

ПИЩЕВАЯ ДОБАВКА НА ОСНОВЕ ВИТАМИНА В₉ НОРМАЛИЗУЕТ ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ — РЕГУЛЯТОРОВ ЛИПИДНОГО ОБМЕНА В МЫШИНОЙ МОДЕЛИ ДИЕТЫ С ВЫСОКИМ СОДЕРЖАНИЕМ ХОЛЕСТЕРИНА

А.Е. Бурова^{1,*}, А.П. Рейх^{2,*}, А.В. Горлова^{1,2}, Е.П. Свирин^{1,2}, К.Н. Забегаев^{1,2},
К.Д. Чапров², А.Е. Умрюхин², Т.В. Стрекалова^{1,2}

¹ ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»
125315, Российская Федерация, Москва, ул. Балтийская, 8

² ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова»
Минздрава России (Сеченовский Университет)
119991, Российская Федерация, Москва, ул. Большая Пироговская, 2, стр. 4

«Западная диета» (ЗД) — режим питания с избытком холестерина, насыщенных жирных кислот и легкоусвояемых сахаров — может вызывать диабет 2-го типа, метаболический синдром и другие заболевания, особенно при старении. Актуальным является поиск способов стабилизации метаболизма при ЗД, однако экспериментальных работ на данную тематику проделано немного. Нами были изучены потенциальные эффекты пищевой добавки на основе дихолин сукцината (ДС) и фолиевой кислоты (витамина В₉) — активаторов митохондриальной функции — в мышинной модели ЗД. Изучалась толерантность к глюкозе, показатели гиппокамп-зависимого поведения и относительная экспрессия генов — маркеров негативных эффектов ЗД в мозге и печени стареющих мышей, содержащихся на аналоге ЗД. Мыши C57BL/6 в возрасте 12 мес. содержались на ЗД в течение 3 недель; часть групп получала В₉ (5 мг/кг/сут), ДС (150 мг/кг/сут) либо их комбинацию с водой. Проводили тесты извлечения пищевых гранул из цилиндра и кондиционированного страха, далее методом ПЦР «в реальном времени» исследовали экспрессию генов в печени и префронтальной коре. Было показано снижение толерантности к глюкозе у мышей, содержащихся на ЗД, повышение скорости извлечения гранул из цилиндра и укорочение замирания в тесте кондиционированного страха, что может указывать на снижение когнитивных функций и повышенную импульсивность. Применение ДС и В₉ предотвратило часть изменений. При содержании на ЗД оказалась значимо повышена экспрессия гена *FASN* в печени, таким образом мы выявили новые молекулярные механизмы негативных эффектов ЗД при старении. Пищевая добавка на основе В₉ и ДС частично нормализовала экспрессию *FASN*, а также поведенческие показатели и толерантность к глюкозе при подаче ЗД. Наши результаты открывают перспективы дальнейшего исследования терапевтического и профилактического влияния компонентов данной пищевой добавки на регуляцию метаболических показателей при старении.

Ключевые слова: «западная диета» (ЗД), дихолин сукцинат, фолиевая кислота, липидный обмен, толерантность к глюкозе

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: работа поддержана Государственными заданиями ФГФУ-2022-0013 и № 121042 600278-7.

Для цитирования: Бурова А.Е., Рейх А.П., Горлова А.В., Свирин Е.П., Забегаев К.Н., Чапров К.Д., Умрюхин А.Е., Стрекалова Т.В. Пищевая добавка на основе витамина В₉ нормализует экспрессию генов — регуляторов липидного обмена в мышинной модели диеты с высоким содержанием холестерина. *Биомедицина*. 2023;19(3E):25–30. <https://doi.org/10.33647/2713-0428-19-3E-25-30>

Поступила 07.04.2023

Принята после доработки 19.05.2023

Опубликована 06.11.2023

A VITAMIN B₉-BASED DIETARY SUPPLEMENT NORMALIZES THE EXPRESSION OF LIPID METABOLISM REGULATORY GENES IN A MOUSE MODEL OF A HIGH-CHOLESTEROL DIET

Alisa E. Burova^{1,*}, Aleksandra P. Reykh^{2,*}, Anna V. Gorlova^{1,2}, Evgeniy P. Svirin^{1,2},
Konstantin N. Zabegalov^{1,2}, Kirill D. Chaprov², Aleksei E. Umrukhnin²,
Tatiana V. Strekalova^{1,2}

¹ Institute of General Pathology and Pathophysiology
125315, Russian Federation, Moscow, Baltiyskaya Str., 8

² Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health Care of Russia
119991, Russian Federation, Moscow, Bolshaya Pirogovskaya Str., 2/4

The Western Diet (WD) is a nutritional style characterized by excessive intake of cholesterol, saturated fatty acids and sugars; this nutritional pattern can cause type 2 diabetes, metabolic syndrome and other disorders, particularly during ageing. The search for effective approaches to managing the metabolic syndrome caused by WD seems to be a relevant research task. Unfortunately, this issue has attracted insufficient attention in the current literature. In this work, we use a mouse model of WD to study potential effects of a food supplement based on dicholine succinate (DS) and folic acid (vitamin B₉), which are activators of mitochondrial functions. We study glucose tolerance, parameters of hippocampus-dependent learning and relative gene expression in RT-PCR of molecular markers of negative WD effects in the brain and liver of aging mice housed on WD. Mice C57BL/6 were 12 months old and housed on WD for 3 weeks; some groups received B₉ (5 mg/kg/day) or DS (150 mg/kg/day), or their combination, via water. We carried out food displacement and fear conditioning learning tests followed by RT-PCR of several genes in the liver and brain. We found a decreased glucose tolerance, an elevated speed of pellet displacement and a reduction of freezing time in the fear conditioning test. This may suggest cognitive deficits and impulsivity of mice housed on WD. The administration of DS and B₉ diminished most of these changes. In addition, the increased expression of *FASN* in the liver points to new mechanisms of negative WD effects during aging. The food supplement based on B₉ and DS normalizes *FASN* expression and behavior, as well as glucose tolerance in WD-housed mice. Our results open new perspectives for further studies of therapeutic and preventive effects of food supplements on the regulation of metabolic parameters during ageing.

Keywords: western diet, dicholine succinate, folic acid, lipid metabolism, glucose tolerance

Conflict of interest: the authors declare no conflict of interest.

Funding: the work was carried out as part of the State tasks of FGFR-2022-0013 and No. 121042600278-7.

For citation: Burova A.E., Reykh A.P., Gorlova A.V., Svirin E.P., Zabegalov K.N., Chaprov K.D., Umrukhnin A.E., Strekalova T.V. A Vitamin B₉-based Dietary Supplement Normalizes the Expression of Lipid Metabolism Regulatory Genes in a Mouse Model of a High-cholesterol Diet. *Journal Biomed.* 2023;19(3E):25–30. <https://doi.org/10.33647/2713-0428-19-3E-25-30>

Submitted 07.04.2023

Revised 19.05.2023

Published 06.11.2023

Введение

В последнее время т.н. «западная диета» (ЗД) как стиль питания приобретает все большую распространенность по всему миру. Одной из отличительных черт ЗД является потребление пищи с повышенным содержанием жиров и холестерина, а так-

же сахаров. Показано, что данный стиль питания ведет к возникновению метаболических нарушений, таких как ожирение и диабет.

В наших исследованиях было показано, что 3-недельная ЗД индуцирует повышенную тревожность и депрессивно-подобное

поведение у мышей в поведенческих тестах «Темно-светлая камера» и «Вынужденное плавание» [6], а также приводит к возрастанию импульсивности, снижению социальных взаимодействий и нарушениям памяти [7]. Также нами было выявлено снижение толерантности к глюкозе у мышей, содержащихся на ЗД. Фармакологическая активация инсулин-зависимой передачи посредством дихолин сукцината (ДС) предотвращала развитие депрессивно-подобного и тревожного поведения у опытных животных, восстанавливала до уровня нормы экспрессию молекулярного маркера снижения митохондриальной активности — коактиватора-1b гамма-рецептора, активируемого пероксисомным пролифератором (PPARGC1b), и Толл-лайк рецептора-4 (TLR4) [6]. В особенности негативные эффекты были выражены при старении [4].

Установлено, что ДС известен своим активирующим эффектом на инсулиновый рецептор. Ранее было изучено воздействие ДС в двух дозах — 50 и 180 мг/кг/день — при подаче с питьевой водой молодым мышам [6]. Применение ДС в дозе 50 мг/кг/день привело у мышей к частичной нормализации показателей поведения в О-образном лабиринте, а в тесте «вынужденного плавания» привело к нормализации показателей «беспомощности».

В данной работе мы изучали эффективность пищевой добавки на основе ДС и витамина фолиевой кислоты (В₉), представляющей собой их комбинацию, на негативные последствия потребления ЗД у стареющих мышей. Предположительно, эта комбинация могла улучшить метаболические параметры, купировать поведенческие нарушения и вернуть к нормальным показателям экспрессию генов — регуляторов липидного обмена *GCN2*, *SREBP1*, *FASN*, *DNMT1* в печени и мозге, поскольку В₉ оказывает существенное влияние на обмен холестерина [3].

Материалы и методы

Мыши линии C57BL/6 в возрасте 12 мес. содержались на ЗД в течение 3 недель, как описано ранее [6]; часть групп одновременно получала В₉ (5 мг/кг/сут), ДС (150 мг/кг/сут) либо их комбинацию с водой. Были проведены тесты извлечения пищевых гранул из цилиндра и кондиционированного страха — классические тесты на гиппокамп-зависимое поведение у мышей, а также тест на толерантность к глюкозе. Далее был произведен забор печени и префронтальной коры для исследования генной экспрессии выбранных молекулярных маркеров: *GCN2*, *SREBP1*, *FASN*, *DNMT1* [1]. Статистический анализ проводился методом однофакторной ANOVA ($p < 0,05$).

Результаты и их обсуждение

Нами было показано снижение толерантности к глюкозе у мышей (рис. А), содержащихся на ЗД, сопровождающееся снижением скорости извлечения гранул из цилиндра (рис. В) и времени замирания в тесте кондиционированного страха (рис. С), что может указывать на снижение когнитивных функций экспериментальных животных либо их повышенную импульсивность ($p < 0,05$). При этом применение комбинации ДС и В₉ позволило предотвратить часть указанных изменений ($p < 0,05$).

Кроме того, экспрессия гена *FASN* в печени оказалась значимо повышена ($p < 0,05$; рис. D) при содержании на ЗД ($p < 0,05$), однако не отличалась от контрольного уровня в группе, получавшей пищевую добавку. В образцах префронтальной коры схожие тенденции наблюдались в экспрессии обоих генов *SREBP1* и *FASN* (рис. E, F), что, возможно, обуславливает описанные поведенческие нарушения. Подобные эффекты не были столь выражены в группах, получавших ДС либо В₉ отдельно.

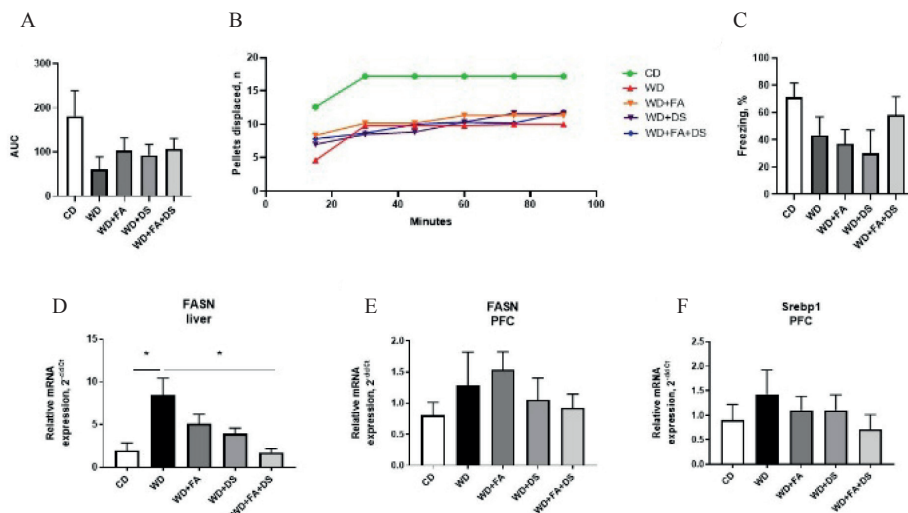


Рис. Эффекты «западной диеты» при подаче ДС и В₆. (А) Уровень толерантности к глюкозе. (В) Динамика извлечения гранул. (С) Процент замирания у мышей в тесте кондиционированного страха. Экспрессия гена *FASN* (D) в печени и (Е) в префронтальной коре. (F) Экспрессия гена *SREBP1* в префронтальной коре.

Fig. The effects of WD in DS — and B₆-treated mice. (A) Glucose tolerance. (B) Dynamics of food pellets displacement. (C) Freezing response in the contextual fear conditioning test. Expression of *FASN* (D) in the liver and (E) in the prefrontal cortex. (F) Expression of *SREBP1* in the prefrontal cortex.

Заключение

Таким образом, мы исследовали гены — регуляторы липидного обмена *SREBP1* и *FASN*, среди которых первый предположительно обуславливает негативные эффекты ЗД при старении. Пищевая добавка на основе В₆ частично нормализовала их экспрессию, а также изменения поведения и толерантность к глюкозе на фоне ЗД. Наши результаты открывают перспективы дальнейшего исследования влияния компонентов данной пищевой добавки и их ком-

бинации в низких дозах на регуляцию метаболических показателей и когнитивных функций [2]. Предположительно, комбинация данных соединений в низких дозах может улучшить метаболические параметры у пожилых людей, купировать поведенческие нарушения и метаболические параметры по аналогии с другими воздействиями [5]. Также мы показали, что *SREBP1* и *FASN* могут использоваться как маркеры негативных эффектов ЗД на мозг и печень при старении.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

- Cline B.H., Costa-Nunes J.P., Cespuglio R., Markova N., Santos A.I., Bukhman Y.V., Kubatiev A., Steinbusch H.W.M., Lesch K.-P., Strekalova T. Frontiers in Behavioral Neuroscience. *FEBS*. 2015;9.
- Ferreira D.F., Fiamoncini J., Prist I.H., Ariga S.K., de Souza H.P., de Lima T.M. Novel role of TLR4 in NAFLD development: Modulation of metabolic enzymes expression. *Biochem. Biophys. Acta*. 2015;1851(10):1353–1359.
- Leclerc D., Jelinek J., Christensen K.E., Issa J.J., Rozen R. High folic acid intake increases methylation-dependent expression of Lsr and dysregulates hepatic cholesterol homeostasis. *J. Nutr. Biochem.* 2021;88:108554.
- Poggini S., Golia M.T., Alboni S., Milior G., Sciarria L.P., Viglione A., Matte Bon G., Brunello N., Puglisi-Allegra S., Limatola C., Maggi L., Branchi I. Combined Fluoxetine and Metformin Treatment Potentiates Antidepressant Efficacy Increasing IGF2 Expression in the Dorsal Hippocampus. *Neural. Plast.* 2019;2019:4651031.

5. Rao S., Yang X., Ohshiro K., Zaidi S., Wang Z., Shetty K., Xiang X., Hassan M.I., Mohammad T., Latham P.S., Nguyen B.N., Wong L., Yu H., Al-Abed Y., Mishra B., Vacca M., Guenigault G., Allison M.E.D., Vidal-Puig A., Benhammou J.N., Alvarez M., Pajukanta P., Pisegna J.R., Mishra L. β_2 -spectrin (SPTBN1) as a therapeutic target for diet-induced liver disease and preventing cancer development. *Sci. Transl. Med.* 2021;13(624):eabk2267.
6. Strekalova T., Costa-Nunes J.P., Veniaminova E., Kubatiev A., Lesch K.P., Chekhonin V.P., Evans M.C., Steinbusch H.W. Insulin receptor sensitizer, dicholine succinate, prevents both Toll-like receptor 4 (TLR4) upregulation and affective changes induced by a high-cholesterol diet in mice. *J. Affect Disord.* 2016;196: 109–116.
7. Veniaminova E., Cespuoglio R., Cheung C.W., Umriukhin A., Markova N., Shevtsova E., Lesch K.P., Anthony D.C., Strekalova T. Autism-Like Behaviours and Memory Deficits Result from a Western Diet in Mice. *Neural. Plast.* 2017:9498247.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Бурова Алиса Евгеньевна*, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»;
e-mail: burova.ae@phystech.edu

Alisa E. Burova*, Institute of General Pathology and Pathophysiology;
e-mail: burova.ae@phystech.edu

Рейх Александра Павловна*, ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет);
e-mail: alexandrareykh@mail.ru

Aleksandra P. Reykh*, Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health Care of Russia;
e-mail: alexandrareykh@mail.ru

Горлова Анна Вячеславовна, к.б.н., ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии», ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет);
e-mail: anna.gorlova204@gmail.com

Anna V. Gorlova, Cand. Sci. (Biol.), Institute of General Pathology and Pathophysiology, Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health Care of Russia;
e-mail: anna.gorlova204@gmail.com

Свирин Евгений Павлович, к.б.н., ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии», ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет);
e-mail: jogikint@gmail.com

Evgeniy P. Svirin, Cand. Sci. (Biol.), Institute of General Pathology and Pathophysiology, Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health Care of Russia;
e-mail: jogikint@gmail.com

Забегалов Константин Николаевич, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии», ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет);
e-mail: konstantin.n.zabegalov@gmail.com

Konstantin N. Zabegalov, Institute of General Pathology and Pathophysiology, Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health Care of Russia;
e-mail: konstantin.n.zabegalov@gmail.com

Чапров Кирилл Дмитриевич, ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет);
e-mail: chapkir@gmail.com

Kirill D. Chaprov, Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health Care of Russia;
e-mail: chapkir@gmail.com

Умрюхин Алексей Евгеньевич, д.м.н., проф., ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет);
e-mail: alum1@yandex.ru

Aleksei E. Umrukhin, Dr. Sci. (Med.), Prof., Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health Care of Russia;
e-mail: alum1@yandex.ru

Стрекалова Татьяна Валерьевна, к.м.н., проф., ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии», ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет);
e-mail: t.strekalova@maastrichtuniversity.nl

Tatiana V. Strekalova, Cand. Sci. (Med.), Prof., Institute of General Pathology and Pathophysiology, Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health Care of Russia;
e-mail: t.strekalova@maastrichtuniversity.nl

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author