

УДК 77.19.591.21

ИЗМЕНЕНИЯ В СОСТАВЕ ЖИРНЫХ КИСЛОТ ЛИПИДОВ ПЕЧЕНИ И ГОЛОВНОГО МОЗГА МЫШЕЙ ПРИ ПРИЕМЕ НАНОЛИПИДНЫХ КОМПЛЕКСОВ

© 2021 г. Н. П. Пальмина¹, *, Т. А. Мишарина¹, Н. И. Крикунова¹, А. С. Антипова¹, Е. И. Мартиросова¹, М. Г. Семёнова¹

¹Институт биохимической физики РАН, Москва, 119334 Россия

*e-mail: npalm@mail.ru

Поступила в редакцию 02.09.2020 г.

После доработки 02.10.2020 г.

Принята к публикации 02.11.2020 г.

Методом газовой хроматографии исследовали изменения в содержании жирных кислот (ЖК) в липидах печени и головного мозга 6 групп мышей в зависимости от состава липосомных наноконплексов, введенных в напиток, заменяющие воду во время длительной (3 мес.) диеты. Компонентами 6 видов наноконплексов, кроме фосфатидилхолина (ФХ), в разном сочетании служили: эфирное масло гвоздики (ЭМГ), рыбий жир (РЖ) и казеинат натрия (Каз-Na). Установлено, что, использование напитков с липосомальными наноконплексами сложного состава, включающими в себя как эссенциальные полиненасыщенные жирные кислоты (ПНЖК), так и природный антиоксидант ЭМГ и пищевой белок (Каз-Na), модифицирует состав ЖК печени и головного мозга, увеличивает содержание декозагексаеновой кислоты и значительно уменьшает отношение суммы омега-6 к сумме омега-3 ($\Sigma \omega$ -6/ $\Sigma \omega$ -3) ПНЖК. Такие изменения могут обеспечить повышение устойчивости организма к воспалительным процессам, снизить риск возникновения онкологических и нервно-психических заболеваний. Полученные результаты могут быть использованы при разработке современных систем доставки ПНЖК на основе ФХ-липосом.

Ключевые слова: нанолипосомальные комплексы, полиненасыщенные жирные кислоты, ω -3- and ω -6-полиненасыщенные жирные кислоты, $\Sigma \omega$ -6/ $\Sigma \omega$ -3 отношение, эфирное масло гвоздики

DOI: 10.31857/S0555109921020100

Биологически активные липиды, такие как полиненасыщенные жирные кислоты (ПНЖК, омега-3 и омега-6) играют важную роль в поддержании многих физиологических функций в организме млекопитающих: они необходимы для нормального роста и развития; обеспечивают энергетические потребности; входят в состав фосфолипидов клеточных мембран; являются предшественниками синтеза эндогормонов и эйкозаноидов [1–6]. ПНЖК не синтезируются в организме человека и должны поступать с пищей в достаточном количестве и в наиболее полезном для здоровья (по данным доказательной медицины) соотношении (омега-6 : омега-3 ПНЖК = 1 : 1–2 : 1) [7, 8]. Чрезмерное употребление насыщенных жиров и критическое превышение омега-6 над омега-3 ПНЖК, достигающее 15 : 1–25 : 1 в высокоиндустриальных странах, являются одной из главных причин лишнего веса и сопутствующих алиментарно-зависимых заболеваний [7]. Таким образом, включение дополнительного количества ПНЖК в рацион питания в профилактиче-

ских целях, наряду с общим снижением насыщенных жиров, является актуальным для большинства населения и может быть осуществлено с помощью функциональных продуктов питания. Серьезная проблема, с которой сталкиваются исследователи, заключается в том, что высокое содержание в ПНЖК ненасыщенных углеродных связей связано с их высокой способностью к окислению и, как следствие, накоплению пероксидов и гидропероксидов, а также токсичных продуктов их разложения, таких как летучие карбонильные продукты, снижающие вкусовые качества продуктов. Кроме того, липофильная природа ПНЖК затрудняет их введение в продукты с низким содержанием жиров. Для преодоления этих ограничений предлагается вводить ПНЖК в нужном соотношении в виде липосом с добавками природных антиоксидантов и инкапсулированием в белки или биополимеры [9, 10]. В результате комплекса исследований, выполненных *in vitro*, были получены липосомы на основе фосфатидилхолина (ФХ) или лизофосфатидилхолина (ЛФХ), со-

Таблица 1. Состав жирных кислот рыбьего жира в виде их метиловых эфиров (отн. %)

Кислота	Формула	Содержание, %
Миристиновая	$C_{13}H_{27}COOH$	5.10 +\ -0.26
Пальмитиновая	$C_{15}H_{31}COOH$	12.42 +\ -0.62
Стеариновая	$C_{17}H_{35}COOH$	3.88 +\ -0.19
Ундеценовая	$C_{10}H_{21}COOH$	7.30 +\ -0.37
Олеиновая	$C_{17}H_{33}COOH$	8.14 +\ -0.41
Октадеценовая	$CH_3(CH_2)_7CH=CH(CH_2)_7COOH$	3.87 +\ -0.19
Эйкозеновая	$C_{19}H_{37}COOH$	1.86 +\ -0.09
13-Докозеновая	$C_{21}H_{41}COOH$	1.32 +\ -0.07
Линолевая	$C_{17}H_{35}COOH$	1.07 +\ -0.05
Октадекатриеновая	$C_{17}H_{28}COOH$	2.34 +\ -0.12
Арахидоновая	$C_{19}H_{31}COOH$	1.67 +\ -0.08
Докозатетраеновая	$C_{21}H_{33}COOH$	3.40 +\ -0.17
Эйкозапентаеновая	$C_{19}H_{29}COOH$	27.63 +\ -1.38
Докозагексаеновая	$C_{21}H_{31}COOH$	20.00 +\ -1.00

держат ПНЖК в соответствующем отношении, с растительными антиоксидантами (эфирное масло гвоздики (ЭМГ), кориандра, лимона; экстракты имбиря, черного перца, корицы, душистого перца), а также казеинат натрия (Каз-Na) и мальтодекстрины. Были изучены физико-химические свойства этих сложных липосом (размер и форма, плотность, архитектура, заряд, микровязкость липидного бислоя; способность к окислению; термодинамические параметры) [11–15]. Определена биодоступность инкапсулированных липидов в процессе ферментативного гидролиза комплексов в условиях их модельного переваривания в желудочно-кишечном тракте (ротовая полость, желудок, тонкий кишечник) *in vitro* [16]. Были установлены основные взаимосвязи между структурными, а также термодинамическими параметрами супрамолекулярных комплексов и их функциональными свойствами [12, 16, 17]. Однако для того, чтобы предложить использование этих комплексов в качестве пищевых добавок необходимо проведение экспериментов *in vivo*, подтверждающих обогащение липидов органов и тканей живых организмов ПНЖК при потреблении этих продуктов.

Цель работы – установить, как введение разработанных комплексов влияет на состав жирных кислот в различных органах животных при их длительном потреблении.

МЕТОДИКА

Материалы. В работе использовали фосфатидилхолин (ФХ) (Lipoid GmbH, Германия) следующего химического состава по данным фирмы (%): фосфолипиды – фосфатидилхолин 94, фосфатидилэтаноламин 0.6, лизофосфатидилхолин 3; фосфатидилинозит 0.1; триглицериды 2; свобод-

ные жирные кислоты 0.5; α -токоферол 0.15. Содержание жирных кислот (ЖК) к общему их количеству составило (%): пальмитиновая 12–17, стеариновая 2–5; олеиновая 11–15; линолевая 59–70; линоленовая 3–7. Использовались также Каз-Na фирмы “Sigma” (Новая Зеландия); органические растворители фирмы “Merck” (Германия); ЭМГ (Plant Lipids Ltd., Индия); рыбий жир (РЖ, концентрат омега-3 “Омега-3 дети”, “Рускапс”, Россия). Содержание и состав ЖК рыбьего жира приведен в табл. 1.

Приготовление растворов липосомальных наноконструкций. В экспериментах были использованы водные растворы 6 видов липосомальных наноконструкций в качестве напитков, заменяющих воду в диете экспериментальных животных.

Диета 1: липосомы из ФХ (концентрация в растворе – 2.50 мг/мл);

диета 2: липосомы из ФХ (концентрация в растворе 2.50 мг/мл) с добавлением ЭМГ (2% от веса ФХ), весовое отношение компонентов липосомального наноконструкта: ФХ : ЭМГ = 1 : 0.02;

диета 3: липосомы из ФХ (концентрация в растворе – 1.66 мг/мл), инкапсулированные Каз-Na (концентрацией в растворе – 16.6 мг/мл), весовое отношение компонентов в липосомальном наноконструкте: ФХ : Каз-Na – 1 : 10;

диета 4: липосомы из ФХ ([ФХ] = 2.50 мг/мл) с добавлением ЭМГ (2% от веса ФХ), инкапсулированные Каз-Na ([Каз-Na] = 25.0 мг/мл), весовое отношение компонентов в липосомальном наноконструкте ФХ : ЭМГ : Каз-Na – 1 : 0.02 : 10;

диета 5: липосомы из ФХ ([ФХ] – 1.66 мг/мл) с добавлением рыбьего жира, ([РЖ] = 1.66 мг/мл), инкапсулированные Каз-Na ([Каз-Na] в растворе – 33.3 мг/мл), весовое отношение компонентов в липосомальном наноконструкте ФХ : РЖ : Каз-Na = 1 : 1 : 20;

диета 6: липосомы из ФХ ([ФХ] = 1.66 мг/мл) с добавлением рыбьего жира [РЖ] = 1.66 мг/мл) и ЭМГ (2% от веса ФХ + РЖ), инкапсулированные Каз-На ([Каз-На] 33.3 мг/мл). Весовое отношение компонентов в липосомальном наноконплексе: ФХ : РЖ : ЭМГ : Каз-На – 1 : 1 : 0.02 : 20.

Приготовление липосом. Липосомы ФХ с добавлением ЭМГ и/или РЖ готовили по следующей методике. В стерилизованную при 110°C (30 мин) стеклянную емкость вносили необходимые навески ФХ, ЭМГ, РЖ, добавляли расчетное количество бидистиллированной воды. Смесь диспергировали в воде при помощи трехкратной механической гомогенизации, используя гомогенизатор (Heidolph, Германия), в течение 2 мин при 20000 об./мин. Полученную водную дисперсию ФХ/ЭМГ/РЖ дополнительно обрабатывали ультразвуком для получения наноразмерных липосомных комплексов, используя при этом ультразвуковой гомогенизатор VCS-130 (“Sonics & Materials”, США) в предварительно подобранном режиме: озвучивание в течение 5 мин при 40% мощности сигнала (отношение времени озвучивания к времени без озвучивания 30 : 30 с). При обработке образец охлаждали во льду. Для получения наноразмерных липосомных комплексов такой режим обработки ультразвуком повторяли 7 раз. После этого полученные водные растворы липосомных комплексов ФХ/ЭМГ/РЖ центрифугировали в стерильных центрифужных пробирках в течение 30 мин при 1800 g для удаления металлической стружки от ультразвукового зонда. Инкапсулирование белком Каз-На приготовленных липосом (ФХ/ЭМГ/РЖ) проводили смешиванием их растворов в стерильных (110°C, 30 мин) бутылочках для кормления с последующим их встряхиванием (165 об./мин) в шейкер-инкубаторе GFL 3032 (GFL, Германия) при 40°C в течение 1 ч. После этого повышали температуру в шейкер-инкубаторе до 63°C и пастеризовали все приготовленные растворы в течение 30 мин при продолжающемся встряхивании (165 об./мин).

Все растворы липосомных наноконплексов готовили на 2 сут из расчета их потребления одной мышью в объеме 7 мл ежедневно.

Животные и дизайн эксперимента. 50 мышей линии F1(C57blxDBA2\6) весом (18–20) г из вивария питомника “Столбовая” (филиал Столбовая ФГУ НЦ биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства, Московская область, Чеховский район, Россия) были разделены на 8 групп по 6–7 мышей в каждой группе. Мыши содержались на диете в течение 92 сут. Первая группа животных (7 шт.) получала общевиварный рацион, печень и головной мозг были взяты в первый день эксперимента; 2 группа (6 шт.) получала диету 1; 3 группа (6 шт.) – диету 2; 4 группа (6 шт.) – диету 3, 5 группа (6 шт.) – диету

4; 6 группа (6 шт.) – диету 5; 7 группа (6 шт.) – диету 6; 8 группа (7 шт.) содержалась на общевиварном рационе все 92 сут эксперимента. Через 92 сут после начала приема различных диет животные были подвергнуты декапитации, а ткани печени и головного мозга были взяты для исследования состава их ЖК.

Выделение липидов из печени и мозга. Экстракцию липидов из тканей печени и головного мозга проводили по методу Фолча в модификации Кейтса [19]. Хлороформенные экстракты липидов хранили при температуре –18°C под аргоном. Перед определением состава ЖК хлороформ удаляли в вакууме и получали чистые липиды, которые далее использовали для анализа.

Определение состава жирных кислот. Определение жирнокислотного состава клеток печени и мозга проводили методом газожидкостной хроматографии [19]. Из выделенных липидов получали метиловые эфиры жирных кислот путем метанолиза. К липидам (около 100 мг), помещенным в стеклянные пробирки с герметично завинчивающейся пробкой, добавляли по 5 мл метанола, оставляли в холодильнике на 1 ч, затем при охлаждении и интенсивном перемешивании добавляли 200 мкл ацетилхлорида и кипятили на водяной бане 1 ч. К образцу добавляли 5 мл 6%-ного водного раствора K₂CO₃, встряхивали, добавляли 2 мл гексана и экстрагировали метиловые эфиры жирных кислот (МЭЖК) встряхиванием в течение 5 мин, затем центрифугировали при 750 g 5 мин. Гексановую фазу, содержащую МЭЖК, анализировали на хроматографе “Кристалл 2000 М” (Кристалл, Россия) с пламенно-ионизационным детектором и кварцевой капиллярной колонкой DB-1 (50 м × 0.32 мм, слой фазы 0.25 мкм (Supelco, США). Анализ проводили при программировании температуры колонки от 120 до 270°C со скоростью 4°C/мин при температуре инжектора и детектора 270°C. Количественное содержание МЭЖК в образцах рассчитывали по отношению площади пика соответствующей кислоты к сумме площадей выбранных пиков (%).

Математическая обработка результатов. Математическую обработку проводили с помощью программ Microsoft Excel 2007 и Origin Pro 8. Стандартное отклонение средних величин из 3 измерений не превышало 5% (относительных). Достоверность различий между группами оценивали по критерию Манна-Уитни.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Основная задача работы состояла в изучении изменения состава жирных кислот липидов печени и головного мозга мышей после приёма ими в течение 3 мес. различных липосомальных наноконплексов, содержащих ПНЖК, в виде напит-

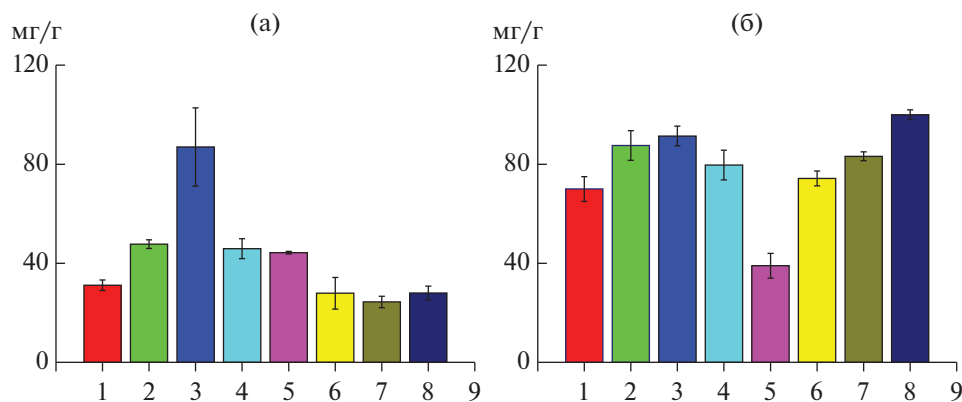


Рис. 1. Изменение содержания общих липидов (мг/г) в ткани печени (а) и головного мозга (б) мышей линии F1(СВАхС57bl\6) в зависимости от поддерживаемой в течение 3 мес. диеты. По оси X – номера групп животных, получавших различную диету (см. раздел Методика).

ков. Основным источником ПНЖК служил РЖ, для доставки которого использовали липосомы из ФХ, защищенные от окисления ЭМГ, антиокислительные свойства которого обусловлены наличием полифенола эвгенола и были хорошо изучены ранее [13, 14]. Растворимость в водной среде обеспечивали инкапсулированием липосом Каз-На. Ранее было установлено, что ЭМГ в сочетании с Каз-На способен защищать ПНЖК в составе липосом от окисления даже при температуре 60°C [13]. В эксперименте использовали 50 мышей – самок линии F1(СВАхС57bl\6) из питомника “Столбовая” (филиал Столбовая ФГУ Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства, Московская обл., Россия), которые получали следующую диету: 1 группа – контроль, возраст 2 мес., вес 20–22 г (7 шт.); 2 – мыши, получавшие липосомы из ФХ (6 шт.); 3 – мыши, получавшие липосомы из ФХ с ЭМГ (6 шт.); 4 – мыши, получавшие липосомы из ФХ, инкапсулированные Каз-На (6 шт.); 5 – мыши, получавшие липосомы (ФХ + ЭМГ) инкапсулированные Каз-На (6 шт.); 6 – мыши, получавшие липосомы (ФХ + РЖ) инкапсулированные Каз-На (6 шт.); 7 группа – мыши, получавшие липосомы (ФХ + РЖ + ЭМГ), инкапсулированные Каз-На – 6 шт.; 8 – мыши, получавшие воду в течение 3 месяцев (7 шт.). Через 3 мес. животные были подвергнуты декапитации, из печени и головного мозга были проэкстрагированы липиды, в которых методом газовой хроматографии был определен состав жирных кислот. На рис. 1 приведены данные о среднем количестве общих липидов/г исследованной ткани печени (а) и головного мозга (б).

Из рис. 1 следует, что у контрольных мышей по мере увеличения их возраста (группа 1-животные в возрасте 2 мес., группа 8 – в возрасте 5 мес.) достоверно не изменялось содержание общих липидов печени и увеличивалось в головном мозге в

расчете на 1 г сырой ткани. Так как животные остальных опытных групп были использованы в эксперименте через 3 мес. после его начала, то полученные величины следует сравнивать с группой 8. В печени наибольшие и статистически достоверные различия ($p < 0.05$) получены для 2, 3, 4 и 5 групп, в которых наблюдалось увеличение содержания общих липидов как по сравнению с 8, так и с 1 группами. Показатели для 6 и 7 групп достоверно не отличались от 1 и 8 групп. То есть, диеты с липосомами, не содержащими РЖ, увеличивали содержание общих липидов в ткани печени, в то время как липосомы, состоящие из тех же ингредиентов и РЖ (6 и 7 группы) имели такое же содержание общих липидов, как контрольные животные в 1 и 8 групп. Таким образом, мы установили, что старение животных сопряжено со статистически достоверным ($p < 0.05$) увеличением в головном мозге содержания общих липидов (8 группа по сравнению с 1), а использование диет, содержащих липосомы с РЖ (6 и 7 группы), снижает эту величину и приближает ее к норме контрольных 2-месячных мышей. Наибольшие отклонения от значений для 8 и даже 1 групп были получены при использовании липосом из ФХ с ЭМГ, инкапсулированных Каз-На (5 группа). Можно заключить, что использование липосом, содержащих РЖ, благоприятно сказывается на общем содержании липидов в печени и головном мозге животных.

Основная же задача эксперимента заключалась в ответе на вопрос о том, как изменяется состав ЖК в липидах печени и головного мозга мышей после длительного получения различных липосомальных диет. Состав ЖК липидов печени приведен в табл. 2. Из таблицы видно, что увеличение возраста опытных животных с 2 до 5 мес. (1 и 8 группы, соответственно) сопровождалось возрастанием суммы мононенасыщенных жирных кислот (Σ МНЖК) на 9.5%; уменьшением со-

Таблица 2. Состав и содержание жирных кислот в виде их метиловых эфиров (отн. %) в липидах печени в контрольной и в опытных группах мышей (1–8)

Кислота	1	2	3	4	5	6	7	8
16:0	23.8	25.9	23.8	21.4	23.8	27.2	26.0	23.2
17:0	0.2	0.2	0.3	0.4	0.2	0.2	0.2	0.2
18:0	11.4	8.1	8.5	8.3	7.8	9.8	9.7	8.5
20:0	0.2	0.2	0.2	0.9	0.3	0.2	0.2	0.2
22:0	0.2	0.2	0.1	3.5	0.1	0.3	0.9	1.3
23:0	0.1	0.1	0.2	0.3	0.4	0.1	0.2	0.1
24:0	0.2	0.2	0.1	0.2	0.2	0.2	0.2	0.1
Σ НЖК	36.1	34.9	33.2	35.0	32.8	38.0	37.4	33.6
16:1ω9	0.2	0.3	0.3	0.4	0.3	0.3	0.3	0.3
16:1ω7	2.4	2.7	2.3	2.0	3.0	1.8	1.9	2.5
18:1ω9	23.3	31.8	32.4	25.6	31.9	26.3	25.2	31.6
18:1ω7	3.7	4.0	3.9	3.7	4.3	3.1	3.5	4.2
20:1ω9	0.4	1.3	0.9	0.9	1.2	0.3	0.2	1.0
20:1ω7	0.1	0.3	0.1	0.2	0.2	0.1	0.1	0.1
24:1ω9	0.4	0.3	0.3	0.3	0.3	0.4	0.1	0.3
Σ МНЖК	30.5*	40.7*	40.2*	33.1**	41.2*	32.3**	31.3**	40.0* **
18:3ω6	0.1	0.1	0.2	0.2	0.2	0.1	0.1	0.1
18:2ω6	13.7	12.3	13.9	14.3	11.2	13.7	14.2	11.7
20:4ω6	9.7	7.0	7.2	8.9	6.2	6.1	6.6	8.2
20:3ω6	1.2	0.7	0.6	1.3	0.8	1.2	0.9	1.5
20:2ω6	0.2	0.2	0.3	0.4	0.2	0.1	0.3	0.2
22:5ω6	0.1	0.1	0.1	1.8	3.0	3.5	0.3	0.2
22:6ω3	6.7 *	3.6	4.0	4.5	4.1	4.3	8.6 **	4.2 * **
22:4ω6	1.6	0.3	0.2	0.4	0.2	0.3	0.2	0.2
22:5ω3	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.4	0.1	0.1
Σ ПНЖК	33.4*	24.4*	26.6*	31.9**	26.0	29.7	31.3**	26.4* **
Σ ω3	6.8*	3.7	4.1	4.6	4.2	4.7	8.8**	4.3* **
Σ ω6	26.6	20.7	22.5	27.3	21.8	25.0	22.6	22.1
Σ ω6 \ ω3	3.9118*	5.5946	5.4878	5.9348	5.1905	5.3192	2.5682***	5.1396* **

Примечание: 1-контрольные животные в возрасте 2 мес.; 2–7-опытные животные, получавшие различную нанолипосомальную диету в течение 92 дней (см. раздел Методика); 8 – контрольные животные в возрасте 5 мес. **p* < 0.05 при сравнении с контролем 1 группы; ***p* < 0.05 при сравнении с контролем 8 группы.

держания суммы полиненасыщенных жирных кислот (Σ ПНЖК) на 7%, в том числе докозагексаеновой (ДГК 22:6 ω-3) кислоты в 1.5 раза. Аналогичные данные были получены в работах [20, 21]. Использование липосомальных комплексов в группах 4 и 7 приближало содержание Σ МНЖК и Σ ПНЖК к норме, соответствующей 2-месячным животным. Особенно значительными являются изменения в содержании Σ ω-3 ПНЖК, которое увеличивалось в 7 группе, принимающей нанокомплексы из ФХ + РЖ + ЭМГ + Каз-Na, в 2 раза по сравнению с контрольной 8 группой и в 1.3 раза по сравнению с молодыми животными (1 группа). Столь же большое увеличение в этих же группах зафиксировано и для ДГК. Таким образом, можно констатировать, что использование сложных нанокомплексов, содержащих наряду с ФХ и РЖ как ЭМГ, так и Каз-Na, дает наилучший результат по обогащению липидов печени Σ ω-3 ПНЖК.

В табл. 3 представлены данные по составу ЖК липидов головного мозга мышей в зависимости

от использованной липосомальной диеты. Из таблицы следует, что, в отличие от липидов печени, в головном мозге мышей возрастные изменения практически не выражены, что неудивительно, так как известно, что липидный обмен в головном мозге идет более медленно [22, 23]. Однако и в этом органе прием нанолипосомальных комплексов оказывал влияние на состав ЖК: в группах 3, 5 и 7 снижалась Σ НЖК, в группах 3 и 5 увеличивалась Σ ПНЖК, а также ДГК. Так как высокое содержание Σ НЖК и низкое – Σ ПНЖК и ДГК приводит к ожирению, сердечно-сосудистым и нервно-психическим заболеваниям [24–28], корректирующее влияние приёма водорастворимых нанолипосомальных комплексов, особенно содержащих ЭМГ, следует признать благоприятным фактом. Поскольку исходно мы ставили перед собой задачу увеличения относительного содержания ДГК в липидах, можно сказать, что она выполнена для липидов печени, в головном мозге также отмечена тенденция к желаемым изменениям.

Таблица 3. Состав и содержание жирных кислот в виде их метиловых эфиров (отн. %) в липидах головного мозга в контрольной и в опытных группах мышей (1–8)

Кислота	Группы животных							
	1	2	3	4	5	6	7	8
16:0	21.1	19.8	16.3	17.6	13.9	19.3	18.6	18.4
17:0	0.3	0.8	0.2	0.3	0.6	0.4	0.2	0.5
18:0	21.2	18.8	16.2	17.7	16.0	19.9	16.4	19.6
20:0	0.6	0.6	0.6	0.6	0.9	0.6	0.5	0.5
22:0	0.4	0.2	0.9	0.7	0.5	0.6	0.3	1.9
23:0	0,4	0,1	0,1	0,2	0,2	0,1	0,1	0,1
24:0	0.8	1.2	1.3	1.3	0.6	1.6	1.9	0.4
Σ НЖК	44.8	41.5	38.9**	41.2	34.6**	42.5	38.0	41.4**
16:1ω9	0.6	0.4	0.4	0.5	0.5	0.7	0.5	2.5
18:1ω9	16.2	14.2	13.2	15.6	14.6	17.0	13.8	16.3
18:1ω7	4,0	2.9	2.8	4.1	3.1	3.8	3.2	3.8
20:1ω9	1.6	2.4	2.4	2.6	2.8	2.2	2.0	2.3
20:1ω7	0.3	0.5	0.6	0.5	0.8	0.2	1.8	0.2
22:1ω9	0.4	4.9	5.8	3.4	7.3	0.5	1.6	0.2
22:1ω7	0.4	0.2	0.2	0.2	0.1	0.1	0.1	0.1
24:1ω9	1.8	4.0	4.1	3.9	3.0	4.9	4.9	2.8
Σ МНЖК	25.3	29.5	29.1	30.8	32.2	29.4	27.9	28.2
18:2ω6	0.8	0.9	0.9	0.7	0.8	1.2	0.6	0.6
20:4ω6	9.5	8.4	8.5	8.4	9.6	7.7	7.0	9.9
20:3ω9	0.4	0.4	0.4	0.3	0.4	0.1	0.2	0.5
20:2ω9	0.1	0.1	0.1	0.1	0.2	0.1	0.1	0.1
20:2ω6	0.1	0.1	0.1	0.1	0.2	0.1	0.1	0.1
22:6ω3	16.2	13.5	18.5	14.7	18.9	16.1	14.4	16.4
22:4ω6	3.3	2.7	3.5	3.7	3.1	2.6	2.4	3.2
Σ ПНЖК	30.4	29.3	32.0	28.0	33.2	27.3	24.8	30.9
Σ ω3	16.2	13.5	18.5	14.7	18.9	16.1	14.4	16.4
Σ ω6	13.7	12.1	13.0	12.9	13.7	11.6	10.1	13.20
Σ ω6/Σ ω3	0.8457	0.8963	0.7027	0.8476	0.7249**	0.7205**	0.7014**	0.8049**

Примечание: 1–контрольные животные в возрасте 2 мес.; 2–7–опытные животные, получавшие различную нанолипосомальную диету в течение 92 сут (см. “Методика”); 8 – контрольные животные в возрасте 5 мес. $p < 0.05$ при сравнении с контролем 1 группы; ** $p < 0.05$ при сравнении с контролем 8 группы.

Учитывая более низкий метаболизм липидов в этом органе, можно полагать, что при более длительном приеме липосомальных комплексов можно достигнуть более выраженных изменений и здесь. Необходимо при этом подчеркнуть, что те увеличения в содержании ДГК, которые были получены нами для липидов печени, сопоставимы с результатами, полученными другими авторами при использовании диет, обогащенных ДГК в гораздо большей степени [29, 30]. По-видимому, это может быть связано с использованием именно липосомальных нанокомплексов, так как по результатам, полученным в работе [31], ФХ увеличивает включение ДГК в липиды мембран. Значительного увеличения ДГК в головном мозге не удавалось достичь и тем экспериментаторам, которые использовали высокие концентрации ДГК в применяемой диете [24, 32, 33].

Необходимой стадией при развитии ряда заболеваний: атеросклероза, сердечно-сосудистых и когнитивных нарушений, злокачественных ново-

образований [34–37] является воспаление и окислительный стресс. Установлено, что ω-6-ПНЖК являются предшественниками провоспалительных гормонов [38], а ω-3-ПНЖК участвуют в формировании противовоспалительного ответа организма [36, 38], поэтому для оценки потенциальной способности противовоспалительной активности тех или иных воздействий на организм используется такой критерий, как влияние этих воздействия на соотношение $\Sigma \omega-6/\Sigma \omega-3$ в органах и тканях [30, 37–39]. На основании полученных результатов по анализу состава ЖК липидов печени и головного мозга для всех групп животных, использованных в эксперименте, были вычислены эти соотношения. Результаты приведены в табл. 2 и 3. Из них видно, что увеличение возраста животных приводило к увеличению этого соотношения в липидах печени в 1.3 раза и не влияло на него в липидах головного мозга. Использование нанокомплексов на 15% снижало это отношение в липидах головного мозга мышей

в группах 3, 5, 6 и 7. В липидах печени использование липосомального наноконплекса (ФХ + РЖ + ЭМГ + Каз-На) уменьшало этот показатель в 2 раза. Таким образом, на основании полученных результатов можно сделать заключение о том, что наибольшим эффектом обладал сложный липосомальный наноконплекс (ФХ + РЖ + ЭМГ + Каз-На), который сочетает в себе сразу целый ряд полезных свойств: высокое содержание длинноцепочечных ПНЖК, хорошую защищённость от окисления природным антиоксидантом и белком, водорастворимость и хорошую всасываемость в желудке и кишечнике. Особенно следует подчеркнуть, что наряду с сопоставимым эффектом на уровень индивидуальных ПНЖК и биодоступность, применение данного липосомального комплекса значительно превышало влияние ранее используемых пищевых диет на соотношение $\Sigma \omega\text{-}6/\Sigma \omega\text{-}3$ [37–39]. Можно полагать, что использование такого наноконплекса будет способствовать повышению противовоспалительного статуса организма, а, следовательно, снижать риск целого ряда заболеваний.

Таким образом, показано, что, используя напитки с липосомальными наноконплексами сложного состава, включающими в себя как эссенциальные ПНЖК, так природный антиоксидант и пищевой белок, можно модифицировать состав ЖК печени и головного мозга, увеличить содержание ДГК и значительно уменьшить $\Sigma \omega\text{-}6/\Sigma \omega\text{-}3$ ПНЖК, что обеспечит повышение устойчивости организма к воспалительным процессам, снизит риск возникновения онкологических и невропсихических заболеваний. Полученные результаты могут быть использованы при разработке современных систем доставки различных нутрицевтиков на основе ФХ-липосом, так как помимо основного влияния на состав ПНЖК способ введения их в организм млекопитающих в виде водорастворимых напитков более удобен, чем применение масел.

Работа выполнена в рамках Госзадания № 1201253307.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Исследования выполнялись согласно Правилам лабораторной практики в Российской Федерации, в соответствии с правилами, принятыми Европейской Конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей (European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and other Scientific Purposes (ETS 123), Strasburg, 1986) согласно утвержденному письменному протоколу, в соответствии со стандартными операционными процедурами исследователя (СОП), а также с Руководством по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских ис-

следованиях [40]. Люди в качестве объектов исследования не выступали.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Saini R.K., Keum Y.S. // Life Sciences. 2018. V. 203. № 1. P. 255–267.
2. Fuentes Natividad R., Kim Eunjio, Fan Yang-Yi, Chapman Robert S. // Molecular Aspects of Medicine. 2018. V. 64. № 1. P. 79–91.
3. Mensink R.P., Zock P.L., Kester A.D., Katan M.B. // Am. J. Clin. Nutr. 2003. V. 77. № 5. P. № 1146–1155.
4. Calder P.C. // Eur. J. Pharmacol. 2011. V. 668. Suppl. 1.1. P. 50–58.
5. Banni S., Di Marzo V. // Mol. Nutr. Food Res. 2010. V. 54. № 1. P. 82–92.
6. Wassall S.R., Stillwell W. // Biochim. Biophys. Acta. 2009. V. 1788. № 1. P. 24–32.
7. Candela G.C., Bermejo L.L. M., Loria K.V. // Nutr. Hosp. 2011. V. 26. № 2. P. 323–330.
8. Максимов В.И. // Пища и дегенеративные болезни. М.: Миклош, 2004. С. 232.
9. Semenova M.G., Dickinson E. // Biopolymers in Food Colloids: Thermodynamics and Molecular Interactions. Leiden, Boston: Brill, 2010. P. 356.
10. McClements D.J. // Nanoparticle- and Microparticle-based Delivery Systems. Encapsulation, Protection and Release of Active Compounds. London, N.Y.: Taylor & Francis Group, 2015. P. 548.
11. Semenova M.G., Antipova A.S., Zelikina D.V., Martirosova E.I., Plashchina I.G., Palmira N.P., Binyukov V.I., Bogdanova N.G., Kasparov V.V., Shumilina E.A., Ozerova N.S. // Food Research International. 2016. V. 88. № 1. P. 70–78.
12. Semenova M.G., Zelikina D.V., Antipova A.S., Martirosova E.I., Grigorovich N.V., Obushaeva R.V., Shumilina E.A., Ozerova N.S., Palmira N.P., Maltseva E.L., Kasparov V.V., Bogdanova N.G., Krivandin A.V. // Food Hydrocolloids. 2016. V. 52. № 1. P. 144–160.
13. Сажина Н.Н., Антипова А.С., Семенова М.Г., Пальмина Н.П. // Биоорганическая химия. 2019. Т. 45. № 2. С. 193–201.
14. Семёнова М.Г., Антипова А.С., Пальмина Н.П., Мишарина Т.А., Мартыросова Е.И., Зеликина Д.В., Крикунова Н.И., Каспаров В.В., Бинюков В.И., Богданова Н.Г., Чеботарёв С.А., Гуреева М.Д. // Химическая физика. 2019. Т. 38. № 12. С. 38–43.
15. Semenova M.G., Zelikina D.V., Antipova A.S., Martirosova E.I., Palmira N.P., Chebotarev S.A., Samuseva Y.V., Bogdanova N.G., Kasparov V.V. // Food Hydrocolloids. 2020. V. 105. № 1. 105803.
16. Semenova M.G., Antipova A.S., Anokhina M.S., Belyakova L.E., Polikarpov Y.N., Gigorovich N.V. et al. // Food & Function. 2012. V. 3. № 3. P. 271–282.
17. Semenova M.G., Antipova A.S., Belyakova L.E., Polikarpov Y.N., Anokhina M.S., Grigorovich N.V. et al. // Food Hydrocolloids. 2014. V. 42. № 1. P. 149–161.

18. Кейтс М. Техника липидологии. Выделение, анализ и идентификация липидов. М.: Мир., 1975. 322 с.
19. Мишарина Т.А., Теренина М.Б., Крикунова Н.И. // Прикл. биохимия и микробиология. 2017. Т. 53. № 5. С. 534–543
20. Бурлакова Е.Б., Мишарина Т.А., Фаткуллина Л.Д., Теренина М.Б., Крикунова Н.И., Ерохин В.Н., Воробьёва А.К. // Доклады Академии наук. 2011. Т. 437. № 3. С. 409–412.
21. Gao F., Kim H.W., Igarashi M., Kiesewetter D., Chang L., Ma K., Rapoport S.I. // Biochim. Biophys. Acta. 2011. V. 1811. № 7–8. P. 484–489.
22. Igarashi M., Chang L., Ma K., Rapoport S.I. // Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids. 2013. V. 83. № 2. P. 403–412.
23. Chappus-McCendie H., Chevalier L., Roberge C., Plourde M. // Progress in Neuropsychopharmacology & Biological Psychiatry. 2019. V. 94. № 1. P. 1–12.
24. Hosomi R., Fukunaga K., Nagao T., Shiba S., Miyauchi K., Yoshida M., Takahashi K. // J. Oleo Sci. 2019. V. 68. № 8. P. 781–792.
25. Russo G.L. // Biochem. Pharmacol. 2009. V. 77. № 6. P. 937–46.
26. Soderberg M., Edlund C., Kristensson K., Dallner G. // Lipids. 1991. V. 26. № 6. P. 421–425.
27. Ailhaud G., Massiera F., Weill P., Legrand P., Alessandri J.M., Guesnet P. // Prog. Lipid Res. 2006. V. 45. № 3. P. 203–236.
28. Mocking R.J.T., Assies J., Ruhé H.G., Schene A.H. // J. Inherited Metabolic Disease. 2018. V. 41. № 4. P. 597–611.
29. Greupner T., Kutzner L., Nolt F., Strangmann A., Heike Kohrs H., Hahn A., Schebb N.H., Schuchardt J.P. // Food Funct. 2018. V. 9. № 3. P. 1587–1600.
30. Valenzuela R., Espinosa A., Llanos P., Hernandez-Rodas M.C., Barrera C., Vergara D., Romero N., Pérez F., Ruza M., Videla L.A. // Food Funct. 2016. V. 7. № 1. P. 140–150.
31. van Wijk N., Balvers M., Cansev M., Maher T.J., Sijben J.W.C., Broersen L.M. // Lipids. 2016. V. 51. № 7. P. 833–846.
32. Lim S.Y., Suzuki H. // Int. J. Vitam. Nutr. Res. 2002. V. 72. № 1. P. 77–84.
33. Valentini K.J., Wiesinger C.A.P., Fenton J.A. // Int. J. Food Sci. and Nutr. 2018. V. 69. № 6. P. 705–717.
34. Simopoulos A.P. // Exp. Biol. Med. 2008. V. 233. № 6. P. 674–688.
35. Mocking R.J.T., Assies J., Ruhé H.G., Schene A.H. // Inheri. Metab. Dis. 2018. V. 41. № 4. P. 597–611.
36. Joffre C., Rey C., Layé S. // Frontiers in Pharmacology. 2019. V. 10. № 9. P. 1–16.
37. Dydjow-Bendek D., Zagozdzon P. // In vivo. 2020. V. 34. № 1. P. 423–431.
38. Schmitz G., Ecker J. // Prog. Lipid Res. 2008. V. 47. № 2. P. 147–155.
39. Bali' A., Vlaši D., Žužul K., Marinovi' B., Bukvi' Mokos Z. // Int. J. Mol. Sci. 2020. V. 21. № 2. P. 741–767.
40. Каркищенко Н.Н., Грачева С.В. // Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских исследованиях. М.: Профиль, 2010. 358 с.

Changes in Liver and Brain Free Fatty Acid Profile of Mouse When Receiving Nanolipid Complexes

N. P. Palmina^{a,*}, T. A. Misharina^a, N. I. Krikunova^a, A. S. Antipova^a,
E. I. Martirosova^a, and M. G. Semenova^a

^aInstitute of Biochemical Physics named after N.M. Emanuel of the Russian Academy of Sciences, Moscow, 119991 Russia

*e-mail: npalm@mail.ru

The development of physiologically functional ingredients is one of the most optimal ways to introduce a balanced amount of essential polyunsaturated fatty acids and other nutraceuticals to the human body through food. Such ingredients may be micro- and nanocomplexes based on soybean phosphatidylcholine (PC) liposomes with nutraceuticals included. In this work, the method of gas chromatography was used to study the change in free fatty acid composition of liver and brain lipids of 6 groups of mice depending on the composition of liposome nanocomplexes introduced into drinks that replace water in their long-term (3 months) diet. The components of 6 types of liposomal nanocomplexes, except for PC, in different combinations were: clove essential oil (CEO), fish oil and sodium caseinate (Cas-Na). It has been shown, that, nanocomplexes, including both essential polyunsaturated free fatty acids (PUFA) and natural antioxidant (CEO) and food protein (Cas-Na), can modify the composition of the mammalian liver and brain lipids and increase the content of decosahexaenoic acid (DHA) and significantly reduce $\Sigma \omega$ -6/ $\Sigma \omega$ -3 PUFAs. These effects will increase the body's resistance to inflammatory processes, reduce the risk of cancer and neuropsychiatric diseases. The results can be used in the development of modern PUFA delivery systems based on PC liposomes.

Keywords: nanoliposomal complexes, polyunsaturated fatty acids, ω -3- and ω -6-polyunsaturated fatty acids, $\Sigma \omega$ -6/ $\Sigma \omega$ -3 ratio