

удк 612.398:612.812.2].08.1

## АКТИВАЦИЯ КОГНИТИВНОГО ПОТЕНЦИАЛА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ ПРИ ЭНТЕРАЛЬНОМ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ПРЕДШЕСТВЕННИКОВ ИНГИБИТОРОВ ГИСТОНДЕЗАЦЕТИЛАЗ

*С.В. Кузнецов<sup>1\*</sup>, В.Ф. Кузнецов<sup>1</sup>, Т.П. Обернебесова<sup>2</sup>*

<sup>1</sup> *Пермский государственный медицинский университет им. академика Е.А. Вагнера,*

<sup>2</sup> *Пермский базовый медицинский колледж, Россия*

## COGNITIVE POTENTIAL ACTIVATION IN EXPERIMENTAL ANIMALS ENTERALLY INTRODUCED HISTONDEACETYLASE INHIBITOR PRECURSORS

*S.B. Kuznetsov<sup>1\*</sup>, V.F. Kuznetsov<sup>1</sup>, T.P. Obernebesova<sup>2</sup>*

<sup>1</sup> *Academician Ye.A. Vagner Perm State Medical University,*

<sup>2</sup> *Perm Basic Medical College, Russian Federation*

---

**Цель.** Изучить влияние предшественников короткоцепочечных жирных кислот (КЦЖК), являющихся натуральными ингибиторами гистондеацетилазы (ИГДАЦ), на когнитивные функции экспериментальных животных.

**Материалы и методы.** Изучены когнитивные особенности 32 самцов белой беспородной мыши в возрасте 15–16 недель, разделенных на 4 группы в зависимости от рациона питания, проходивших испытание в *T*-образном лабиринте.

**Результаты.** В контрольной группе после трехкратного обучения в *T*-образном лабиринте выработка рефлекса была выявлена у 2 из 9 экспериментальных животных ( $p > 0,05$ ). В группе животных, которые дополнительно к обычному питанию получали фруктоолигосахариды (инулин), рефлекс выработался у 2 из 7 экспериментальных животных ( $p > 0,05$ ). В группе животных, получавших дополнительно пшеничные отруби, рефлекс был выработан у 3 особей из 8 ( $p > 0,05$ ). В четвертой группе, животные которой дополнительно получили натуральный комплекс КЦЖК и ферментированные пищевые волокна (ФПВ) (БАД «Рекицен-РД»), рефлекс был выработан у 6 особей из 8 ( $p < 0,05$ ).

**Выводы.** При анализе полученных данных установлено, что при применении натурального комплекса ФПВ и КЦЖК статистически значимо увеличивается способность к обучению в *T*-образном лабиринте у экспериментальных животных относительно контрольной группы.

**Ключевые слова.** Рефлекс, память, *T*-образный лабиринт, короткоцепочечные жирные кислоты, ингибиторы гистондеацетилазы.

---

© Кузнецов С.В., Кузнецов В.Ф., Обернебесова Т.П., 2016

тел. 8 (342) 229 37 33

e-mail: st1987@mail.ru

[Кузнецов С.В. (\* контактное лицо) – младший научный сотрудник центральной научной исследовательской лаборатории; Кузнецов В.Ф. – заведующий кафедрой нормальной физиологии; Обернебесова Т.П. – преподаватель отделения «Стоматология ортопедическая»].

**Aim.** To study the effect of short-chain fatty acids (SCFA), as natural histone deacetylase inhibitors, on cognitive function of experimental animals.

**Materials and methods.** Cognitive peculiarities of 32 white outbred male mice, aged 15 to 16 weeks, were studied. Mice were divided into 4 groups depending on their diet and tested in T-shaped labyrinth.

**Results.** In the control group, after a thrice-repeated training in a T-shaped labyrinth, the formation of reflex was revealed in 2 out of 9 experimental animals ( $p > 0,05$ ). In the group of animals, who in addition to usual nutrition received fructooligosaccharides (inulin), reflex was obtained in 2 out of 7 experimental animals ( $p > 0,05$ ). In the group of animals, who additionally took wheat bran, reflex was formed in 3 animals out of 8 ( $p > 0,05$ ). In the animals of group 4, who additional received a natural complex containing SCFA and fermentable dietary fibers (BAS "Reckicen-RD"), this reflex was formed in 6 animals out of 8 ( $p < 0,05$ ).

**Conclusions.** It was stated that when using a natural complex of FDF and SCFA, the experimental animals' learning capability in the T-shaped labyrinth statistically significantly increased versus the control group.

**Key words.** Reflex, memory, T-shaped labyrinth, short-chain fatty acids, histone deacetylase inhibitors.

## ВВЕДЕНИЕ

Синаптическая пластичность, имеющая очевидную гомеостатическую и поведенческую значимость, оторванная от практического контекста, не понятна и кажется надуманной. Одним из важнейших проявлений этого феномена является долговременная потенция синапсов (ДПС) гиппокампа, обеспечивающая процесс долговременной памяти [9]. Исходя из этого, совершенно очевидна актуальность активизации представленного феномена в повседневной жизни и при различных вариантах нарушения когнитивного потенциала в клинике. Общеизвестно, что скорость выработки условного рефлекса в экспериментальных исследованиях напрямую коррелирует с синаптической пластичностью гиппокампа и когнитивным потенциалом исследуемого животного [13].

Введение животным в гиппокамп бутирата натрия, являющегося производным короткоцепочечных жирных кислот (КЦЖК), приводит к усилению нейрогенеза и ДПС, что обусловлено активацией ацетилирования гистонов [10, 12].

Использование бутирата натрия в этом виде имеет свои особенности. Так, во-первых, очевидно, что интрагиппокампаль-

ное его использование возможно только в эксперименте. Во-вторых, энтеральное его применения весьма затруднительно из-за крайне неприятных вкусовых и обонятельных свойств.

В этой связи для активизации ДПС гиппокампа актуально использование предшественников бутирата, которые уже в организме метаболизируются представителями микрофлоры в КЦЖК. В качестве таких предшественников используют различные варианты продуктов, содержащих пищевые волокна. Это могут быть фруктоолигосахариды в виде инулина или пшеничные отруби [14]. Также следует отметить, что существуют натуральные комплексы ферментированных пищевых волокон и КЦЖК (этот продукт выпускается ООО «Ягодное плюс», г. Киров, под коммерческим названием «Рекицен-РД»). Представленные продукты, обладающие широким спектром адаптивного потенциала, являются важнейшим компонентом здоровьесберегающих технологий, позволяющих оптимизировать измененную реактивность и резистентность организма [2, 3, 6].

Отсутствуют сравнительные данные о влиянии представленных вариантов предшественников ингибиторов гистондеацетилаз (ИГДАЦ) на когнитивные функции организма.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для изучения когнитивных способностей экспериментальных животных, в частности мышей, используют *T*-образный лабиринт. Исследование способности к обучению у грызунов в *T*-образном лабиринте входит в перечень методических указаний по изучению ноотропной активности выбранных веществ [1, 5].

В *T*-образном лабиринте изучают исследовательское поведение грызунов, являющееся их естественной реакцией на предъявление новых условий [8]. Животные используют полученную ранее информацию, зафиксированную «рабочей» памятью. При предъявлении новых требований поведение животного будет зависеть от итогов предыдущего исследования, которое запоминается. Происходит формирование ДПС гиппокампа и реорганизация рабочей памяти в долговременную [12]. Использование данной экспериментальной установки позволяет выявить не только ноотропные свойства изучаемых веществ, но и тонкие нарушения функций гиппокампа [8].

Особенности движения животного по установке отражают его мотивацию достичь кормушки после пищевой депривации. Использование предшественников ИГДАЦ уменьшает у грызунов тревожность [4], что способствует поддержанию мотивации и выработке условных рефлексов [15].

Проведено исследование 32 самцов белой беспородной мыши в возрасте 15–16 недель, полученных из вивария НПО «Биомед» (г. Пермь). Животные были разделены на следующие группы:

1-я (контрольная) группа – животные, находящиеся на стандартном рационе вивария ( $n = 9$ );

2-я – животные, находящиеся на стандартном рационе вивария и дополнительно получавшие по 1,4 г инулина (Now Foods, U.S.A.) в течение 14 дней ( $n = 7$ );

3-я – животные, находящиеся на стандартном рационе вивария и дополнительно получавшие по 2 г пшеничных отрубей (ООО «Эверест», г. СПб.) в течение 14 дней ( $n = 8$ );

4-я – животные, находящиеся на стандартном рационе вивария и дополнительно получавшие по 1,7 г БАД «Рекицен-РД®» (ООО «Ягодное плюс», г. Киров) в течение 14 дней ( $n = 8$ ).

После окончания кормления экспериментальные животные в течение 3 дней подряд проходили обучение в *T*-образном лабиринте [8]. Эта установка состояла из стартового отсека и центрального рукава (размеры 6×6 и 20×6 см) и 2 боковых рукавов (20×6 см). С целью адаптации животных к рукам экспериментатора перед первым исследованием в течение 15 минут исследователь помещал руку в клетку, в которой содержали животных, затем брал каждое животное в руку, где оно находилось в течение 2–3 минут на удалении от клетки 2–3 метра. При выраженном беспокойстве животного, сопровождающемся писком, уриной, дефекацией, агрессией, мышечной дрожью, его помещали обратно в клетку, после чего через 5 минут процедуру осуществляли повторно.

В качестве пищевого подкрепления использовали стандартную зерновую смесь (зерна пшеницы, подсолнечника), которую мыши получали в виварии в утренние часы. Далее животное помещали в стартовый отсек, где оно находилось в течение 30 секунд, после чего открывали дверцу стартового рукава. В течение 2 минут животное проходило по лабиринту. При удлинении времени про-

хождения животного по лабиринту его возвращали в стартовый отсек.

При первом помещении животного в лабиринт фиксировали, какой из рукавов оно выбирало. Затем в противоположном рукаве размещали пищу (5–6 зерен). При первом достижении рукава с кормушкой животному позволялось съесть несколько зерен. В дальнейшем с целью препятствия угасанию исследовательского поведения, основанного на поиске пищи, животное при достижении рукава с пищей сразу же возвращали в стартовый отсек. При выборе противоположного рукава животное попадало в ловушку размером 3×10 см, в которой оно находилось 60 секунд. Размеры компонентов лабиринта не вызывали иммобилизации животного, однако значительно ограничивали его возможность в движении. По окончании 45 секунд животное возвращали в стартовый отсек. Нами был использован данный вид «наказания», поскольку он не вызывал у животного депривации исследовательского поведения.

Каждое животное 30 раз проходило по лабиринту. Критериями обученности являлось выполнение 7 пробегов подряд из стартового отсека в отсек с пищей или выполнение 8 правильных пробегов из последних 10 предъявлений. Критериями прекращения исследования являлись нежелание выйти из стартового отсека в течение 90 секунд, а также выпрыгивание животного из установки.

Исследования проводили натощак в течение 3 дней подряд с 9.00 до 10.00. Время пищевой депривации составляло 18 часов. Во время третьего тестирования было зафиксировано количество экспериментальных животных с выработанным рефлексом.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием

теста Фишера и коэффициента сопряженности Пирсона.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Условный рефлекс был успешно выработан у 2 из 9 животных контрольной группы, которые не получали продукты, содержащие предшественники ингибиторов гистондеацетилаз (таблица). У 2 из 7 (28,57 %) животных, которые дополнительно к обычному питанию получали фруктоолигосахариды (инулин), являющиеся предшественником ингибиторов гистондеацетилаз, рефлекс был получен. В третьей группе рефлекс был выработан у 3 животных из 8, в четвертой группе – у 6 из 8 мышей, дополнительно получавших БАД «Рекицен-РД», также был выработан рефлекс.

### Влияние натуральных предшественников гистондеацетилаз, а также натурального комплекса ферментированных пищевых волокон и короткоцепочечных жирных кислот на эффективность выработки условных рефлексов

Группа	Животные с выработанным рефлексом, %	Односторонний критерий Фишера <i>p</i>	Коэффициент сопряженности Пирсона
1	22,22	> 0,05	–
2	28,57	> 0,05	–
3	37,50	> 0,05	–
4	75,00	< 0,05	0,467

При анализе полученных данных было выявлено, что применение комплекса ферментированных пищевых волокон и КЦЖК статистически значимо увеличивает способность к обучению в *T*-образном лабиринте у экспериментальных животных относительно контрольной группы. При расчете коэффициента сопряженности Пирсона была выявлена относительно сильная связь ме-

жду использованием БАД «Рекицен-РД» и активацией когнитивных функций у экспериментальных животных относительно контрольной группы.

В представленной работе изучены закономерности влияния продуктов, содержащих предшественники ингибиторов гистондеацетилаз, на когнитивный потенциал животных, проявляющийся в улучшении обучаемости грызунов в Т-образном лабиринте. Общеизвестен факт улучшения долговременной синаптической потенциации в клетках гиппокампа, приводящего к усилению памяти при увеличении ацетилирования гистонов нейронов гиппокампа [7, 11].

В настоящей работе осуществлено исследование сравнительной эффективности нескольких вариантов предшественников ИГДАЦ и натуральных комплексов ИГДАЦ с их предшественниками (ферментированных пищевых волокон пшеничных отрубей). По данным литературы [2–4], представленные продукты, используемые энтерально, обладают широким спектром оптимизации реактивности и резистентности организма. Однако сравнения представленных в данной работе энтеральных предшественников ИГДАЦ не проводилось. Исследование актуально, поскольку продукты, содержащие пищевые волокна в виде инулина или пшеничных отрубей, начинают действовать в качестве ИГДАЦ только после того, как их компоненты, в частности пищевые волокна, поступают в неизменном виде в толстый кишечник, где подвергаются метаболизации нормофлорой толстого кишечника с образованием ИГДАЦ [3].

Приведенные материалы свидетельствуют о том, что натуральные комплексы ферментированных пищевых волокон и короткоцепочечных жирных кислот эффективнее воздействуют на когнитивный по-

тенциал в сравнении с продуктами, которые не содержат готовых ИГДАЦ.

### БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. *Залялютдинова Л.Н., Фардиева Р.М., Гайнетдинова А.Н.* Изучение нейротропных свойств липоевой кислоты в эксперименте. Современные проблемы науки и образования 2014; 6, available at: <http://science-education.ru/ru/article/view?id=16847>.
2. *Кузнецов В.Ф., Кулемин Л.М., Бондаренко В.М.* Ферментированные пищевые волокна и короткоцепочечные жирные кислоты в функциональном питании при патологии человека. Медицинский альманах 2008; 2: 88–89.
3. *Кузнецов С.В., Кузнецов В.Ф., Хоринко В.П., Кулемин Л.М.* Возрастные особенности соотношения регенерации и повреждения гепатоцитов крыс при стрессе и патогенетические аспекты их коррекции. Пермский медицинский журнал 2012; 29 (3): 84–92.
4. *Кузнецов С.В.* Влияние натуральных комплексов ферментированных пищевых волокон и короткоцепочечных жирных кислот на уровень устойчивости к стрессу старых крыс. Пермский медицинский журнал 2012; 29 (6): 73–79.
5. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. Под ред. Р.У. Хабриева. М.: Медицина 2005; 829.
6. *Canani R.B., Di Costanzo M., Leone L., Pedata M., Meli R., Calignano A.* Potential beneficial effects of butyrate in intestinal and extraintestinal diseases. World J Gastroenterol 2011; 17 (12): 1519–1528.
7. *Contestabile A., Silvia Sintoni S., Monti B.* Histone deacetylase (HDAC) inhibitors as

potential drugs to target memory and adult hippocampal neurogenesis current. *Psychopharmacology* 1 (1): 14–28.

8. *Deacon R.M.J., Penny C., Rawlins J.N.P.* Effects of medial prefrontal cortex cytotoxic lesions in mice. *Behav Brain Res* 2003; 139 (1–2): 139–155.

9. *Delli Pizzi S., Franciotti R., Bubbico G., Thomas A., Onofrij M., Bonanni L.* Atrophy of hippocampal subfields and adjacent extrahippocampal structures in dementia with Lewy bodies and Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 2016; 40: 103–109.

10. *Fagiolini M., Jensen C.L., Frances A.C.* Epigenetic influences on brain development and plasticity. *Current Opinion in Neurobiology* 2009; 19: 1–6.

11. *Haettig J., Stefanko D.P., Multani M.L., Figueroa D.X., McQuown S.C., Wood M.A.* HDAC inhibition modulates hippocampus-dependent long-term memory for object location in a CBP-dependent manner. *Learn Mem* 2011; 18 (2): 71–79.

12. *Liu H., Zhang J.J., Li X., Yang Y., Xie X.F., Hu K.* Post-occlusion administration of sodium butyrate attenuates cognitive impairment in a rat model of chronic cerebral hypoperfusion. *Pharmacol Biochem Behav* 2015; 135: 53–59.

13. *Mauldin K.N., Griffin A.L., Oliver C.G., Berry S.D.* Hippocampal response patterns during discriminative eyeblink/jaw movement conditioning in the rabbit. *Behavioral Neuroscience* 2008; 122 (5): 1087–1099.

14. *Slavin J.* Fiber and prebiotics: mechanisms and health benefits. *Nutrients* 2013; 5 (4): 1417–1435.

15. *Song J.M., Sung Y.M., Nam J.H., Yoon H., Chung A., Moffat E., Jung M., Pak D.T., Kim J., Hoe H.S.* A mercaptoacetamide-based class II histone deacetylase inhibitor increases dendritic spine density via RasGRF1/ERK Pathway. *J Alzheimers Dis* 51 (2): 591–604.

Материал поступил в редакцию 01.08.2016