

УДК 616-009:582.736.3:547.953:616.89-008.45/48-092.9

**А.Л. Дроздов,
А.Г. Родинский,
А.Г. Зубковская,
Е.М. Демченко
Л.А. Романенко**

НЕЙРОТРОПНОЕ ДЕЙСТВИЕ СОЕВОГО ЛЕЦИТИНА В ПРОЦЕССЕ ФОРМИРОВАНИЯ КОГНИТИВНОЙ ФУНКЦИИ У БЕЛЫХ КРЫС

ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»
кафедра фізіології
(зав. – д. мед. н., проф. О.Г. Родинський)
вул. Дзержинського, 9, Дніпропетровськ, 49044 Україна
SE «Dnipropetrovsk medical academy of Health Ministry of Ukraine»
Department of physiology
Dzerzhinsky str., 9, Dnipropetrovsk, 49044, Ukraine
e-mail: a.rodinsky@gmail.com
e-mail: cndl_ddma@mail.ru

Ключевые слова: соевый лецитин, полиненасыщенные жирные кислоты (ПНЖК), когнитивная функция
Key words: soy lecithin, polyunsaturated fatty acids (PUFAs), cognitive function

Реферат. Нейротропна дія соєвого лецитину в процесі формування когнітивної функції білих щурів. Дроздов О.Л., Родинський О.Г., Зубковська А.Г., Демченко О.М., Романенко Л.А. В експериментах на білих щурах вивчалася нейротропна дія соєвого лецитину, відомого як джерело поліненасичених жирних кислот, на фоні нейротоксичного впливу чотирьоххлористого вуглецю. Курсове введення CCl_4 виявило суттєвий гальмівний ефект, що позначився на спонтанній поведінці білих щурів у «відкритому полі» значним пригніченням рухливості (44%-77%), дослідницької активності (81%), а також посиленням емоційності (140%). Таке порушення когнітивної функції, можливо, пов'язане з прооксидативним ефектом CCl_4 та зменшенням вмісту поліненасиченої фракції жирних кислот у структурі ліпідів мозку. Курсове використання соєвого лецитину, препарату з антиоксидативною дією та мембраностабілізуючим ефектом, приводило до оптимізації спонтанної поведінки щурів. Відновлювався рівень дослідницького ніркового інстинкту, емоційності, вертикальної рухливості, а горизонтальна рухливість навіть збільшувалась на 59%. Таким чином, соєвий лецитин можна рекомендувати як препарат, що корегує когнітивну функцію мозку.

Abstract. Neurotropic action of soy lecithin in the process of cognitive function formation in white rats. Drozdov A.L., Rodinsky A.G., Zubkovskaya A.G., Demchenko E.M., Romanenko L.A. In experiments conducted on white rats neurotropic action of soy lecithin, known as a source of unsaturated fatty acids on the background of the neurotoxic impact of CCl_4 was studied. Usage of CCl_4 by courses showed a significant inhibitory effect that affected the spontaneous behavior of rats "in the open field" by significant inhibition of mobility (44 - 77%), research activity (81%) and increased emotionality (140%). Such usage of soy lecithin having anti-oxidant activity and membrane-stabilizing effect led to optimization of spontaneous behavior of rats. The infringement of cognitive function is, possibly, due to the prooxydative effect of CCl_4 and decrease in the unsaturated fatty acid fraction in the structure of the brain lipids. Level of research, mink instinct, emotionality, vertical mobility were restored, and horizontal mobility even increased by 59%. Thus, soy lecithin may be recommended as a drug with correcting cognitive brain function.

В группе препаратов, корригирующих когнитивную функцию мозга, все большее значение приобретают активные соединения мембраностабилизирующего действия. Уникальной особенностью мозга, как известно, является интенсивное использование кислорода. Несмотря на сравнительно небольшую массу – 2% от массы тела, он потребляет 20–25% всего кислорода, поступающего в организм. Обычно 3–5% O_2 не используется в синтезе АТФ и может включаться в генерацию активных форм кислорода (АФК) [1]. С одной стороны, данные соединения играют роль посредников передачи сигнальной информации. С другой стороны, они участвуют в модификационных перестройках клеточных

мембран в процессе свободно-радикального окисления (СРО).

Как известно, субстратами СРО являются ненасыщенные жирные кислоты (НЖК), фракция которых в мозге очень высока уже ввиду того, что на долю ЖК нервной системы приходится 40% всей массы липидов. Перекисное окисление липидов (ПОЛ) является необходимым метаболическим процессом, одной из основных функций которого является регуляция структуры и свойств мембран [8]. В частности, снижение уровня «ненасыщенности» в структуре липидов повышает вязкостные свойства мембран и снижает их проницаемость. В свою очередь, усиление жёсткости мембранных липидов связано с

увеличением латерального сжатия мембран, что обеспечивает более поверхностное расположение рецепторов и, как следствие, улучшает синаптическую передачу [11]. Такое усиление аффинности медиаторно-рецепторного комплекса известно для серотонинергической синаптической передачи, предполагается для норадренергической нейромедиации. Регуляция активности отдельных медиаторных систем мозга эффективно корректирует интегративную деятельность ЦНС, в частности, спонтанную поведенческую активность, эмоциональность, когнитивную функцию [9].

Учитывая вышесказанное, можно предположить, что одними из активных мембраностабилизирующих соединений могут быть препараты, восполняющие, а значит и регулирующие уровень НЖК мозга [7]. На наш взгляд, интересным в данном контексте может быть легко доступный соевый лецитин – мощный источник полиненасыщенных ЖК, в том числе эссенциальных, не синтезирующихся в организме [6]. И если для данного лекарственного средства подробно и в достаточном объеме исследованы гепатопротекторный эффект, применение лецитина в качестве пищевой добавки в откармливании птицы, крупного рогатого скота, рыбы и др., то нейротропное действие является малоизученным. Поэтому целью работы было изучение роли соевого лецитина в формировании когнитивной функции ЦНС на фоне токсического стрессорного воздействия четырёххлористого углерода (ЧХУ).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Наблюдения проведены на 30 белых беспородных половозрелых крысах массой 170-240 г.

Все эксперименты были проведены в соответствии с существующими международными требованиями и нормами гуманного отношения к животным (Конвенция Совета Европы от 18.03.1986 г.; Закон Украины от 21.02.2006 г. № 3447-IV).

Спонтанная поведенческая активность животных в условиях свободного перемещения является результатом интегративной деятельности ЦНС и осуществляется с участием высших нервных центров.

Изменения поведения животных в тесте «открытое поле» определяли в установке размером 100 на 100 см с расстояниями между ложными норками по 10 см [2]. О горизонтальной двигательной активности судили по количеству пересеченных в течение 3 минут квадратов, об исследовательской активности – по числу

подъемов на задние лапы, об эмоциональной реактивности – по количеству болюсов дефекаций и продолжительности грумминга, о безусловно-рефлекторной деятельности – по числу обследованных норок.

Модель нарушений функции мозга создавали путем внутрижелудочного введения ЧХУ, разведенного в 2 раза в оливковом масле, в дозе 2,5 г/кг на 1, 3 и 7 сутки наблюдений. Исследуемые показатели регистрировали перед началом, на 3, 7 и 14 сутки эксперимента у контрольных животных и крыс, которым ежедневно внутрижелудочно вводили 20% взвесь соевого лецитина (СЛ). Контрольной группе крыс ежедневно внутрижелудочно вводили изотонический раствор хлористого натрия по 100 г/кг.

В конце эксперимента изучалась микроскопическая структура ткани мозга.

Результаты наблюдений обрабатывали математически с учетом t-критерия Стьюдента [4].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Одним из основных механизмов токсического действия CCl_4 на ЦНС является активация процессов СРО на фоне инактивации ферментативных и неферментативных систем антиоксидантной защиты (АОЗ). Чрезмерная интенсификация процессов ПОЛ, может приводить к снижению количества ПНЖК в структуре мембранных липидов мозга и, как результат, к нарушению системы гомеовязкости клеточных мембран [3]. Уменьшение доли ненасыщенной фракции ЖК в фосфолипидах мозга нарушает сигнальную функцию мембран, особенно в отношении серотонин-, адренергической медиаторных систем.

Исследование спонтанной поведенческой активности крыс на фоне введения CCl_4 , выявило существенные нарушения интегративной деятельности ЦНС. В частности, на 3 сутки наблюдений отмечалось снижение на 52,7% числа обследованных "норок" (табл. 1). На 7 день эксперимента резко увеличивалось (в 3,5 раза) количества болюсов дефекаций (рис. 1). Наиболее выраженные сдвиги поведения экспериментальных животных отмечались на 14 сутки исследований. В этот период животные были вялыми, со взъерошенной шерстью, отмечалась существенная потеря веса, что свидетельствует о выраженной интоксикации CCl_4 . Со стороны поведения отмечалось достоверное снижение горизонтальной локомоторной активности (на 48,0%), вертикальной подвижности (77,1%), продолжительности грумминга (61,3%) и выраженности норкового рефлекса (на 80,6%).

Влияние четыреххлористого углерода на поведение крыс в тесте "открытое поле"

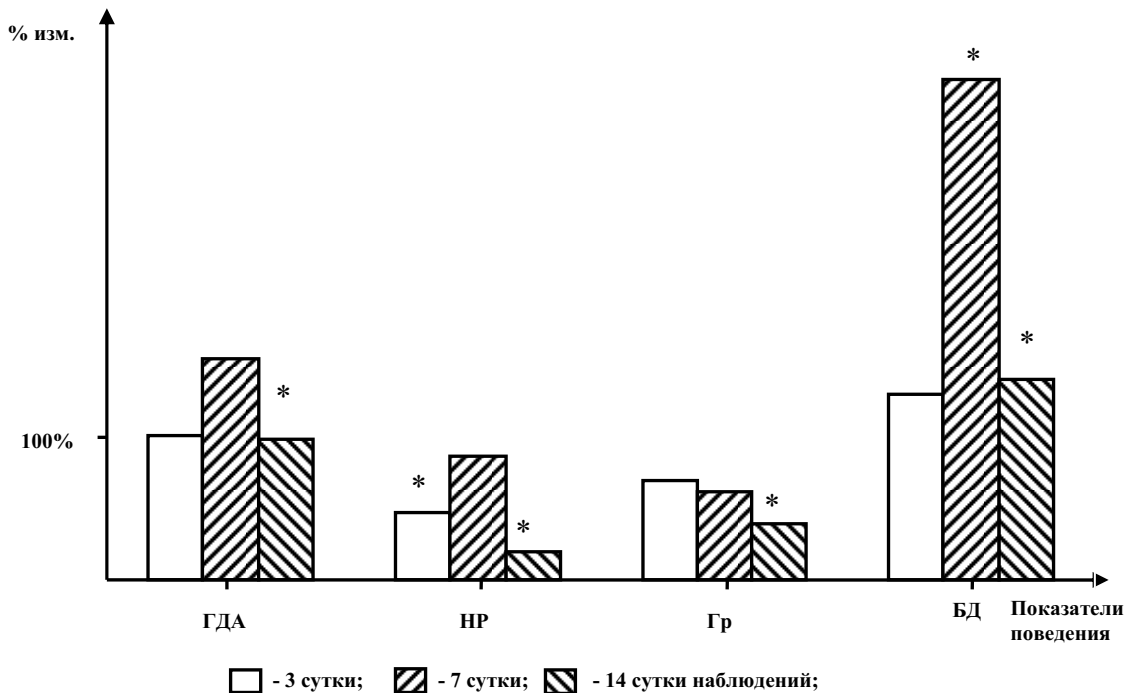
Серии наблюдений	Статистические показатели	Показатели поведения				
		ГДА ¹⁾	ВДА	Гр (сек.)	НР	БД
Исходный фон	М	22,3	4,8	11,1	3,6	1,0
	±m	2,2	0,8	1,7	0,4	0,3
3 сут	М	22,6	4,4	7,7	1,7*	1,3
	±m	5,6	0,8	2,	0,6	0,6
7 сут	М	34,6	4,0	6,9	3,0	4,5*
	±m	5,9	0,6	1,4	0,5	1,1
14 сут	М	11,6*	1,1*	4,3*	0,7*	2,4*
	±m	2,2	0,5	1,1	0,3	0,4

Примечания: ¹⁾ ГДА - горизонтальная двигательная активность; ВДА - вертикальная двигательная активность; Гр - продолжительность груминга в секундах; НР - норковый рефлекс, количество обследованных "ложных норок"; БД - количество болюсов дефекаций, * - p < 0,05 по сравнению с исходным фоном.

В то же время, оставалось статистически значимым возрастание числа болюсов дефекаций (на 140,0%), свидетельствующее о повышенном уровне тревожности животных.

Анализ приведенных результатов определения показателей поведения крыс при использовании ЧХУ показывает, что нейротропный эффект интоксикации проявляется в угнетении

всех видов спонтанной подвижности животных и их безусловно-рефлекторной деятельности (рис. 1). Вместе с тем, под воздействием СС1₄, начиная с 7 дня наблюдений, резко и стойко возрастает эмоциональное напряжение животных, о чем свидетельствует увеличение количества болюсов дефекаций.



ГДА - горизонтальная двигательная активность; Р - норковый рефлекс; Гр - продолжительность груминга; БД - количество болюсов дефекаций; * - p < 0,05 по сравнению с исходными показателями.

Рис. 1. Влияние четыреххлористого углерода на поведение животных

Использование соевого лецитина приводило к стабилизации, при сопоставлении с исходным фоном, изучаемых показателей поведения животных на всех этапах эксперимента (табл. 2). Исключениями являются достоверное, по сравне-

нию с исходным фоном, снижение на 53,4% продолжительности груминга на 7 сутки и увеличение на 58,7% числа пересеченных крысами квадратов на 14 день, отражающее их локомоторную активность.

Таблица 2

Влияние соевого лецитина на поведение крыс в условиях интоксикации четырёххлористым углеродом

Серии наблюдений	Статистические показатели	Показатели поведения				
		ГДА ¹⁾	ВДА	Гр (сек.)	НР	БД
Исходный фон	М	24,4	4,7	19,1	3,7	1,2
	±m	3,1	0,7	4,5	0,6	0,3
5 сутки	М	31,3	4,3	20,7	5,6	1,1
	±m	4,0	0,7	3,7	1,0	0,3
7 сутки	М	33,3	3,3	8,9*	3,2	1,1**
	±m	5,8	0,6	2,7	0,8	0,3
14 сутки	М	38,7*,**	5,4**	13,4**	3,1**	1,3
	±m	4,0	0,8	2,9	0,8	0,4

Примечания: ¹⁾ Обозначения см. табл. 17; * - $p < 0,05$ по сравнению с исходным фоном; ** - $p < 0,05$ при сопоставлении с аналогичным периодом интоксикации ЧХУ.

Однако наиболее выраженный характер эти сдвиги имели на 14 сутки исследований. К исходу наблюдений под влиянием соевого лецитина статистически значимо, по сравнению с эффектами ЧХУ, возросли горизонтальная (в 2,3 раза) и вертикальная (в 3,6 раза) (табл. 1) двигательная активность, продолжительность умывательных движений (в 2,1 раза) и количество обследованных норок (в 3,4 раза). В то же время, на 7 сутки наблюдений ежедневное введение СЛ на 75,6% достоверно уменьшало число болюсов дефекаций. Данная тенденция сохранялась и к исходу определения биологической активности данного лецитина, что связано с уменьшением эмоционального стресса, вызванного ЧХУ.

Таким образом, лечебно-профилактическое использование соевого лецитина в дозе 2,5 г/кг блокирует нейротропные эффекты интоксикации

четырёххлористым углеродом, стабилизируя поведение животных.

Гистологическое исследование тканей мозга показало следующие результаты (рис. 2).

Микроскопически на препаратах клетки обычной формы и ориентации. Отсутствуют расширенные и заполненные кровью капилляры. Дистрофических изменений в клетках нет. Очертания ядер глиальных клеток правильной формы. Не наблюдаются периваскулярные и перичеселлюлярные отеки. Клетки нейроглии без признаков патологии во всех группах. То есть, у контрольных крыс микроскопическая структура нервной ткани особенностей не имела. Использование ЧХУ по выбранной нами схеме, как и введение на фоне интоксикации им соевого лецитина (рис. 3) не оказывало на морфологические показатели ЦНС существенного воздействия.

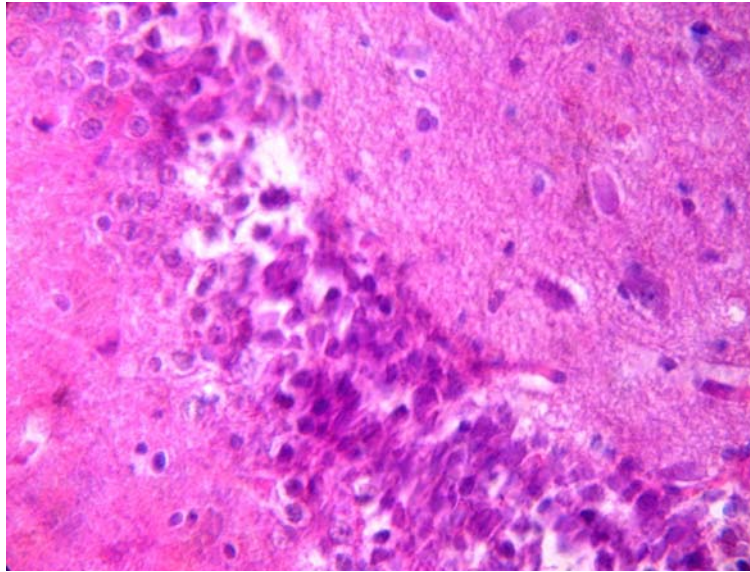


Рис. 2. Структура головного мозга контрольных крыс. Окраска гематоксилин - эозин, увеличение 7×40

Возможно, такой эффект оптимизации когнитивной функции ЦНС связан с мембраностабилизирующим действием данного вещества. Лецитин как источник ПНЖК является резервом данных ЖК. В случае интенсивного разрушения фракции ПНЖК в структуре липидов мозга, что может быть связано с действием CCl_4 , данный препарат может восстанавливать долю полиненасыщенных ЖК в жирнокислотном спектре фосфолипидов. Кроме того, повышая активность ферментативных и неферментативных систем АОЗ, соевый лецитин может приостанавливать процесс радикалообразования, а значит разрушения структуры мембранных липидов. Оба процесса активно восстанавливают вязкостные

свойства мембран, их проницаемость, а также рецепторную функцию нейронов. Значительное торможение двигательной и исследовательской активности на фоне существенно возросшей эмоциональности животных при действии CCl_4 может быть результатом эмоционального стресса. Эмоциональное напряжение, в свою очередь, вызвано дисбалансом нейромедиаторных систем мозга, особенно серотонин-, адренэргической синаптической передачи [5]. Восстановление липидного компонента мембран при действии соевого лецитина, возможно, оптимизирует активность серотониновой нейромедиации и нормализует когнитивную функцию мозга.

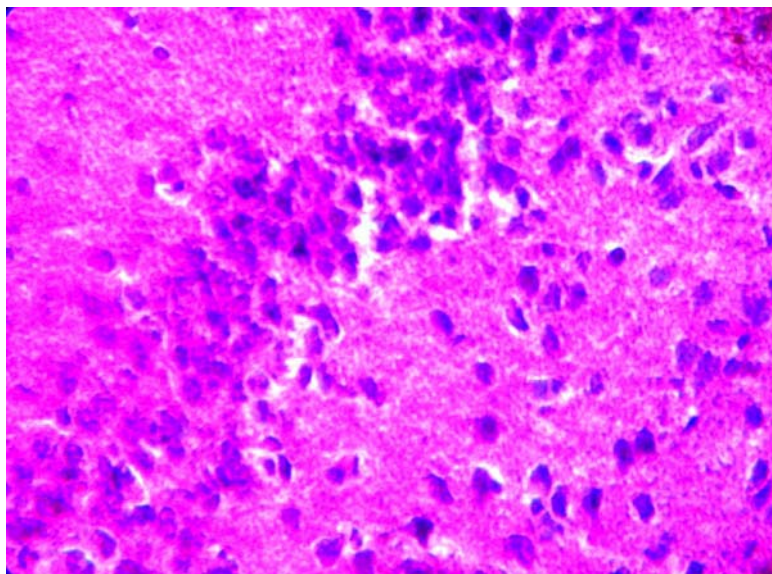


Рис. 3. Структура мозга крыс на 14 день интоксикации ЧХУ при введении соевого лецитина. Окраска гематоксилин-эозин, увеличение 7×40

ВЫВОДЫ

1. Введение четыреххлористого углерода белым крысам сопровождается нейротоксическим эффектом, который проявлялся угнетением двигательной активности (на 48%-77%), врожденного исследовательского инстинкта (80,6%), а также усилением эмоционального напряжения (на 140%).

2. Курсовое использование соевого лецитина оптимизирует нарушенную действием СС14 когнитивную функцию, восстанавливая подвижность, активность норкового инстинкта и эмоциональность белых крыс.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Активные формы кислорода в сигнальной трансдукции / Л.Б. Дробот, А.А. Самойленко, А.В. Воронников [и др.] // Укр. біохім. журнал. – 2013. – № 6. – С. 819 – 825.
2. Буреш Я. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения / Я. Буреш, О. Бурешова, Д. Хьюстон – М.: Высшая школа, 1991. – С. 175 – 188, 119 – 122.
3. Галкина О.В. Особенности свободнорадикальных процессов и антиоксидантной защиты взрослого мозга / О.В. Галкина // Нейрохимия. – 2013. – Т. 30, № 2. – С. 93-98.
4. Кокунин В.А. Статистическая обработка данных при малом числе опытов / В.А. Кокунин // Укр. биохим. журнал. – 1975. – Т. 47, № 6. – С. 776 – 791.
5. Концентрация серотонина и его метаболита 5-гидроксииндолуксусной кислоты в структурах мозга крыс линии Вистар и Way/Rij, влияние имипрамина на пик-волновую активность / И.С. Мидзяновская, А.А. Фоломкина, О.Х. Кошгоянц [и др.]. // Нейрохимия. – 2010. – Т. 27, № 3. – С. 238 – 244.
6. Лецитин, як фактор одержання продукції тваринництва / В.В. Микитюк, І.С. Глух, С.М. Шульга [та ін.]. – К.: Освіта України, 2010. – 114 с.

7. Привроцкая И.Б. Окислительный стресс в лейкоцитах крови про/антиоксидативный статус и жирнокислотный состав липидов поджелудочной железы при экспериментальном остром панкреатите у крыс / И.Б. Привроцкая, Т.М. Кучмеровская // Укр. біохім. журнал. – 2013. – №5. – С. 711 – 718.
8. Становление в филогенезе липопротеинов низкой и очень низкой плотности и инсулина. Липотоксичность жирных кислот и липидов. Позиционные изомеры триглицеридов / В.Н. Титов, И.А. Востров, Ю.К. Ширяева [и др.] // Успехи соврем. биологии. – 2012. – Т. 32, № 5. – С. 506-526.
9. Уколова Т.Н. Постурально-моторные реакции и распределение моноаминов мозга у крыс кататонической линии в раннем онтогенезе / Т.Н. Уколова, Т.А. Алёхина, И.О. Мешков // Нейрохимия. – 2012. – Т. 29, № 2. – С. 128-133.
10. Almedia P.F.F. Thermodynamics of lipid interaction in complex bilayers / P.F.F. Almedia // Biochim. Biophys. Acta. – 2009. – Vol. 1788. – P. 72-85.
11. Simons K. Membrane organization and lipid rafts / K. Simons, J.L. Sampaio // Cold Spring Harb. Perspect. Biol. 3 – 2011. – a004697

REFERENCES

1. Drobot LB, Samojlenko AA, Vorotnikov AV. [Reactive oxygen species in signal transduction]. 2013;6:819-25. Russian.
2. Buresh Ya. [Techniques and basic experiments to study the brain and behavior]. 1991;399. Russian.
3. Galkina OV. [Features of free radical processes and antioxidant protection of the adult brain] Neurochemistry. 2013;30(2):93-98. Russian.
4. Kokunin VA. [Statistical data processing with a small number of experiments]. Ukrainian Biochemical Journal. 1975;47(6): 776-91. Russian.
5. Midzjanovskaja IS, Folomkina AA, Kosh-tojanc OH. [The concentration of serotonin and its metabolite 5-HIAA in brain structures of Wistar rats and Way / Rij, impact of imipramin on peak-wave activity] Neurochemistry. 2010;27(3):238-44. Russian.
6. Mikitjuk VV, Gluh IS, Shul'ga SM. [Lecithin as a factor in obtaining animal products]. 2010;114. Ukrainian.

7. Privrockaja IB, Kuchmerovskaja TM. [Oxidative stress in blood leukocytes pro / antioxidative status and fatty acid composition of lipids of the pancreas in experimental acute pancreatitis in rats]. Ukrainian Biochemical Journal. 2013;5:711-18. Russian.
8. Titov VN, Vostrov IA, Shirjaeva JuK. [Coming-to-be in phylogeny of lipoproteins of low and very low density and insulin. Lipotoxicity of fatty acids and lipids. Positional isomers of triglycerides]. The successes of modern biology. 2012;32(5):506-26. Russian.
9. Ukolova TN, Aljohina TA, Meshkov IO. [Postural-motor reactions and distribution of brain monoamines in rats of Catatonic line in early ontogenesis] Neurochemistry. 2012;29(2):128-33. Russian.
10. Almedia PFF. Thermodynamics of lipid interaction in complex bilayers. Biochim Biophys. Acta. 2009;1788:72-85.
11. Simons K. Membrane organization and lipid rafts. Cold Spring Harb. Perspect. Biol. 3 2011. – a004697.

Стаття надійшла до редакції
22.11.2014