

DOI:

## МОДЕЛИРОВАНИЕ РЕЖИМОВ ПРИМЕНЕНИЯ ПИЩЕВОГО ХОЛИНА

Гусев В.Б., Дубовая Т.К.\*, Гусева М.В.\*\*

*Институт проблем управления им. В.А. Трапезникова РАН*

*\* РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава РФ*

*\*\*Кафедра физиологии человека и животных биологического факультета МГУ им. М.В.*

*Ломоносова*

*gusvbr@ipu.ru*

*Аннотация: С помощью метода математического моделирования исследовалось влияние холина в пищевом рационе крыс на метаболические процессы в организме; оценивалась динамика экспрессии никотиновых ацетилхолиновых рецепторов головного мозга. Подбор различных схем применения холина имел целью контролировать реакцию организма с учетом их целевого назначения.*

Ключевые слова: математическая модель, холин, головной мозг, никотиновые ацетилхолиновые рецепторы, терапевтическая диета.

### Введение

Холин относится к категории важнейших питательных веществ. Он входит в состав многих продуктов животного и растительного происхождения. В организме человека синтезируется в малых количествах и главный его источник – пища. В настоящее время интерес к холину резко возрос, поскольку выяснилось, что он представляет собой не только важный компонент питания, но и выполняет особые функции в организме: является исходным материалом для синтеза ацетилхолина, входит в состав фосфолипидов клеточных мембран и многих сигнальных молекул. Установлено, что холин – это селективный агонист  $\alpha 7$  никотиновых ацетилхолиновых рецепторов (nAChRs), имеющих отношение к обеспечению когнитивных процессов [1]. Холин имеет большое значение при беременности и в раннем детском возрасте для стимуляции и предотвращения пороков развития центральной нервной системы. Холин входит в состав многих лекарственных препаратов, но его эффекты продолжают изучаться фармакологами и клиницистами. Наиболее убедительные результаты получены в области нейробиологии и неврологии, поскольку выяснилось, что холин обладает выраженными нейропротекторными свойствами. Его применяют при инсультах, сосудистой деменции, болезни Альцгеймера и при мозговых травмах. Наряду с этим установлено, что холин активно влияет на метаболические процессы в организме, изменяя параметры гомеостаза. Холин можно считать полноценным лекарством, хотя в клинике его чаще используют в составе комплексных лекарственных препаратов.

Лекарства – это вещества различной природы, которые за счет биохимических механизмов взаимодействуют с организмом как с живой системой, вызывая изменения ее биологических свойств. Для осуществления терапевтического эффекта при внутреннем введении лекарство попадает в кровь через различные биологические барьеры, связывается с мишенью, формируется ответная реакция, после чего оно выводится из организма путем метаболической трансформации или экскреции. В этих сложноорганизованных процессах фармакодинамики и фармакинетики происходит взаимодействие лекарства и организма. Основная цель лекарственной терапии – достижение определенного лечебного эффекта и безопасности используемого препарата. Назначению лекарственной терапии, как правило, предшествует диагностическое исследование, в ходе которого выявляется очаг патологических изменений и отрабатывается стратегия лечения. При этом следует учитывать, что организм – это целостная саморегулирующаяся система и одним из направлений этой регуляции является обеспечение постоянства внутренней среды организма (гомеостаза). В ходе ответной реакции на воздействие участвует, как правило, весь организм и могут проявляться нецелевые (сопутствующие) эффекты, имеющие как отрицательные, так и положительные свойства. Имея в виду метаболические эффекты холина, правильнее говорить не о сопутствующих, а о дополнительных и недостаточно исследованных эффектах. Особенно это касается доз и режимов использования холина.

В настоящей работе представлена математическая модель динамики метаболических процессов в организме на фоне применения различных холиновых диет. Фактическим материалом для построения базовой математической модели служили ранее опубликованные результаты исследования по влиянию различных доз пищевого холина на состояние определенных метаболических процессов и некоторых показателей когнитивных функций головного мозга у интактных крыс [2, 3] и у животных, перенесших мозговую травму. В частности, проанализирована динамика прироста массы тела, количества

потребляемой пищи и воды у интактных крыс. Эти параметры использовались в качестве показателей взаимосвязи метаболических процессов в организме в целом. Кроме того, учитывалась плотность  $\alpha 7$  nAChRs в головном мозге, имеющих отношение к обеспечению познавательных функций. Понимание механизмов работы здорового мозга и принципов их ответных реакций на внешнее воздействие позволяет экстраполировать их и на поврежденный мозг.

Цель разработки математической модели заключалась в следующем: во-первых, в получении инструмента для прогнозирования последствий использования холина; во-вторых – в исследовании влияния холина на метаболические процессы, возникающие при различных сценариях его применения на интактных животных и возможности экстраполяции этих результатов на ситуацию, связанную с черепно-мозговой травмой.

Ключевым вопросом для достижения этой цели являлась разработка стратегии управления динамикой метаболических процессов. В основе этой стратегии лежал анализ режима применения холина – расчет доз и периодичности его поступления (введения в организм) на фоне контроля уровня экспрессии  $\alpha 7$  nAChRs в головном мозге.

## 1 Материалы исследования

В настоящее время холин-содержащие препараты активно используются при многих патологических состояниях. Несмотря на доказанность нейропротекторных и других эффектов холина, клинические результаты его применения неоднозначны, а механизмы действия изучены недостаточно. Исследования на животных показали, что после черепно-мозговой травмы (ЧМТ) резко снижается выработка ацетилхолина, возникает дефицит плотности (экспрессии)  $\alpha 7$  nAChR, что способствует когнитивным (познавательным) нарушениям [3, 4].

Количество поступающего с пищей холина и его трансформация в организме является одним из факторов, участвующих в регуляции определенных физиологических процессов. Показано, что содержание холина в организме регулируется по принципу обратной связи: при использовании холин-дефицитной диеты – увеличивается (поступая из внутреннего депо), при стандартной диете – не изменяется, а при холин-избыточной – снижается. Кроме того, количество холина в пище влияет на массу тела, а также на количество потребляемой животными пищи и воды [2, 5].

Результаты измерения массы тела у растущих животных, получавших пищу с различным содержанием холина в течение 4 недель [2], представлены на рис. 1.

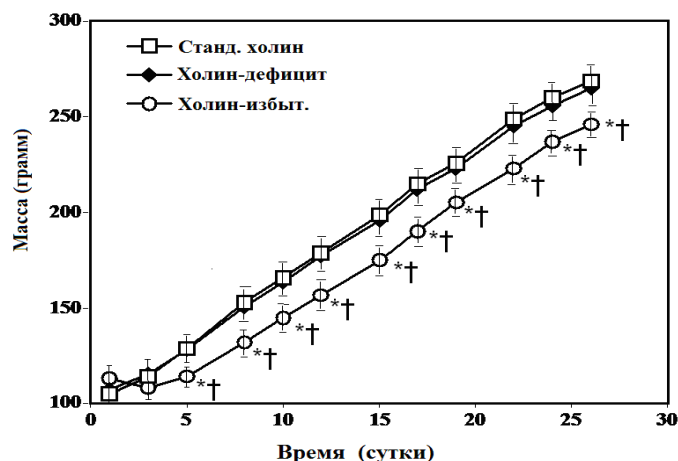


Рисунок 1. Среднесуточные показатели массы тела у животных, содержащихся на диетах с различным содержанием холина в течение 4-х недель.

Знак \* соответствует уровню достоверности  $p < 0,05$  при сравнении холин-избыточной диеты со стандартной; знак † соответствует уровню достоверности  $p < 0,05$  при сравнении холин-избыточной диеты с холин-дефицитной диетой.

При использовании диеты с избытком холина плотность  $\alpha 7$  nAChR в мозге интактных крыс в течение первых двух недель увеличивается, а к концу четвертой недели возвращается к норме. При этом когнитивные функции остаются без изменения. В работе [2] показано, что на фоне применения диеты с повышенным содержанием холина в определенных участках мозга, ответственных за выполнение когнитивных функций, наблюдается достоверное увеличение степени экспрессии (плотности) рецепторов  $\alpha 7$  nAChRs.

При экспериментальной черепно-мозговой травме было установлено, что повышенное содержание холина в корме положительно влияет на когнитивные функции. Сопоставление полученных результатов с имеющимися в литературе данными [6] свидетельствует о том, что вышеуказанные эффекты холина зависят от доз и способов его введения в организм.

Таким образом, одним из условий эффективной коррекции мозговых расстройств, в частности, восстановления когнитивных функций после ЧМТ, является относительно высокий уровень экспрессии  $\alpha 7$  nAChRs, поддерживаемый в течение достаточного периода времени, который может быть обеспечен путем подбора доз и периодичности поступления холина с пищей. Этим обусловлена потребность в разработке инструментария расчета режимов применения пищевого холина, поддерживающего соответствующий уровень экспрессии  $\alpha 7$  nAChRs и других исследуемых показателей. Кроме того, одним из существенных требований является соблюдение пределов изменения показателей интенсивности метаболических процессов, не допуская резких колебаний на фоне использования холина.

## 2 Модель влияния холиновой диеты на динамику параметров жизнедеятельности организма

Полученные экспериментальные данные на молодых растущих животных (крысах-самцах) [2, 3] явились основой для построения математической модели, позволяющей достаточно точно воспроизвести динамику наблюдаемых показателей жизнедеятельности при использовании диет с различным содержанием холина.

Модель отражает динамику содержания холина в организме крыс при варьировании его содержания в пище и предназначена для интерпретации экспериментальных данных по динамике плотности (экспрессии) холиновых рецепторов в мозге, а также изменений количества потребляемой пищи, воды и прироста массы тела животных. Вычисляемые переменные модели рассчитывались на основе следующих дополнительных гипотез.

Баланс синтеза и распада холина обеспечивает поддержание его концентрации в организме на определенном уровне. Величина текущего уровня зависит от избытка холина в данный момент и от накопленного за предшествующий период избытка. Эти процессы протекают по механизму обратной связи (регулируемая). Описанные процессы метаболизма холина влияют на обменные процессы на уровне организма, в частности, сопровождаются изменением количества потребляемой пищи, воды и показателей массы тела. Повышение интенсивности метаболических процессов и выведения холина из организма приводит к уменьшению потребления пищи и увеличению потребления воды, а также сопровождается снижением массы тела.

В соответствии с принципом адекватности модель не должна противоречить всей совокупности имеющихся экспериментальных данных, полученных на животных и обоснованным трактовкам, базирующимся на этих данных и научной литературе.

Константы модели:  $p$  – содержание холина в диете (%),  $c_s$  – уставка (внутренняя норма уровня холина в организме) (усл.ед.),  $b$  – коэффициент выведения (1/сут.),  $k$  – коэффициент регулирования (1/сут.),  $n$  – чувствительность к накопленному холину (1/сут.),  $a$  – коэффициент накопления «медиатора метаболизма» (безразмерный),  $r$  – удельный расход метаболитов (б. р.),  $f$  – удельный прирост массы (1/сут.),  $u$  – темп убытия массы тела (б. р.),  $g$  – темп расхода пищи (1/сут.),  $h$  – остаточная доля расхода пищи (б. р.).

Вычисляемые переменные имеют следующий смысл. Уровень холина  $c(t)$  в организме (и связанная с ним степень экспрессии  $\alpha 7$  nAChRs в головном мозге) определяется его поступлением из пищи  $p(t)$ , процессом регуляции  $e(t)$ , а также процессом естественного выведения из организма  $v(t)$ , имеющим ограниченную интенсивность. Избыток холина  $d_c(t)$  равен превышению его уровня над внутренней нормой. Накопленный избыток холина  $i(t)$  индуцирует образование «медиатора метаболизма». Регуляция  $e(t)$  (синтез или распад) холина зависит от избытка холина и его накопления в организме. Расход метаболитов (медиаторов, отвечающих за эффект гомеостаза холина)  $d_r(t)$  определяется интенсивностью процесса регуляции  $e(t)$ . Дефект потребления пищи  $d_p(t)$  определяется как темпом прироста метаболитов, так и их текущим уровнем. Избыток потребления воды  $d_w(t)$  находится в прямой зависимости к дефекту потребления пищи и также как и дефект потребления пищи, он зависит непосредственно только от динамики метаболита. Дефект массы животных  $d_m(t)$  определяется дефектом потребления пищи.

Среди перечисленных показателей наблюдаемыми являются: содержание холина в диете  $p(t)$ , дефект массы животных  $d_m(t)$ , дефект потребления пищи  $d_p(t)$ . Остальные показатели являются

внутренними. Система уравнений, описывающих процессы метаболизма холина в дискретном времени имеет следующий вид.

$$c(t) = c(t-1) + p(t-1) + e(t-1) - v(t-1)$$

$$v(t) = bcs \cdot c(t) / (cs + c(t))$$

$$d_c(t) = c(t) - c_s$$

$$i(t) = ai(t-1) + d_c$$

$$e(t) = k d_c(t) + n i(t)$$

$$d_r(t) = r \cdot \text{abs}(e(t))$$

$$d_p(t) = g (d_r(t) - d_r(t-1)) + h d_r(t-1)$$

$$d_w = w_0 + h \cdot d_p$$

$$d_m(t) = d_m(t-1) u + d_p(t-1) f$$

Уменьшение прироста массы тела животных после применения диеты с избыточным содержанием холина, рассчитанное с помощью модели, находится в удовлетворительном соответствии с экспериментальными данными (рис. 2).

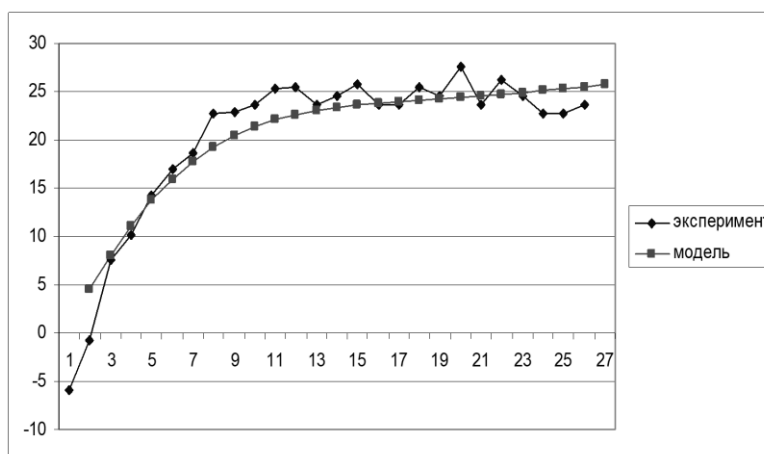


Рис. 2. Сравнение экспериментальных данных и результатов моделирования по уменьшению прироста массы животных (дефект массы) в граммах при холин-избыточной диете относительно стандартной диеты. По оси абсцисс отложено время эксперимента в сутках.

Избыточная холиновая диета (2% содержания холина в весе корма) дает значительный избыток холина через 1-2 недели, который исчезает к 4-й неделе (рис. 3).



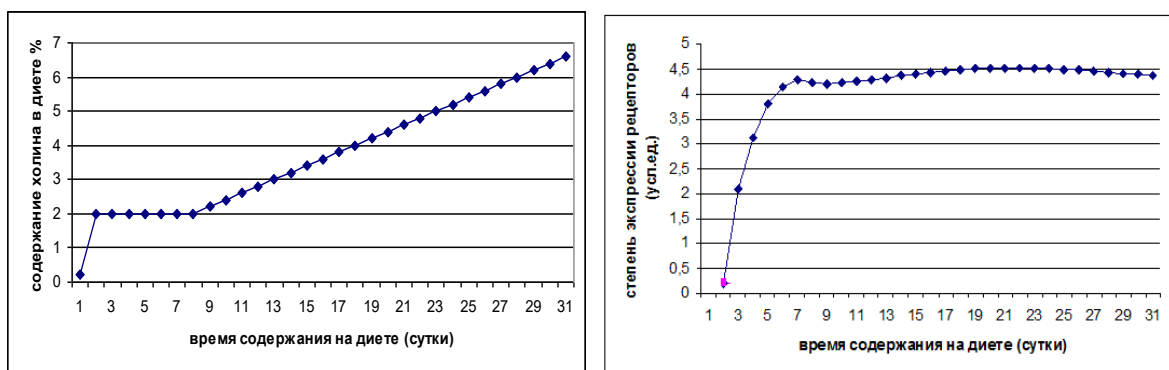
Рис. 3. Расчетная динамика содержания холина в условных единицах (степени экспрессии  $\alpha 7$  nAChRs): при диете с избыточным содержанием холина. По оси абсцисс отложено время эксперимента в сутках.

Здесь степень экспрессии  $\alpha 7$  nAChRs измеряется в условных единицах, соответствующих содержанию холина при стандартной диете: уровень 0,2 условных единиц соответствует содержанию холина в пище 0,2% и задает масштаб шкалы оцениваемой величины. Термин «измерения в условных единицах» означает, что для интактных и травмированных животных масштабы были разными, поскольку нормирующие коэффициенты – плотности рецепторов при стандартной диете в этих случаях – различались. Благодаря этому динамика плотности в условных единицах для этих 2-х случаев при одной и той же диете представляется одинаковой кривой: кривая «холин» описывает динамику экспрессии  $\alpha 7$  nAChRs как у интактных, так и у травмированных животных, хотя после травмы абсолютное значение экспрессии понижено.

Расчетные показатели изменения прироста массы тела животных (рис. 2) после применения диеты с избыточным содержанием холина находятся в соответствии с экспериментальными данными. А именно: количество потребляемой пищи уменьшалось по сравнению с нормой; на фоне увеличения массы тела увеличивалась ее разность между животными, находящимися на стандартной и холин-избыточной диете. Параметры модели подобраны так, что средние по траектории значения расхождения расчетных показателей с экспериментальными в каждом из перечисленных случаев не превышали 0,01% от стандартных отклонений, равных 2,1, 7,4, 1,8 соответственно, что гарантировало статистическую несмещенность результатов моделирования. Из полученных результатов моделирования также следует, что повышенная экспрессия  $\alpha 7$  nAChRs в головном мозге ограничена временем реакций, направленных на гомеостазирование холина в организме, а именно сроком в 1–2 недели, что совпадает с полученными ранее экспериментальными данными. При этом, для всей совокупности параметров, которые фигурировали и в модели, и в эксперименте, на отрезке всего времени эксперимента было достигнуто достаточно близкое соответствие, что соответствует принципу адекватности [7].

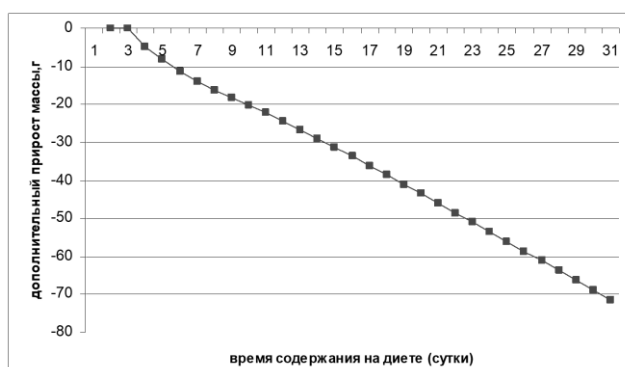
### 3 Сопоставительное исследование терапевтических диет

Терапевтические диеты строились на основе базовой модели, представленной в предыдущем разделе. Она служила платформой для разработки соответствующих режимов использования холиновых диет в трех разных вариантах. Разработанная модель может найти практическое применение для расчета режима терапевтической диеты и для интактных и для травмированных (при контузии головного мозга) животных. Существенное требование при назначении такой диеты – обеспечение поддержания повышенной плотности  $\alpha 7$  nAChRs в мозге животных в течение достаточно длительного периода. Это особенно важно для травмированных животных, поскольку диета с постоянным повышенным содержанием холина дает только кратковременный всплеск плотности  $\alpha 7$  nAChRs. Подбор диет позволил получить три режима, соответствующих указанным требованиям, но отличающихся сопутствующими последствиями. Для 1-го режима первую неделю применялась диета с постоянным повышенным содержанием холина, а затем каждый день содержание холина в диете увеличивается на 0,2% (рис. 4).



*a*

*b*



*c*

*Рис. 4. Диета 1-го типа. a – Профиль холиновой диеты 1, b – Динамика экспрессии рецепторов, c – Динамика дополнительного прироста (дефекта) массы тела.*

Для этого режима полученная на модели динамика плотности  $\alpha 7$  nAChRs выходит на максимальный уровень за 5 дней и поддерживается до конца периода лечения. Кроме того, монотонно увеличивается прирост дефекта массы животных. Из результатов моделирования следует, что общая длительность использования такой диеты должна быть ограничена, поскольку она может неблагоприятно отразиться на процессах роста и развития молодых животных. Так, на фоне лечебного эффекта она приводит к отставанию прироста массы тела животных от нормы (животные за 30 дней отстанут в приросте массы тела от животных, получающих стандартную диету, на 70 грамм).

Расчеты также показали, что потребление пищи животными на начальном этапе меньше нормального уровня и после 7 дней пребывания на диете продолжает равномерно снижаться. Кроме того, потребление воды сначала превышает норму, а через 7 дней начинает уменьшаться и через 14 дней становится меньше нормы (графики не приводятся).

Значительный дефект прироста массы тела (более 70 грамм) и уменьшение количества потребляемой пищи (до 9 грамм в день) в течение 30 суток применения диеты 1-го типа может снизить эффект положительного влияния холина на восстановительные посттравматические процессы в головном мозге. Для уменьшения этого эффекта проведен расчет диет 2-го и 3-го типа, включающих этапы ремиссии за счет периодических уменьшений по сравнению с диетой 1-го типа дозы пищевого холина (рис. 5 и 6 соответственно).

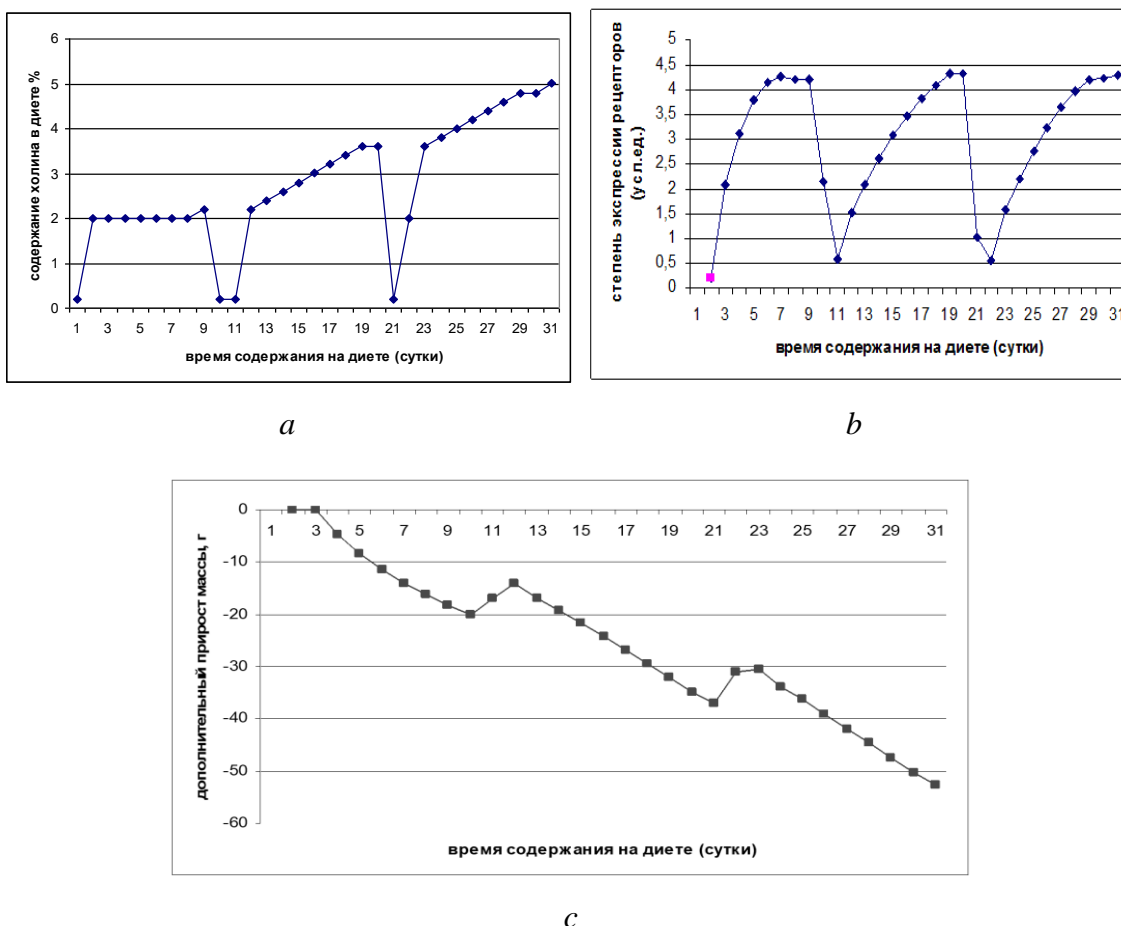
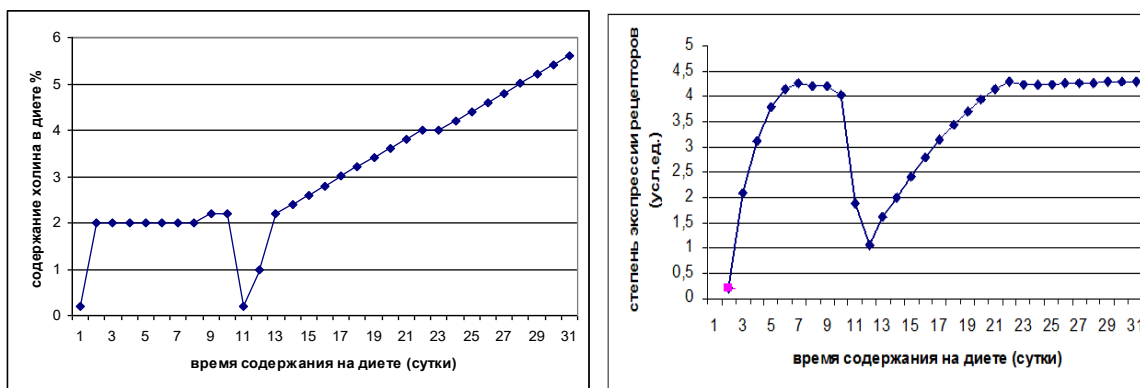


Рис. 5. Диета 2-го типа. *a* – Профиль холиновой диеты 2, *b* – Динамика экспрессии рецепторов, *c* – Динамика дополнительного прироста (дефекта) массы тела.

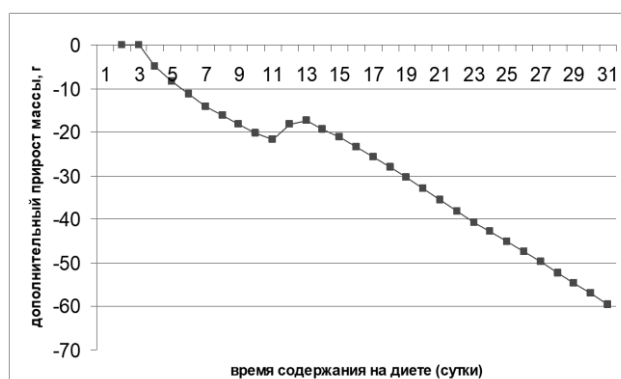
Подбор с использованием базовой модели доз холина и интервалов ремиссии позволил доводить степень экспрессии рецепторов до максимального уровня. При этом дефект прироста массы тела уменьшается почти в 1,5 раза по сравнению с диетой 1-го типа. Дефект количества потребляемой пищи при такой диете, хотя и колеблется, но на минимальном уровне, который в среднем меньше по сравнению с дефектом для диеты 1-го типа. Диета 2-го типа хотя и не обеспечивает постоянного уровня экспрессии  $\alpha 7$  nAChRs в течение периода лечения, все же представляется более физиологичной, поскольку позволяет приблизить все показатели жизнедеятельности к их нормальным уровням по сравнению с диетой 1-го типа. В свою очередь это также может способствовать созданию благоприятных условий для процессов, связанных с ростом и развитием животных, перенесших контузию головного мозга.

Промежуточное положение между диетами 1 и 2 занимает диета 3-го типа (рис. 6).



*a*

*b*



*c*

*Рис. 6. Диета 3-го типа. a – Профиль холиновой диеты 3, b – Динамика экспрессии рецепторов, c – Динамика дополнительного прироста (дефекта) массы тела.*

Эта диета обеспечивает поддержание повышенного уровня экспрессии  $\alpha 7$  nAChRs более длительный срок, однако дефект массы тела больше, чем при диете 2-го типа. В любом случае использование этой диеты более физиологична, чем диета 1-го типа.

Результаты моделирования подтверждают правомерность принятых гипотез. Из этих результатов следует, что повышенное содержание холина в организме при его применении в качестве лекарственного средства ограничено по длительности временем реакции механизма его гомеостазирования. Вследствие этого снижается его содержание до стандартного уровня (порядка 3-х недель у экспериментальных крыс, см. рис. 3). Стратегия проведения лекарственной терапии с применением холина должна учитывать это обстоятельство.

Обращает на себя внимание тот факт, что диета с повышенным содержанием холина не влияет на показатели состояния когнитивных функций здоровых животных, также находит объяснение в рамках гипотезы поддержания гомеостаза холина: холин поддерживает нормальное состояние мозговых структур, но его действие может проявляться лишь в случае их нарушений [8]. При повреждении головного мозга целесообразно использовать специальные холиновые диеты, обеспечивающие поддержание определенного (повышенного) уровня экспрессии  $\alpha 7$  nAChRs и связанные с этим когнитивные функции. Существенно, что повышенное содержание пищевого холина влияет на метаболические процессы в организме в целом.

## **Заключение**

Используемая базовая модель позволяет достаточно точно воспроизводить динамику наблюдаемых показателей при использовании диет с различным содержанием холина. Помимо получения новой содержательной информации модель может быть использована для определения наиболее рациональных режимов применения холиновых диет в качестве терапевтического средства при различных патологических состояниях организма. Для мозговых нарушений это показано путем экстраполяции результатов моделирования, полученных для интактных животных на травмированных животных. Подбор такой диеты должен быть направлен на достижение и поддержание определенного (повышенного) уровня экспрессии  $\alpha 7$  nAChRs в головном мозге в течение достаточно длительного



периода времени, что недостижимо при применении диеты с постоянно повышенным содержанием холина. Кроме того, такая терапевтическая диета и режим использования позволяют избегать чрезмерных реакций организма (например, существенной потери массы тела, вызванной изменениями в потреблении пищи и воды).

Представленные в работе результаты моделирования могут быть основой для экспериментальной проверки эффектов предложенных режимов использования холина и их последующего применения в клинике. В частности, они могут быть интересны при решении задач, связанных с регуляцией метаболических процессов в организме. В качестве примера может быть ситуация необходимости контроля массы тела на фоне мозговой травмы, то есть при гиподинамии и неврологических нарушений.

## Литература

1. Guseva M.V., Hopkins D.M., Pauly J.R. An autoradiographic analysis of rat brain nicotinic receptor plasticity following dietary choline modification // *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* 84 (1), 2006, Jun 6.. p. 26–34.
2. Guseva M.V., Hopkins D.M., Scheff S.W., Pauly J.R. Dietary choline supplementation improves behavioral, histological, and neurochemical outcomes in a rat model of traumatic brain injury. *J Neurotrauma*. 2008 Aug;25(8): 975-83.
3. Starkstein, S.E., and Jorge, R. Dementia after traumatic brain injury. *Int. Psychogeriatr.* 17, Suppl 1, 2005, S93–S107.
4. Verbois, S.L., Scheff, S.W., and Pauly, J.R. (2003). Chronic nicotine treatment attenuates alpha 7 nicotinic receptor deficits following traumatic brain injury. *Neuropharmacology* 44, 224–233.
5. Morley BJ, Fleck DL (1987) A time course and dose-response study of the regulation of brain nicotinic receptors by dietary choline. *Brain Res* 421:21-29.
6. Dixon, C.E., Bao, J., Johnson, K.M., Yang, K., Whitson, J., Clifton, G.L., and Hayes, R.L. (1995). Basal and scopolamine-evoked release of hippocampal acetylcholine following traumatic brain injury in rats. *Neurosci. Lett.* 198, 111–114.
7. Mogilevskaya E., Bagrova N., Plyusnina T., Gizzatkulov N., Metelkin E., Goryacheva E., Smirnov S., Kosinsky Y., Dorodnov A., Peskov K., Karelina T., Lebedeva G., Goryanin I. and Demin O. Kinetic modeling as a tool to integrate multilevel dynamic experimental data. *Methods Mol Biol.* (2009), 563, 197-218.
8. Гусева М.В., Каменский А.А., Гусев В.Б. Исследование динамики ответной реакции организма на изменение содержания холина в пищевом рационе крыс. *Бюллетень экспериментальной биол. и мед.* №7, 2012, стр. 11-13.