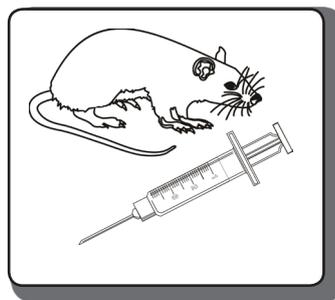


Теоретическая и экспериментальная медицина



УДК 616.805:[613.244+577.125]

Б.Я. Рыжавский¹, О.А. Лебедько^{1,2}, О.В. Лазинская¹, М.С. Кузнецова², О.Е. Гусева²

ВЛИЯНИЕ ЛИПИДНО-БЕЛКОВОЙ (КЕТОГЕННОЙ) ДИЕТЫ НА КОРУ ГОЛОВНОГО МОЗГА НЕПОЛОВОЗРЕЛЫХ КРЫС

¹Дальневосточный государственный медицинский университет, 680000, ул. Муравьева-Амурского, 35, тел. 8-(4212)-76-13-96, e-mail: nauka@mail.fesmu.ru;

²Хабаровский филиал ФГБНУ «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» – НИИ охраны материнства и детства, 680022, ул. Воронежская, 49, тел. 8-(4212)-70-05-91, e-mail: iomid@yandex.ru, г. Хабаровск

Резюме

Исследовался неокортекс переднетеменной (ПТД) и собственно теменной доли (СТД), а также гиппокамп головного мозга 40-суточных крыс, которые в течение 10 суток получали липидно-белковую диету (свиное сало и вареные куриные яйца и воду *ad libitum*). Контрольные животные (из одних пометов с подопытными) получали обычный корм (овощи, крупа, рыба, семена подсолнечника, сухари, молоко, гранулированный корм) и воду *ad libitum*. Установлено, что подопытные крысы не имели достоверных отличий по массе тела, мозга, полушария, толщине коры и слоя I в ПТД и СТД. Размеры ядрышек, ядер и цитоплазмы в нейронах СТД были у них достоверно большими, чем в контроле. Концентрация РНК в цитоплазме нейронов ПТД, СТД и гиппокампа не имела достоверных межгрупповых различий. В сочетании с большими размерами цитоплазмы нейронов это свидетельствует о большем количестве РНК в перикарионах данных клеток. Активность НАДФН-дегидрогеназы в нейронах гиппокампа у подопытных крыс была выше, чем в контроле.

Ключевые слова: мозг, нейроны, кетогенная диета.

В.Я. Ryzhavskii¹, O.A. Lebed'ko^{1,2}, O.V. Lazinskaja¹, M.S. Kuznetsova², O.Ye. Guseva²

EFFECT OF LIPID-PROTEIN (KETOGENIC) DIET ON THE CEREBRAL CORTEX OF IMMATURE RATS

¹Far Eastern State Medical University;

²Khabarovsk Facility of FESC PPR – Scientific research institute of Mother and Child Care, Khabarovsk

Summary

The neocortex in the parietal anteriorlobe (PAL) and parietal proper lobe (PPL), as well as the hippocampus of the brain of 40-day-old rats were studied. They received a lipid-protein diet (lard and boiled eggs and water *ad libitum*) for 10 days. The control animals (from some litters with experimental subjects) received a regular feed (vegetables, cereals, fish, sunflower seeds, biscuits, milk, granulated food) and water *ad libitum*. It was established that the experimental rats did not have significant differences in body weight, brain, hemisphere thickness of the cortex, and layer I in PAL and PPL. The size of nucleoli, nuclei and cytoplasm in PPL neurons was significantly higher in them than in the controls. The concentration of RNA in the cytoplasm of neurons of PAL, PPL and the hippocampus did not have significant intergroup differences. In combination with the large size of the cytoplasm of neurons, this indicates a greater amount of RNA in the pericaryon of these cells. The activity of NADPH dehydrogenase in the hippocampal neurons in the experimental rats was higher than in the control.

Key words: brain, neurons, ketogenic diet.

Диета, характеризующаяся высоким содержанием липидов и низким содержанием углеводов, получила название кетогенной (КД). Она применяется при лечении ожирения, в том числе, и у детей [8]. Постоянный прием пищи с высоким содержанием жиров и низким

содержанием углеводов поддерживает кетоз в течение месяцев и лет. Эта диета эффективно действует при эпилепсии, приводя к снижению частоты припадков, улучшению показателей психики. Ее применяют также для лечения и профилактики нейродегенеративных

заболеваний. КД, содержащая 80 % липидов, 16,7 % – белков, 3,3 % – углеводов, предотвращает развитие NMDA-индуцированного судорожного синдрома [9]. Механизмы этих эффектов продолжают изучаться и часто связываются с действием на гиппокамп [11, 13, 14].

Теоретические обоснования применения КД базируются на данных о том, что состав пула энергетических субстратов в мозге варьирует в зависимости от возраста, видовых особенностей метаболизма, физиологического состояния, причем в незрелом мозге эта вариабельность выражена особенно ярко. В частности показано, что в молочном периоде у крыс основным энергетическим субстратом организма являются кетоновые тела. Они относятся и к энергоносителям, обеспечивающим метаболизм мозга, когда глюкоза не справляется с этой ролью (после 8-12-часового перерыва после приема углеводов, после физических нагрузок, в стрессовых ситуациях, а также в ранние пе-

риоды онтогенеза у некоторых видов) [3]. При этом следует учитывать, что головной мозг отличается высоким содержанием и выраженной гетерогенностью липидов [2].

Изучение влияния кетогенной диеты на экспериментальных животных показало, что содержание 21-суточных крыс Вистар на высокожировой диете (31,6 % жира 15,2 % белка, 53,2 % – углеводов) в течение 1 месяца не приводит к достоверным различиям массы тела [12]. У крыс и мышей, содержащихся 63 суток на высокожировой диете, в подгруппе с добавлением к пище холестерина, имелось снижение массы тела и увеличение относительной массы мозга [1]. В то же время, нами не обнаружено данных о влиянии КД на морфологические характеристики коры головного развивающегося мозга, морфометрические и гистохимические характеристики ее нейронов. Изучению этих вопросов посвящена настоящая работа.

Материалы и методы

Эксперимент поставлен на крысах двух пометов (в каждом по 8 животных), каждый из которых в возрасте 1 месяца был разделен пополам. Животные содержались в клетках по 4 особи. Восемь из них (опытная группа) получали в течение 10 суток высоколипидно-белковую диету, включавшую в себя свиное сало и вареные куриные яйца *ad libitum*. Пища контрольных животных состояла из круп, овощей, рыбы, семян подсолнечника, молока, сухарей, гранулированного корма). Животные обеих групп имели постоянный доступ к пище и воде. Эвтаназия 40-суточных животных сравниваемых групп осуществлялась одновременно, декапитацией.

Исследовали липидный спектр крови. Содержание общего холестерина (ОХ), триглицеридов (ТГ), липопротеидов высокой плотности (ЛПВП) определяли при помощи стандартных коммерческих наборов по прилагаемой методике: ОХ и ЛПВП – «ВЕКТОР-БЕСТ» (Россия), ТГ – «ОЛЬВЕКС ДИАГНОСТИКУМ» (Россия). Содержание липопротеидов низкой плотности (ЛПНП) рассчитывали по формулам [4].

Результаты и обсуждение

В плазме крови крыс, получавших кетогенную диету, выявлено достоверное повышение уровней общего холестерина, ЛПВП, ЛПНП, триглицеридов по сравнению с контрольной группой животных (табл.).

Крысы подопытной группы не имели достоверных отличий от контрольных по массе тела ($134 \pm 3,8$ г против $124 \pm 4,1$ г), мозга (1547 ± 16 мг против 1568 ± 29 мг), полушария (567 ± 18 мг против 555 ± 14 мг). Изучение гистологических препаратов не выявило альтернативных изменений в неокортексе и гиппокампе. Повидимому, это свидетельствует о высокой способности ткани мозга адаптироваться к изменениям показателей липидного обмена в крови. Это согласуется с данными о том, что даже при резко выраженной экспериментальной гиперхолестеринемии в коре мозга не выявляются деструктивные изменения [6].

Морфометрическое исследование показало, что толщина коры в ПТД у подопытных животных составляла 1700 ± 83 мкм, у контрольных – 1676 ± 107 мкм,

Определяли массу тела, головного мозга и полушария. Левое полушарие фиксировали в жидкости Карнуа, заливали в парафин. Срезы толщиной 7 мкм полученные из ПТД и СТД окрашивали метиленовым синим и на нуклеиновые кислоты галлоцианином. Из СТД правого полушария готовили криостатные срезы толщиной 20 мкм, на которых проводили гистохимическую реакцию для определения активности НАДН- и НАДФН-дегидрогеназы по (НАДН-д и НАДФН-д, соответственно) [5]. На препаратах, окрашенных галлоцианином, определяли площадь сечения цитоплазмы, ядер и ядрышек нейронов слоя II и V ПТД и СТД и поля I гиппокампа, а также – концентрацию РНК в цитоплазме этих нейронов. На препаратах, выявлявших НАДФН-д и НАДН-д определяли активность этих ферментов. Указанные измерения проводили методом компьютерной морфометрии и спектрофотометрии на аппарате Мекос. Толщину коры и молекулярного слоя в ПТД и СТД измеряли окуляр-микрометром. Количественные данные обрабатывали по программе Statistica 6.

в СТД – 126 ± 29 мкм и 1269 ± 49 мкм. Таким образом, данный показатель не имел достоверных межгрупповых различий. Они не наблюдались и при сравнении толщины молекулярного слоя коры ПТД и СТД. Таким образом, введение КД не отразилось на динамике важных показателей, закономерно изменяющихся в процессе роста мозга крыс в данном возрасте [10]. Определение численной плотности нейронов, снижающейся в процессе развития мозга, показало ее уменьшение у подопытных крыс в слое II ($15,9 \pm 0,95$ против $18,5 \pm 0,85$) и слое V СТД ($7,4 \pm 0,22$ против $8,2 \pm 0,22$). В ПТД она не имела достоверных межгрупповых различий. Таким образом, влияние КД на плотность расположения нейронов наблюдалось в ассоциативной зоне коры (СТД) и не обнаруживалось в соматосенсорной зоне (ПТД).

Изучение размерных параметров нейронов выявило, что в СТД коры мозга подопытных крыс имелось достоверное увеличение площади сечения ядер и ци-

топлазмы в слое II и V, ядрышек – в нейронах гиппокампа. В последних имелось также статистически недостоверное увеличение размеров ядер и цитоплазмы. В нейронах ПТД площадь сечения ядер и цитоплазмы в слое II и V не имела достоверных отличий от таковой в контроле.

Концентрация РНК в цитоплазме нейронов всех исследованных локализаций не имела достоверных межгрупповых различий. При этом, поскольку размеры цитоплазмы в нейронах неокортекса у подопытных крыс превышали таковые в контроле, можно полагать, что суммарное количество в ней РНК было большим, чем в контроле. Активность НАДН-д, обуславливаемая внутримитохондриальным окислением, не имела достоверных различий в исследованных нейронах. Активность НАДФН-д, отражающая интенсивность внемитохондриального окисления, связанного с синтезом нуклеиновых кислот и липидов [5], была у подопытных крыс повышена в нейронах гиппокампа и не имела достоверных отличий от контроля в нейронах неокортекса.

Изложенные данные свидетельствуют, что КД не вызывает альтеративных изменений коры мозга в дорепродуктивном периоде онтогенеза, когда его развитие

еще не завершено [10]. С другой стороны, установлено, что под влиянием КД достоверные морфометрические изменения нейронов наблюдаются в СТД и не выявляются в ПТД, то есть имеются различия ее эффекта в функционально разных зонах [7]. При оценке выявленных морфометрических изменений нейронов СТД может учитываться, что увеличение размеров нейронов, их ядер и цитоплазмы могут быть следствием как 1) ускорения темпов постнатального развития этих клеток, свидетельством чего служит и уменьшение их численной плотности, так и 2) отражением их повышенной функциональной активности [10].

Таблица

Влияние липидно-белковой (кетогенной) диеты на показатели липидного спектра плазмы крови неполовозрелых крыс (M±m)

Группа	ЛПВП, мМ/л	ЛПНП, мМ/л	ТГ, мМ/л	ОХ, мМ/л
Контроль	0,72±0,04	0,27±0,02	0,69±0,05	1,23±0,10
Кетогенная диета	0,88±0,05*	0,60±0,04*	0,95±0,06*	2,02±0,17*

Примечание. * – p<0,05 по отношению к контролю.

Литература

1. Апрытин С.А., Мжельская К.В., Трусов Н.В. и др. Сравнительная характеристика in vivo моделей гиперлипидемии у крыс линии Вистар и мышей линии C57Bl/6 // Вопросы питания. – 2016. – № 6. – С. 14-23.
2. Ашмарин И.П., Антипенко А.Е., Ашапкин В.В. и соавт. Нейрохимия. – М.: Издательство Института биомедицинской химии РАМН, 1996. – 469 с.
3. Зильбертер Ю.И., Зильбертер Т.М. Энергетически метаболизм: от нейронов и глии к целому мозгу; норма, патология и коррекция // Успехи физиол. наук. – 2012. – Т. 43, № 2. – С. 37-53.
4. Климов А.Н. Превентивная кардиология. – М.: Медицина, 1977. – 271 с.
5. Лойда З., Госсрау Р., Шиблер Т. Гистохимия ферментов. Лабораторные методы. – М.: Мир, 1982. – 270 с.
6. Луценко М.Т., Рыжавский Б.Я., Чертов А.Д., Луценко Н.В. Адаптация организма к повышенному содержанию холестерина. – Благовещенск, 1973. – 143 с.
7. Мотавкин П.А. Введение в нейробиологию. – Владивосток: Медицина ДВ, 2003. – 252 с.
8. Павловская Е.В., Сурков А.Г., Шилина Н.М. и др. Современные подходы к диетотерапии ожирения у детей // Вопросы детской диетологии. – 2016. – Т. 14, № 1. – С. 41-46.

9. Поляный В.А. Применение NMDA – индуцированных судорог у крыс в условиях применения кетогенной диеты // Дальневосточный медицинский журнал. – 2012. – № 4. – С. 96-99.

10. Рыжавский Б.Я. Развитие головного мозга: отдаленные последствия влияния некомфортных условий. – Хабаровск: Изд-во ДВГМУ, 2009. – 278 с.

11. Сорвачева Т.Н., Пырьева Е.А., Усачева Е.Л. Альтернативные диетологические подходы в психоневрологической педиатрической практике // Вопросы детской диетологии. – 2013. – Т. 11, № 1. – С. 45-50.

12. Тиньков А.А., Гатиулина Е.Р., Попова Е.В. и др. Влияние адипогенной диеты в раннем возрасте на содержание микроэлементов в тканях крыс // Патол. и экспер. тер. – 2016. – Т. 60, № 4. – С. 79-85.

13. Bough K.J., Rho J.M. Anticonvulsant mechanisms of the ketogenic diet // Epilepsia. – 2007. – Vol. 48. – P. 43-58.

14. Gasior M., Rogavski M.A., Hartman A. L. Neuroprotective and disease-modifying effects of ketogenic diet // Behav. Pharmacol. – 2006. – Vol. 17. – P. 431-439.

15. Prins M.L. Cerebral metabolic adaptation and ketone metabolism after brain injury // J. Cereb. Biol. Flow. Metab. – 2008. – Vol. 28. – P. 1-16.

Literature

1. Apryatin S.A., Mzhelskaya K.V., Trusov N.V. et al. Comparative characteristics in vivo models of hyperlipidemia in Wistar rats and mice of the line C57Bl/6 // Problems of nutrition. – 2016. – № 6. – P. 14-23.
2. Ashmarin I.P., Antipenko A.E., Ashapkin V.V. et al. Neurochemistry. – M., Publishing House of Institute of Biomedical Chemistry of the RAMS, 1996. – 469 p.
3. Zilberter Yu.I., Zilberter T.M. Energy metabolism: from neurons and glia to the whole brain; the norm, pa-

- thology and correction // Progress of Physiol. Sciences. – 2012. – Vol. 43, № 2. – P. 37-53.

4. Klimov A.N. Preventive cardiology. – M.: Medicine, 1977. – 271 p.

5. Loyda Z., Gossrau R., Shibler T. Histochemistry of enzymes. Laboratory methods. – M.: Mir, 1982. – 270 p.

6. Lutsenko M.T., Ryzhavsky B.Ya., Chertov A.D., Lutsenko N.V. Adaptation of the organism to higher levels of cholesterol. – Blagoveshchensk, 1973. – 143 p.

7. Motavkin P.A. Introduction to neurobiology. – Vladivostok: Medicine of the Far East, 2003. – 252 p.
8. Pavlovskaya E.V., Surkov A.G., Shilina N.M., et al. Modern approaches to diet therapy in obese children // Problems of pediatric nutrition. – 2016. – Vol. 14, № 1. – P. 41-46.
9. Polyasny V.A. Application of NMDA-induced convulsions in rats in conditions of use of the ketogenic diet // Far Eastern Medical Journal. – 2012. – № 4. – P. 96-99.
10. Ryzhavsky B.Ya. Development of the brain: remote consequences of exposure to uncomfortable conditions. – Khabarovsk: FESMU Publishing House, 2009. – 278 p.
11. Sorvacheva T.N., Pyryeva E.A., Usacheva E.L. Alternative nutritional approaches in pediatric neuropsychiatric practice // Problems of pediatric nutrition. – 2013. – Vol. 11, № 1. – P. 45-50.
12. Tinkov A.A., Gatiulina E.R., Popova E.V., et al. Influence of adipogenic diet at an early age on the content of trace elements in tissues of rats // Path. physiology. and exp. therapy. – 2016. – Vol. 60, № 4. – P. 79-85.
13. Bough K.J., Rho J.M. Anticonvulsant mechanisms of the ketogenic diet // Epilepsia. – 2007. – Vol. 48. – P. 43-58.
14. Gasior M., Rogavski M.A., Hartman A. L. Neuroprotective and disease-modifying effects of ketogenic diet // Behav. Pharmacol. – 2006. – Vol. 17. – P. 431-439.
15. Prins M.L. Cerebral metabolic adaptation and ketone metabolism after brain injury // J. Cereb. Biol. Flow. Metab. – 2008. – Vol. 28. – P. 1-16.

Координаты для связи с авторами: Рыжавский Борис Яковлевич – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой биологии и гистологии ДВГМУ, тел. 8-(4212)-76-13-96; Лебедево Ольга Антоновна – д-р мед. наук, директор Хабаровского филиала ДНЦ ФПД – НИИ ОМиД, ведущий научный сотрудник ЦНИЛ ДВГМУ, тел. 8-(4212)-76-55-74, e-mail: leoaf@mail.ru; Лазинская Ольга Владимировна – аспирант кафедры биологии и гистологии ДВГМУ; Кузнецова Мария Станиславовна – аспирант Хабаровского филиала ДНЦ ФПД – НИИ ОМиД, тел. 8-(4212)-70-05-91, e-mail: iomid@yandex.ru; Гусева Ольга Евгеньевна – канд. мед. наук, главный врач клиники, ведущий научный сотрудник группы медико-экологических проблем здоровья матери и ребенка Хабаровского филиала ДНЦ ФПД – НИИ ОМиД, тел. 8-(4212)-76-55-35, e-mail: o.guseva@bk.ru.



УДК 616.12-004: 612.111.6:612.67:599.323.4

Т.Ю. Реброва, С.А. Афанасьев, С.В. Попов

ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ОКИСЛИТЕЛЬНОЙ МОДИФИКАЦИИ КОМПОНЕНТОВ ЭРИТРОЦИТАРНЫХ МЕМБРАН И АКТИВНОСТЬ Na^+/K^+ -АТФАЗЫ ПРИ ФОРМИРОВАНИИ КАРДИОСКЛЕРОЗА У КРЫС

Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский центр Российской академии наук, 634012, ул. Киевская, 111а, тел. 8-(3822)-55-50-57, г. Томск

Резюме

В мембранах эритроцитов крыс возрастом 4 месяца (n=20), 12 месяцев (n=20) и 24 месяца (n=20) исследовали активность Na^+/K^+ -АТФазы, содержание продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и белков (ПОБ). Каждая возрастная группа включала по 10 интактных животных и животных с постинфарктным кардиосклерозом (ПИКС). Обнаружено зависящее от возраста снижение активности Na^+/K^+ -АТФазы тений эритроцитов животных 12 и 24 месяцев. У интактных 12 мес. животных было отмечено снижение содержания вторичных продуктов ПОЛ и их увеличение в группе 24 мес. животных относительно 4 мес. Показатели ПОБ у интактных животных с возрастом не изменялись. Развитие ПИКС у 4 месячных животных сопровождалось повышением накопления продуктов окислительной модификации белков и липидов, и снижением активности Na^+/K^+ -АТФазы. Для 12 месячных животных с ПИКС было характерно менее выраженное снижение активности Na^+/K^+ -АТФазы, увеличение накопления продуктов ПОБ, при неизменном содержании вторичных продуктов ПОЛ относительно интактного возрастного контроля. У старых животных возрастом 24 месяца формирование ПИКС сопровождалось снижением активности Na^+/K^+ -АТФазы и достоверно значимым увеличением содержания вторичных продуктов ПОЛ. При этом интенсивность образования продуктов ПОБ оставалась на уровне интактных животных этого возраста.

Ключевые слова: перекисное окисление липидов, карбонильная модификация белков, Na^+/K^+ -АТФаза, постинфарктный кардиосклероз, возраст.