова, Е.А. (2017). Изучение веществ, содержащихся в тканях аорты свиней, для создания функциональной пище-

- вой добавки. В сборнике: *Актуальные вопросы нутрициологии, биотехнологии и безопасности пищи материалы Всероссийской конференции молодых ученых с международным участием*, 182–186.
11. Lafta, M.A. (2014). A Comparative Study for Some Atherogenic Indices in Sera of Myocardial infarction, Ischemic Heart Disease Patients and Control. *Journal of Natural Sciences Research*, 4(8), 96–103.
12. Salini, A., Jeyanthi, G.P. (2014). Cardiac biomarkers and atherogenic indices in hypertensive postmenopausal women with co-morbidities. *International Journal of Pharmaceutical Research and Bio-Science*, 3(4), 389–406.
13. Liu, T. — W., Heden, T.D., Morris, E.M., Fritsche, K.L., Vieira-Potter, V.J., Thyfault, J.P. (2015). High-fat diet alters serum fatty acid profiles in obesity prone rats: implications for in-vitro studies. *Lipids*, 50(10), 997–1008.
14. Титов, В.Н. (2012). Высокое содержание пальмитиновой жирной кислоты в пище — основная причина повышения холестерина липопротеинов низкой плотности и атероматоза интимы артерий. *Атеросклероз и дислипидемии*, № 3(8), 48–57.
15. Патент № 2524127. Способ моделирования атеросклероза / Лисицын А.Б., Чернуха И.М., Федулова Л.В., Котенкова Е.А. Оpubl. 27.07.2014. Бюлл. № 21
16. Скурихин, И.М., Тутельян, В.А. (1998). Руководство по методам анализа качества и безопасности пищевых продуктов. М, Брандес: Медицина. — 341 с. ISBN5–225–02777–6
17. Лисицын, А.Б., Иванкин, А.Н., Неклюдов, А.Д. (2002). Методы практической биотехнологии. М, ВНИИМП. — 402 с.
18. Ulbricht, T.L.V., Southgate, D.A.T. (1991). Coronary heart disease: seven dietary factors. *The Lancet*, 8773, 985–992.

REFERENCES

1. World heart federation [Electronic resource: URL: <http://www.world-heart-federation.org/cardiovascular-health/cardiovascular-disease-risk-factors> Accessed: 04.08.2017]
2. Arihara, K. (2006). Strategies for designing novel functional meat products. *Meat science*, 74(1), 219–229.
3. Weiss, J., Gibis, M., Schuh, V., Salminen, H. (2010). Advances in ingredient and processing systems for meat and meat products. *Meat science*, 86(1), 196–213.
4. Kochetkova, A.A., Vorobyova, V.M., Vorobyova, I.S., Sarkisyan, V.A., Zorina, E.E., Shatnyuk, L.N., Mikheeva, G.A., Yudina, A.V. (2016). Theoretical and Practical Aspects of the Specialized Food for Diet Therapy in Cardiovascular Diseases Development. *Pisthevaya promyshlennost*, 8, 8–12.

5. Ahmmed, A.M., Muguruma, M. (2010). A review of meat protein hydrolysates and hypertension. *Meat science*, 86, 110–118.
6. Lafarga, T., Hayes, M. (2014). Bioactive peptides from meat muscle and by-products: generation, functionality and application as functional ingredients. *Meat science*, 98, 227–239.
7. Udenigwe, C.C., Howard, A. (2013). Meat proteome as source of functional biopeptides. *Food Research International*, 54, 1021–1032.
8. Chernukha, I.M., Fedulova, L.V., Kotenkova, E.A. (2015). Meat By-product is a Source of Tissue-specific Bioactive Proteins and Peptides Against Cardio-vascular Diseases. *Procedia Food Science*, 5, 50–53.
9. Chernukha, I.M., Fedulova, L.V., Kotenkova, E.A. (2016). The influence of tissue-specific biomolecules on endothelial

dysfunction in atherosclerosis. *Vsyo o myase*, 1, 46–49. (In Russian)

10. Kotenkova, E.A. (2017). The study of substances contained in porcine aorta tissues for creation of functional food additive. *Proceedings: Topical issues of nutrition, biotechnology and food safety*, 182–186. (In Russian)

11. Lafta, M.A. (2014). A Comparative Study for Some Atherogenic Indices in Sera of Myocardial infarction, Ischemic Heart Disease Patients and Control. *Journal of Natural Sciences Research*, 4(8), 96–103.

12. Salini, A., Jeyanthi, G.P. (2014). Cardiac biomarkers and atherogenic indices in hypertensive postmenopausal women with co-morbidities. *International Journal of Pharmaceutical Research and Bio-Science*, 3(4), 389–406.

13. Liu, T. — W., Heden, T.D., Morris, E.M., Fritsche, K.L., Vieira-Potter, V.J., Thyfault, J.P. (2015). High-fat diet alters serum fatty

acid profiles in obesity prone rats: implications for in-vitro studies. *Lipids*, 50(10), 997–1008.

14. Titov, V.N. (2012). High dietary content of palmitic fatty acid is the major cause of increase in low-density lipoprotein cholesterol and arterial intima atheromatosis. *Ateroskleroz i dislipidemii*, 3(8), 48–57. (In Russian)

15. Lisitsyn, A.B., Chernukha, I.M., Fedulova, L.V., Kotenkova, E.A. The method for modeling atherosclerosis Patent RF no 2524127, 2014. (In Russian)

16. Skurikhin, I. M., Tutelyan, V. A. (1998). Guide to methods of analysis of food quality and safety, M: Brandes: Meditsyna. — 341 p. ISBN 5–225–02777–6 (In Russian)

17. Lisitsyn, A.B., Ivankin, A.N., Neklyudov, A.D. (2002). Methods of practical biotechnology. M: VNIIMP.—402 p. (In Russian)

18. Ulbricht, T.L.V., Southgate, D.A.T. (1991) Coronary heart disease: seven dietary factors. *The Lancet*, 8773, 985–992.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Принадлежность к организации

Чернуха Ирина Михайловна — доктор технических наук, профессор, ведущий научный сотрудник Экспериментальной клинико-лаборатории биологически активных веществ животного происхождения, Всероссийский научно-исследовательский институт мясной промышленности имени В.М. Горбатова

109316, г. Москва, ул. Талалихина, 26

Тел.: +7–495–676–63–21

E-mail: imcher@inbox.ru

Федулова Лилия Вячеславовна — кандидат технических наук, заведующая, Экспериментальная клиника — лаборатория биологически активных веществ животного происхождения, Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН

109316, г. Москва, ул. Талалихина, 26

Тел.: +7–495–676–92–11

E-mail: l.fedulova@fncps.ru

Котенкова Елена Александровна — кандидат технических наук, старший научный сотрудник, Экспериментальная клиника — лаборатория биологически активных веществ животного происхождения, Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН

109316, г. Москва, ул. Талалихина, 26

Тел.: +7–495–676–92–11

E-mail: lazovlana92@yandex.ru

*автор для переписки

Критерии авторства

Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за плагиат

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов

Поступила 12.09.2018

AUTHOR INFORMATION

Affiliation

Irina M. Chernukha — doctor of technical sciences, professor, leading research scientist of Experimental clinic — laboratory «Biologically active substances of an animal origin», V.M. Gorbato Federal Research Center for Food Systems of Russian Academy of Sciences

109316, Moscow, Talalikhina str., 26

Tel.: +7–495–676–63–21

E-mail: imcher@inbox.ru

Liliya V. Fedulova — candidate of technical sciences, head of Experimental clinic-laboratory «Biologically active substances of an animal origin», V.M. Gorbato Federal Research Center for Food Systems of Russian Academy of Sciences,

109316, Moscow, Talalikhina str., 26

Tel.: +7–495–676–92–11

E-mail: l.fedulova@fncps.ru

Elena A. Kotenkova — candidate of technical sciences, senior research scientist, Experimental clinic-laboratory «Biologically active substances of an animal origin», V.M. Gorbato Federal Research Center for Food Systems of Russian Academy of Sciences,

109316, Moscow, Talalikhina str., 26

Tel.: +7–495–676–92–11

E-mail: lazovlana92@yandex.ru

*corresponding author

Contribution

Authors are equally relevant to the writing of the manuscript, and equally responsible for plagiarism

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest

Received 12.09.2018