



UDC 636.028:637.3.055:612.351

Lipid content of liver in rats under the action of the composition of lactic acid bacteria isolated from traditional carpathian cheese

O. Y. Tsisaryk, I. I. Kushnir

Stepan Gzhytskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies, Lviv, Ukraine

Article info

Received 12.03.2021
Received in revised form
13.04.2021
Accepted
25.05.2021

Stepan Gzhytskyi
National University of
Veterinary Medicine and
Biotechnologies,
Pekarska Str., 50, Lviv,
79010, Ukraine,
tsisaryk_o@yahoo.com,
irynakushn@gmail.com

Tsisaryk, O. Y., & Kushnir, I. I. (2021). Lipid content of liver in rats under the action of the composition of lactic acid bacteria isolated from traditional carpathian cheese. *Veterinary Science, Technologies of Animal Husbandry and Nature Management*, 7, 167-173, DOI: 10.31890/vttp.2021.07.26.

*The aim of the work was to determine the effect of the composition of lactic acid bacteria *E. durans* strain SB18, *L. lactis* ssp. *lactis* and *Lb. plantarum* on the lipid composition of rat liver. Strains of lactic acid bacteria were isolated from the traditional Carpathian cheese bryndza. The studied composition of *L. lactis*, *Lb. plantarum*, *E. durans* SB18 in a ratio of 50:40:10 was administered to white rats intragastrically for 21 days using a metal probe. Animals of the experimental group the composition of probiotic strains was administered in amount of 1 cm³ (1·10⁷ CFU/cm³) and animals of the control group – isotonic solution of sodium chloride.*

On 14 and 21 day of the experiment laboratory animals were decapitated under light ether anesthesia after that the tissues of the liver were selected to determine the lipid parameters.

It was established that in the rats liver which were treated with lactic acid bacteria the level of unesterified cholesterol decreased on the 14th day of the experiment (21,1 against 24,0%). And there also was a tendency towards increasing phospholipids levels, esterified cholesterol and reduced the ratio of unesterified cholesterol/phospholipids. There were no significant intergroup differences in the content of non-esterified fatty acids and triacylglycerols.

On the 21st days of the experiment, significant differences in lipid composition of the liver were found between the control and experimental groups. It was established a tendency towards decreasing content of total lipids in animals of the experimental group. It was established decrease of unesterified cholesterol content (22,4 against 24,7%), increase of phospholipids (31,3 against 28,6) and esterified cholesterol (12,5 against 10,6%) in experimental group of animals that were treated with microbial composition. In addition the ratio of unesterified cholesterol/phospholipids reduced. There is a tendency towards decreasing of unesterified fatty acids and triacylglycerols in the liver of the experimental group.

*So, microbial composition of *L. lactis*, *Lb. plantarum* and *E. durans* SB18 in a ratio of 50:40:10 can be considered as a potential product for the normalization of lipid metabolism.*

Key words: rats, *L. lactis*, *Lb. plantarum*, *E. durans*, liver, lipids.

Содержание липидов печени крыс под влиянием композиции молочнокислых бактерий, выделенных из традиционной карпатской брынзы

О. И. Цисарык, И. И. Кушнир

Львовский национальный университет ветеринарной медицины и биотехнологий имени С.З. Гжицкого, Украина

*Целью исследований было изучить влияние композиции молочнокислых бактерий *E. durans* штамма SB18, *L. lactis* ssp. *lactis* и *Lb. plantarum* на липидный состав печени крыс. Штаммы молочнокислых бактерий были изолированы из традиционной карпатской брынзы. Исследуемую композицию *L. Lactis*, *Lb. plantarum*, *E. durans* SB18 в соотношении 50:40:10 вводили белым крысам внутривентрикулярно с*

помощью металлического зонда в течение 21 суток. Животным опытной группе применяли композицию пробиотических штаммов в количестве 1см^3 ($1 \cdot 10^7$ КОЕ/ см^3), животным контрольной группы – изотонический раствор Натрия хлорида.

Для определения липидных показателей лабораторных животных на 14 и 21 сутки эксперимента декапитировали в условиях легкого эфирного наркоза и проводили отбор тканей печени.

Установлено, что на 14 сутки эксперимента в печени крыс, получавших молочнокислые бактерии, уровень незэтерифицированного холестерина (21,1 против 24,0%), а также проявлялась четкая тенденция к повышению уровня фосфолипидов, эстерифицированного холестерина и снижению соотношения холестерол/фосфолипиды. По содержанию незэтерифицированных жирных кислот и триацилглицеролов существенных межгрупповых различий не установлено.

На 21 сутки эксперимента в контрольной и опытной группах выявлены существенные различия в липидном составе печени, у животных опытной группы установлено снижение содержания общих липидов. У крыс, которым применяли микробную композицию, обнаружено повышение содержания незэтерифицированного холестерина (22,4 против 24,7 %), снижение фосфолипидов (31,3 против 28,62) и эстерифицированного холестерина (12,5 против 10,6 %), а также меньшее соотношение холестерол/фосфолипиды. Установлено тенденцию к уменьшению содержания незэтерифицированных жирных кислот и триацилглицеролов в печени крыс опытной группы.

Микробную композицию в составе *L. lactis*, *Lb. plantarum* и *E. durans* SB18 в соотношении 50:40:10 можно рассматривать как потенциальный препарат для нормализации липидного обмена.

Ключевые слова: крысы, *L. lactis*, *Lb. plantarum*, *E. durans*, печень, липиды.

Вміст ліпідів печінки щурів за дії композиції молочнокислих бактерій, виділених із традиційної карпатської бринзи

О. Й. Цісарик, І. І. Кушнір

Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького, Україна

Метою досліджень було вивчити вплив композиції молочнокислих бактерій *E. durans* штаму SB18, *L. lactis* ssp. *Lactis* та *Lb. plantarum*, які виділені із традиційної карпатської бринзи, на ліпідний склад печінки щурів.

Встановлено, що на 14 добу експерименту у тканині печінки щурів, які отримували молочнокислі бактерії, вірогідно знижувався рівень неестерифікованого холестеролу та проявлялась чітка тенденція до підвищення рівня фосфоліпідів, естерифікованого холестеролу та зниження співвідношення холестерол/фосфоліпідів. На 21 добу експерименту виявлено суттєвіші відмінності у ліпідному складі печінки щурів між контрольною та дослідною групами.

Ключові слова: щури, *L. lactis*, *Lb. plantarum*, *E. durans*, печінка, ліпіди.

Вступ

Актуальність теми. Важливим завданням біотехнології є створення бактеріальних композицій на основі живих культур мікроорганізмів і виготовлення за їх участі харчових продуктів функціонального призначення. При цьому особлива роль належить розробці пробіотичних препаратів для закваски на основі мікроорганізмів, що виділені з природних еконіш та формувалися в певному географічному регіоні упродовж століть. Прикладом такої еконіші є карпатська бринза, яка виробляється непромисловим способом із сирого овечого молока. Проте, на сьогодні невивченими залишаються властивості «диких» штамів мікрофлори, що виділені із традиційної карпатської бринзи. Представники природних мікробіоценозів характеризуються високими технологічними та пробіотичними властивостями і є найбільш адаптованими до організму людини. Особливо важливими є дослідження впливу таких штамів у складі бактеріальних композицій на стан здоров'я, зокрема, на ліпідний обмін, оскільки його порушення є сьогодні болючою проблемою.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Мікробіальні композиції, які формуються упродовж століть у природних умовах, є надзвичайно багатими за складом консорціумом бактерій. Сьогодні вони активно досліджуються. Зокрема, із традиційних молочних та інших продуктів Монголії і Китаю ідентифікували 224 штами одного виду *Lb. casei* (Qiuhua Bao et al., 2016). У мікрофлорі традиційного монгольського кумису було ідентифіковано 148 культур молочнокислих бактерій (Qimu Gesudu et al., 2016).

Існують особливості видового і штамового різноманіття консорціумів залежно від географії і джерела виділення (Zhong et al., 2016). Традиційна карпатська бринза, виготовлена непромисловим способом із сирого овечого молока, є джерелом різноманітних штамів молочнокислих бактерій. Нами ізольовано із зразків карпатської бринзи, що відібрані у різних регіонах (високогір'я і передгірська зона), 106 культур, які належать до родів *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Enterococcus* (Slyvka, Tsisaryk, Dronyk, & Musiy, 2018). Бактерії, ізольовані з природних еконіш, крім гарних технологічних проявляють ще й пробіотичні властивості – стійкість до низького рН, жовчних солей, антагонізм до патогенів завдяки синтезу деякими з них бактерицинів та антиоксидантну активність (Reuben et al., 2020).

З-посеред культур, що виділені із природних еконіш, сьогодні особлива увага приділяється ентерококам. Ентерококи є представниками природної мікрофлори кишківника людини і тварин (Ahmed, Sidhu, & Toze, 2012). Вони проявляють різносторонній позитивний вплив на здоров'я людини, зокрема, відновлюють баланс мікробіоти кишкового тракту після викликаного антибіотиками дисбіозу, проявляють бактерицидну, антивірусну активність (Wang et al., 2020; Kushnir et al., 2020), протипухлинний ефект (Thirabunyanon & Hongwittayakorn, 2013), імуномодуляційну дію (Molina et al., 2015). Ентерококи також сприяють нормалізації ліпідного обміну (Fen Zhang et

al., 2017). Аналізуючи штамове різноманіття культур, що виділені із традиційної карпатської бринзи, нами встановлено, що ентерококи є представниками мікрофлори усіх зразків бринзи (Slyvka, Tsisaryk, Dronyk, & Musiy, 2018). Ряд авторів також повідомляють, що ентерококи, зазвичай, ізолюють із сирів, виготовлених непромисловим способом із сирого молока (Goh & Philip, 2015). Вони проявляють високу стійкість до низьких значень рН, змін температури і високих концентрацій солі, про що вказано у ряді досліджень (McAuley, Britz, Gobius, & Heather Craven, 2015) і що кореспондується з отриманими нами результатами (Kushnir, 2020). Наявність ентерококів у сирах позитивно впливає на їх органолептичні властивості (Uroic et al., 2014).

Враховуючи позитивні ефекти ентерококів, а також опираючись на характерне представництво видів молочнокислих бактерій у традиційній карпатській бринзі, було сформовано мікробіальну композицію, що складається із *L. lactis ssp. lactis*, *Lb. plantarum* та *E. durans*, виділених із карпатської бринзи, позитивний вплив на гематологічні показники і склад мікрофлори кишківника щурів (Kushnir et al., 2020).

Сьогодні велику тривогу викликає метаболічний синдром, з яким пов'язаний ризик розвитку кардіоваскулярних захворювань і діабету другого типу (Kaur, 2014). Сучасними дослідженнями встановлено тісний зв'язок між ожирінням та іншими компонентами метаболічного синдрому і роль ожиріння, як фактору, що ініціює прояв метаболічного синдрому. Розповсюдженість метаболічного синдрому становить 10-40 % і залежить від статі, віку, етнічної приналежності, найбільше він зустрічається в економічно розвинених країнах (Тарієва, 2016). Встановлений позитивний вплив на обмін ліпідів при метаболічному синдромі різних видів молочнокислих бактерій, зокрема, біфідобактерій, лактобактерій, термофільного стрептококу (Chen, Wang, Li, & Wang, 2012; Yoo et al., 2013), однак, мало досліджень щодо такого впливу ентерококів (Fen Zhang et al., 2017). Як відомо, печінка відіграє ключову роль у метаболізмі ліпідів. Вона є центром синтезу жирних кислот та циркуляції ліпідів через синтез ліпопротеїнів (Nguyen et al., 2008), тому важливо дослідити ліпідний склад тканини печінки за дії мікробіальної композиції, до складу якої входять ентерококи.

Мета роботи – вивчення впливу сформованої нами композиції молочнокислих бактерій, яка включала вид *E. durans* штаму SB18, який за нуклеотидною послідовністю не внесений у Генбанк, та *L. lactis ssp. lactis*, *Lb. plantarum* на ліпідний склад печінки щурів.

Завдання дослідження:

– визначити рівень загальних ліпідів та їх класів (неестерифікованого та естерифікованого холестеролу, фосфоліпідів, неестерифікованих жирних кислот, триацилгліцеролів) у тканині печінки білих щурів за дії мікробіальної композиції молочнокислих бактерій.

Матеріал і методи досліджень

Визначення впливу композиції молочнокислих бактерій, що досліджується на організм лабораторних тварин, проводили на білих щурах лінії Вістар масою тіла 160-180 г. З цією метою було сформовано за принципом аналогів контрольну та дослідну групи тварин по шість тварин в кожній. Тваринам першої (контрольної) групи задавали ізотонічний розчин натрію хлориду, тваринам другої групи – композицію пробіотичних штамів *L. lactis*, *Lb. plantarum* та *E. durans* SB18 у співвідношенні 50:40:10 у дозі 1 см³ (1 · 10⁷ КУО/см³) на тварину. Композицію, що досліджували вводили внутрішньошлунково за допомогою металевого зонду упродовж 21 доби. З метою вивчення ліпідних показників печінки за застосування досліджуваної композиції на 14 та 21 добу експерименту лабораторних тварин декапітували за умов легкого ефірного наркозу та проводили відбір тканини печінки. Екстракцію ліпідів проводили методом Фолча (Folch, & Lees, 1957). До 1 г досліджуваного матеріалу додавали 20 мл суміші хлороформ-метанол (2:1). Через 12 годин суміш відфільтровували, додавали 1/5 частину 0,7N KCl за об'ємом і залишали до розділення на дві фази. Верхній водно-метанольний шар видаляли за допомогою водно-струменевого насоса, а нижній – хлороформний, що містить ліпіди, випаровували.

Розділення ліпідів на окремі фракції проводили методом висхідної одномірної тонкошарової хроматографії на скляних пластинках. Перед роботою пластинки активували 30 хв. при температурі 105 °С в сушильній шафі. Проби ліпідів наносили на пластинку мікродозатором у кількості 40 мкл розчину та укладали їх в хроматографічні камери. Рухомою фазою слугувала суміш гексану, діетилового ефіру і льодяної оцтової кислоти у відношенні 70:30:1. Одержані хроматограми проявляли в камері, що насичена парами йоду. Для ідентифікації окремих фракцій ліпідів використовували специфічні реагенти і очищені стандарти.

Статистичну обробку результатів здійснювали за допомогою комп'ютерної програми «Excel 7.0». При порівнянні досліджуваних показників та міжгрупових відмінностей використовували t-критерій Стьюдента.

Результати досліджень

Маса тіла є одним із показників, що характеризує ризик розвитку метаболічного синдрому і пов'язаних з ним захворювань. Ми дослідили масу тіла щурів і встановили (рис. 1), що у тварин дослідної групи спостерігається незначне підвищення, однак це, очевидно, є свідченням кращої конверсії корму у них за дії добавки культур мікробіальної композиції. У нашому експерименті щури утримувались на збалансованому раціоні, є повідомлення, що ентерококи сприяють зниженню маси тіла у тварин на високоліпідних дієтах в межах 21,4-33,6 % (Fen Zhang et al., 2017).

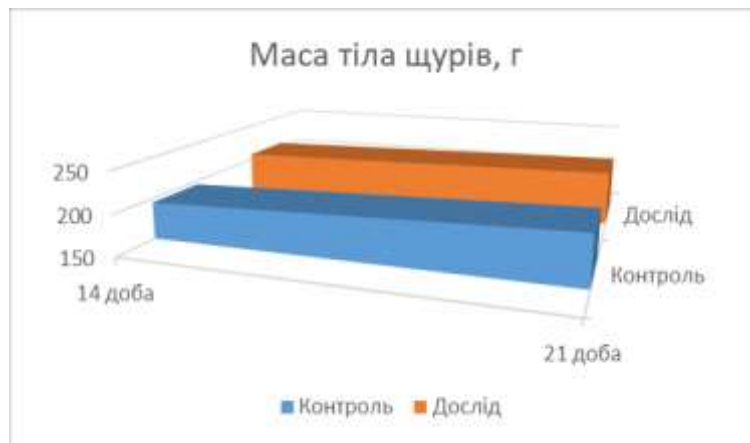


Рис. 1. Маса тіла щурів за дії мікробіальної композиції

Ваговий коефіцієнт печінки у дослідній групі на 14 добу експерименту переважав на 18,1 % коефіцієнт у контрольній групі, а на 21 добу відмінності згладились, у дослідній групі коефіцієнт був на 4,4 % більшим, ніж у контролі (рис. 2).

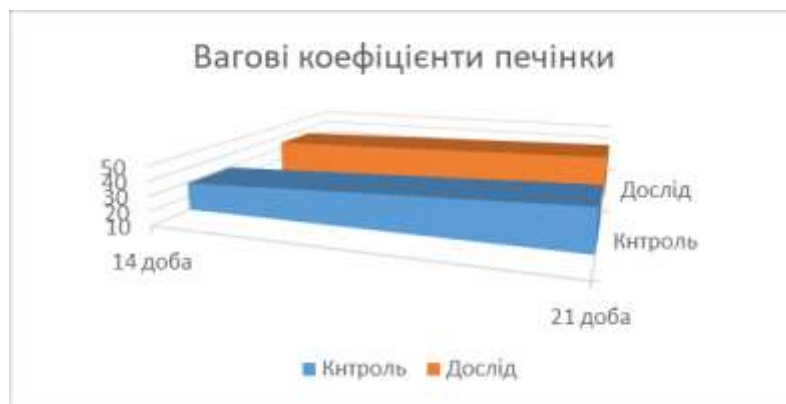


Рис. 2. Вагові коефіцієнти печінки щурів за дії мікробіальної композиції

Вміст загальних ліпідів у печінці тварин дослідної групи на 14 добу експерименту був незначно вищим – 2,9 проти 2,8 г/100 г сирової маси (табл. 1). Однак, встановлені міжгрупові відмінності щодо окремих класів. У щурів, яким задавали мікробіальну композицію, відзначено вірогідно менший вміст неестерифікованого холестеролу – в 1,4 рази, однак вищий вміст естерифікованого холестеролу – в 1,2 рази у порівнянні з контрольною групою. Рівень загального холестеролу був дещо меншим у складі ліпідів печінки тварин дослідної групи. Зниження рівня вільного холестеролу та підвищення його естерифікованої форми свідчить про зниження вмісту холестеролу у складі мембран та зниження їх жорсткості. Головними жирними кислотами, які беруть участь у естерифікації холестеролу є лінолева або олеїнова. Рівень фосфоліпідів у складі ліпідів недостовірно підвищувався у щурів дослідної групи. Відомо, що фосфоліпідів становлять основу клітинних мембран, забезпечуючи їх пластичність. При зниженні синтезу фосфоліпідів швидкість виходу жирних кислот із печінки зменшується, що сприяє накопиченню жиру. Важливо підкреслити, що у тварин дослідної групи було меншим співвідношення холестерол/фосфоліпідів, ніж у тварин контрольної групи. Це співвідношення визначає плинність або жорсткість клітинних мембран, а також ступінь розчинності холестеролу і його атерогенні властивості (Кресюн, 2017).

Guo і співавтори повідомляють, що *E. durans* KLDS 6.0930 і 6.0933 забезпечують зниження рівня холестеролу у сироватці крові у щурів. Після чотиритижневого вживання бактерій цього виду у щурів вірогідно знижувався рівень ліпопротеїнів низької щільності і холестеролу у сироватці крові у порівнянні із тваринами, які утримувались також на високохолестероловій дієті, але не отримували лактококів. Авторами зроблено висновок, що *E. durans* можна розглядати як гарного кандидата для зниження рівня холестеролу у людей (Guo, Li, Tang, Yang, & Huo, 2015).

Є повідомлення, що ентерококи знижують концентрацію триацилгліцеролів (ТАГ) і ЛПНЩ в сироватці крові у щурів на високоліпідній дієті (Fen Zhang et al., 2017). Зниження рівня холестеролу корелюється із здатністю бактерій до гідролізу жовчних солей (Ishimwe, Daliri, Lee, Fang, & Du, 2015). Ці два параметри є важливими у скринінгу пробіотичних бактерій щодо їх потенційної активності проти метаболічного синдрому (Song et al., 2015). Вільні жовчні кислоти зв'язуються з холестеролом, в результаті чого знижується його інтестинальна абсорбція (Ooi, & Liong, 2010). Здатність до гідролізу жовчних кислот, в свою чергу, впливає на стійкість бактерій до жовчі (Ratu Safitri, 2016). У попередніх наших дослідженнях показано, що штам *E. durans*, що входить до складу композиції, яку задавали дослідним щурам, має високу стійкість до жовчі (Kushnir, 2020). Тому можна спрогнозувати, що мікробіальна композиція, крім впливу на метаболізм ліпідів у печінці, має вплив і на всмоктування холестеролу з кишківника. *Lb. plantarum*, який входить до складу композиції, як засвідчують повідомлення літератури, також сприяє зниженню рівня холестеролу (Yang Li et al., 2020).

Щодо рівня неестерифікованих жирних кислот і триацилгліцеролів, то істотних міжгрупових відмінностей на 14 добу експерименту не встановлено.

Таблиця 1

Вміст загальних ліпідів і співвідношення їх класів у печінці щурів на 14 добу експерименту

Показники	Групи тварин	
	контроль	дослід
Загальні ліпіди, г/100 г сирової маси	2,8±0,17	2,9±0,10
Класи ліпідів, % від загальних ліпідів		
Фосфоліпіди	30,86±1,32	32,36±0,53
Неестерифікований холестерол	24,04±1,20	21,10±1,00*
НЕЖК	17,31±1,89	17,66±1,21
Триацилгліцероли	15,81±0,97	15,13±1,09
Естери холестеролу	11,98±1,00	13,90±1,13
Холестерол/Фосфоліпіди	0,77	0,65

Примітка: * - $p < 0,05$

На 21 добу експерименту варто відзначити тенденцію до зниження вмісту загальних ліпідів у тканині печінки щурів дослідної групи (табл. 2). Крім того, міжгрупові відмінності співвідношень класів ліпідів у печінці щурів були більш вираженими. Встановлено менший вміст неестерифікованого холестеролу (в 1,1 рази) та більший в (1,1 рази) фосфоліпідів у печінці щурів, які отримували мікробіальну композицію. Варто відзначити, що у них вірогідно меншим було співвідношення між неестерифікованим холестеролом і фосфоліпідами. Крім того, встановлено незначне зменшення вмісту неестерифікованих жирних кислот і триацилгліцеролів у тканині печінки щурів дослідної групи.

Жирні кислоти і триацилгліцероли можуть походити з чотирьох джерел: ліпогенез *de novo*; запаси цитоплазматичних триацилгліцеролів; жирні кислоти, отримані з триацилгліцеролів залишків ліпопротеїнів, що безпосередньо поглинаються печінкою та неестерифіковані жирні кислоти плазми, звільнені в жировій тканині (Gibbons, Bartlett, Sparks, & Sparks, 1992). Неестерифіковані жирні кислоти забезпечують утворення триацилгліцеролів – головного фонду ліпопротеїнів дуже низької густини (Fan et al., 2003) та зниження синтезу і секреції холестерол-ліпопротеїнів високої щільності, що призводить до підвищення синтезу холестерол-ліпопротеїнів низької щільності і зниження секреції триацилгліцеролів з печінки та патологічних розладів ліпідного метаболізму (Zhao et al., 2008). Тому зниження рівня неестерифікованих жирних кислот і триацилгліцеролів засвідчує про позитивний вплив на обмін ліпідів у печінці.

Таблиця 2

Вміст загальних ліпідів і співвідношення їх класів у печінці щурів на 21 добу експерименту

Показники	Групи тварин	
	контроль	дослід
Загальні ліпіди, г/100 г сирової маси	3,07±0,14	2,9±0,30
Класи ліпідів, % від загальних ліпідів		
Фосфоліпіди	28,62±0,60	31,38±0,47*
Неестерифікований холестерол	24,74±0,74	22,45±0,32*
НЕЖК	17,38±1,89	15,86±1,48
Триацилгліцероли	18,63±0,41	17,75±0,71
Естери холестеролу	10,62±0,30	12,54±0,51*
Холестерол/Фосфоліпіди	0,86	0,72

Примітка: * - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$

Низка досліджень повідомляє, що у розвитку метаболічного синдрому ключову роль відіграє дисбаланс мікрофлори кишківника (Wang et al., 2015). Механізм, за яким пробіотичні бактерії нормалізують ліпідний обмін у організмі, не з'ясований. Фен Чанг і співавтори припускають, що позитивний ефект ентерококів на метаболічний синдром може бути пов'язаний саме із впливом на мікробіоту кишечника (Fen Zhang et al., 2017). У попередніх дослідженнях нами показано, що розроблена композиція істотно покращує баланс мікрофлори кишківника, опираючись на це, можна підсумувати, що позитивний вплив на ліпідний склад тканини печінки щурів дослідної групи був зумовлений саме впливом на мікрофлору кишківника, а використання пробіотичних культур є перспективною стратегією у нормалізації ліпідного обміну.

Висновки

1. Мікробіальна композиція у складі штамів *L. lactis*, *Lb. plantarum* та *E. durans* SB18, що виділена із традиційної карпатської бринзи, у співвідношенні 50:40:10 здійснила позитивний вплив на ліпідний склад тканини печінки щурів, про що свідчить зниження на 14 добу експерименту рівня неестерифікованого холестеролу (на 13,9 %), незначне підвищення рівня фосфоліпідів та естерифікованого холестеролу, а також зниження співвідношення холестерол/фосфоліпіди (0,65 проти 0,77).
2. На 21 добу експерименту зареєстровано істотніші відмінності у складі ліпідів тканини печінки за дії мікробіальної композиції – вірогідно знизився рівень неестерифікованого холестеролу (на 10,2 %), підвищився рівень фосфоліпідів (на 9,6 %) і знизилось співвідношення між ними (0,72 проти 0,86).

Встановлена чітка тенденція до зниження вмісту загальних ліпідів та рівня неестерифікованих жирних кислот і триацилгліцеролів у печінці щурів, які отримували мікробіальну композицію.

References

- Ahmed, W., Sidhu, J. P., & Toze, S. (2012). Speciation and frequency of virulence genes of Enterococcus spp. isolated from rainwater tank samples in Southeast Queensland, Australia. *Environmental science & technology*, 46(12), 6843–6850. <https://doi.org/10.1021/es300595g>
- Amaral, D., Silva, L. F., Casarotti, S. N., Nascimento, L., & Penna, A. (2017). Enterococcus faecium and Enterococcus durans isolated from cheese: Survival in the presence of medications under simulated gastrointestinal conditions and adhesion properties. *Journal of dairy science*, 100(2), 933–949. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-11513>
- Bao, Q., Song, Y., Xu, H., Yu, J., Zhang, W., Menghe, B., Zhang, H., & Sun, Z. (2016). Multilocus sequence typing of Lactobacillus casei isolates from naturally fermented foods in China and Mongolia. *Journal of dairy science*, 99(7), 5202–5213. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-10857>
- Chen, J., Wang, R., Li, X. F., & Wang, R. L. (2012). Bifidobacterium adolescentis supplementation ameliorates visceral fat accumulation and insulin sensitivity in an experimental model of the metabolic syndrome. *The British journal of nutrition*, 107(10), 1429–1434. <https://doi.org/10.1017/S0007114511004491>
- Folch, J., Lees, M., & Sloane Stanley, G. H. (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *Journal of Biological Chemistry*, 226 (1), 497–509. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)64849-5](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)64849-5)
- Gesudu, Q., Zheng, Y., Xi, X., Hou, Q. C., Xu, H., Huang, W., Zhang, H., Menghe, B., & Liu, W. (2016). Investigating bacterial population structure and dynamics in traditional koumiss from Inner Mongolia using single molecule real-time sequencing. *Journal of dairy science*, 99(10), 7852–7863. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-11167>
- Gibbons, G. F., Bartlett, S. M., Sparks, C. E., & Sparks, J. D. (1992). Extracellular fatty acids are not utilized directly for the synthesis of very-low-density lipoprotein in primary cultures of rat hepatocytes. *The Biochemical journal*, 287 (Pt 3)(Pt 3), 749–753. <https://doi.org/10.1042/bj2870749>
- Goh, H. F., & Philip, K. (2015). Isolation and mode of action of bacteriocin BacC1 produced by nonpathogenic Enterococcus faecium C1. *Journal of dairy science*, 98(8), 5080–5090. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-9240>
- Guo, L., Li, T., Tang, Y., Yang, L., & Huo, G. (2016). Probiotic properties of Enterococcus strains isolated from traditional naturally fermented cream in China. *Microbial biotechnology*, 9(6), 737–745. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.12306>
- Ishimwe, N., Daliri, E. B., Lee, B. H., Fang, F., & Du, G. (2015). The perspective on cholesterol-lowering mechanisms of probiotics. *Mol. Nutr. Food Res.*, 59, 94–105.
- Kaur J. (2014). A comprehensive review on metabolic syndrome. *Cardiology research and practice*, 2014, 943162. <https://doi.org/10.1155/2014/943162> (Retraction published *Cardiol Res Pract.* 2019 Jan 31;2019:4301528)
- Kresiun, N. V., Son, H. O., Hodovan, V. V., & Hodlevskiy, L. S. (2017). Obmin lipidiv pry eksperymentalnomu tsukrovomu diabeti ta yoho korektsiia niatsyn-oksietylidendyfosfonatohermanatom. *Zaporozhskiy medytsynskiy zhurnal*, 19 (4), 497–503. Retrieved from http://nbuv.gov.ua/UJRN/Zmzh_2017_19_4_24. [In Ukrainian]
- Kushnir I. (2020). Vplyv pH i riznykh kontsentratsiy soli ta zhovchi na rist enterokokiv, vydilynykh z pryrodnykh ekonish. *Zbirnyk naukovykh prats «Tekhnolohiya vyrobnytstva i pererobky produktsiyi tvarynnytstva» = Animal Husbandry Products Production and Processing: zbirnyk naukovykh prats. Bilotserkivskyy natsionalnyy ahraryy universytet*, 2(158), 76–81. <https://doi.org/10.33245/2310-9289-2020-158-2-76-81>. [In Ukrainian].
- Kushnir, I., Tsisaryk, O., Kushnir, I., Semen, I., Slyvka, I., & Musiy, L. (2020). Properties of formed compositions of probiotic strains isolated from Carpathian bryndza. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Agricultural Sciences*, 22(93), 119–125. <https://doi.org/10.32718/nvvet-a9320> [In Ukrainian].
- Li, Y., Wu, J., Cao, C., Zhu, X., Sun, X., & Wu, R. (2020). Effects of skim milk fermented with Lactobacillus plantarum WW on the constitutions of rats fed a high-fat diet. *Journal of dairy science*, 103(6), 5019–5029. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-17560>
- Molina, M. A., Diaz, A. M., Hesse, C., Ginter, W., Gentilini, M. V., Nunez, G. G., Canellada, A. M., Sparwasser, T., Berod, L., Castro, M. S., & Manghi, M. A. (2015). Immunostimulatory effects triggered by Enterococcus faecalis CECT7121 probiotic strain involve activation of dendritic cells and interferon - gamma production. *PLoS ONE*, 10:e0127262. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0127262>
- Nguyen, P., Leray, V., Diez, M., Serisier, S., Le Bloc'h, J., Siliart, B., & Dumon, H. (2008). Liver lipid metabolism. *Journal of animal physiology and animal nutrition*, 92(3), 272–283. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0396.2007.00752.x>
- Ooi, L. G., & Liang, M. T. (2010). Cholesterol-lowering effects of probiotics and prebiotics: a review of in vivo and in vitro findings. *International journal of molecular sciences*, 11(6), 2499–2522. <https://doi.org/10.3390/ijms11062499>
- Ratu Safitri, Khusnul Khotimah, Roostita Balia, Muhammad Iqbal Saputra, Mia Miranti, & Gemilang Lara Utama (2016). The Tolerance of Lactobacillus paracasei and Lactobacillus curvatus Originated From Bovine Colostrum
- Reuben, R. C., Roy, P. C., Sarkar, S. L., Rubayet Ul Alam, A., & Jahid, I. K. (2020). Characterization

- and evaluation of lactic acid bacteria from indigenous raw milk for potential probiotic properties. *Journal of dairy science*, 103(2), 1223–1237. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-17092>
- Slyvka, I. M., Tsisaryk, O. Y., Dronyk, G. V., & Musiy, L. Y. (2018). Strains of lactic acid bacteria isolated from traditional Carpathian cheeses. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 9(1), 62–68. <https://doi.org/10.15421/021808>
- Tahyeva, F. A. (2016). Sovremennye predstavleniya o metabolycheskom syndrome. *Vistnyk problem biolohii i medytsyny*, 1, 1 (126), 53–56. [In Russian]
- Thirabunyanon, M., & Hongwittayakorn, P. (2013). Potential probiotic lactic acid bacteria of human origin induce antiproliferation of colon cancer cells via synergic actions in adhesion to cancer cells and short-chain fatty acid bioproduction. *Applied biochemistry and biotechnology*, 169(2), 511–525. <https://doi.org/10.1007/s12010-012-9995-y>
- Towards Acidity and Bile Salts as Probiotics Candidate. *Advance Journal of Food Science and Technology*, 11 (1), 60–63. [DOI:10.19026/ajfst.11.2355](https://doi.org/10.19026/ajfst.11.2355).
- Uroi, K., Nikoli, M., Kos, B., Pavunc, A. L., Beganovi, J., Luki, J., Jovcic, B., Filipi, B., Miljkovi, M., Golic, N., Topisirovic, L., Cadez, N., Raspor, P., & Suskovic, J. (2014). Probiotic Properties of Lactic Acid Bacteria Isolated from Croatian Fresh Soft Cheese and Serbian White Pickled Cheese. *J. Food Technology and Biotechnology*, 52 (2), 232–241.
- Wang, J., Tang, H., Zhang, C., Zhao, Y., Derrien, M., Rocher, E., van-Hylckama Vlieg, J. E., Strissel, K., Zhao, L., Obin, M., & Shen, J. (2015). Modulation of gut microbiota during probiotic-mediated attenuation of metabolic syndrome in high fat diet-fed mice. *The ISME journal*, 9(1), 1–15. <https://doi.org/10.1038/ismej.2014.99>
- Wang, Z., Chai, W., Burwinkel, M., Twardziok, S., Wrede, P., Palissa, C., Esch, B., & Schmidt, M. F. (2013). Inhibitory influence of *Enterococcus faecium* on the propagation of swine influenza A virus in vitro. *PloS one*, 8(1), e53043. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0053043>
- Yoo, S. R., Kim, Y. J., Park, D. Y., Jung, U. J., Jeon, S. M., Ahn, Y. T., Huh, C. S., McGregor, R., & Choi, M. S. (2013). Probiotics *L. plantarum* and *L. curvatus* in combination alter hepatic lipid metabolism and suppress diet-induced obesity. *Obesity (Silver Spring, Md.)*, 21(12), 2571–2578. <https://doi.org/10.1002/oby.20428>
- Zhang, F., Qiu, L., Xu, X., Liu, Z., Zhan, H., Tao, X., Shah, N. P., & Wei, H. (2017). Beneficial effects of probiotic cholesterol-lowering strain of *Enterococcus faecium* WEFA23 from infants on diet-induced metabolic syndrome in rats. *Journal of dairy science*, 100(3), 1618–1628. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-11870>
- Zhao, S. P., Yang, J., Li, J., Dong, S. Z., & Wu, Z. H. (2008). Effect of niacin on LXRalpha and PPARgamma expression and HDL-induced cholesterol efflux in adipocytes of hypercholesterolemic rabbits. *International journal of cardiology*, 124(2), 172–178. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2006.12.032>
- Zhong, Z., Hou, Q., Kwok, L., Yu, Z., Zheng, Y., Sun, Z., Menghe, B., & Zhang, H. (2016). Bacterial microbiota compositions of naturally fermented milk are shaped by both geographic origin and sample type. *Journal of dairy science*, 99(10), 7832–7841. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10825>