

ГИПОТЕЗА КОНТАМИНАЦИИ МЕМБРАН НЕЙРОНОВ, ЭПИЛЕПСИЯ И КЕТОГЕННАЯ ДИЕТА

© 2021 г. Ю.Д. Нечипуренко*, Р.С. Гарсия Рейес**, Х.Л. Эрнандес Касерес**

*Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, 119991, Москва, ул. Вавилова, 32

E-mail: nech99@mail.ru

**Кубинский Центр нейронаук, 11600, Плайя, Гавана, 25-я ул., 15202, Куба

E-mail: jose.caceres@cneuro.edu.cu

Поступила в редакцию 01.07.2021 г.

После доработки 30.08.2021 г.

Принята к публикации 31.08.2021 г.

В свете новых данных рассматривается гипотеза Альтрупа о контаминации мембран нейронов при эпилепсии. Эта гипотеза связывает пароксизмальную деполяризацию, наблюдаемую при эпилептической активности, с пейсмекерным потенциалом одиночного нейрона. Физико-химические характеристики мембраны, текучесть и контаминации влияют на ее способность проводить импульс и перезаряжаться. Обсуждаются предложенные ранее способы лечения эпилепсии, основанные на кетогенной диете и их возможные объяснения в связи с гипотезой Альтрупа. Среди возможных механизмов действия кетогенной диеты подчеркивается антиэпилептическое действие кетоновых тел, роль повышенного синтеза глутатиона и эффект полиненасыщенных жирных кислот и холестерина, включенных в состав диеты. Эти три механизма приводят к регуляции текучести и других биофизических свойств липидного бислоя, а также к деконтаминации мембраны от амфифильных примесей, в соответствии с гипотезой Альтрупа.

Ключевые слова: эпилептическая активность, пароксизмальная деполяризация, пейсмекерный потенциал, гипотеза Альтрупа, контаминация мембран, латеральное давление, кетогенная диета, глутатион, полиненасыщенные жирные кислоты.

DOI: 10.31857/S0006302921060077

Эпилепсией страдают около 50 млн человек во всем мире [1], описано более сорока клинических типов эпилепсии [2]. Несмотря на это разнообразие, общим электрофизиологическим следом для большинства типов эпилептической активности является пароксизмальная деполяризация (ПД). Во время эпилептической активности некоторые нейроны проявляют большую и длительную деполяризацию, это и есть пароксизмальная деполяризация мембранного потенциала (см. работу [3] и рис. 1).

Наши знания о нейрофизиологических основах эпилепсии далеки от полноты, и есть основания для надежды, что понимание биофизических основ ПД позволит прояснить патофизиологию эпилепсии и очертить рациональные способы ее лечения. В рамках доминирующей идеи о том, что эпилепсия является результатом дисбаланса между возбуждением и торможением в нервной ткани [4–6], авторы работы [7] предложили, что ПД и

есть гигантский возбуждающий постсинаптический потенциал. В нейрофизиологии принято изучать любое явление в простейшем объекте, где это явление может проявляться. Это позволило Э. Канделю изучить основы механизмов памяти в нервной системе аплизии [8], а А. Ходжкину и Э. Хаксли – основы нервного импульса в гигантском аксоне кальмара [9].

Рядом исследователей изучалось возникновение и распространение эпилептической активности в буккальных ганглиях наземной улитки *Helix pomatia* [7, 10–12]. *Helix* имеет довольно простую нервную систему, что способствует проведению биофизических экспериментов [13, 14]. В частности, оба буккальных ганглия *Helix* имеют по четыре гигантских нейрона с каждой стороны, и из них только нейрон Б3 способен систематически развивать ПД в присутствии проконвульсивных средств, таких как пентилентетразол, этomidат, гептанол (а также при пониженной концентрации магния и т.п.).

Уже давно обсуждается сходство между поведением этой простой клеточной модели и разви-

Сокращения: ПД – пароксизмальная деполяризация, КД – кетогенная диета, ПНЖК – полиненасыщенные жирные кислоты.

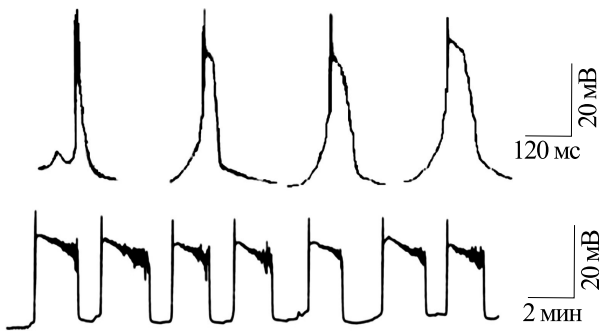


Рис. 1. Сравнение пароксизмальных деполяризаций, регистрируемых внутриклеточно в нейронах коры кошки (вверху) и в нейроне *Helix B3* (внизу). Верхняя часть рисунка — адаптировано из работы [3] (измерения проводились с местным применением пентилентетразола), нижняя часть рисунка — после применения 40 мМ пентилентетразола (неопубликованные данные авторов).

тием эпилепсии у человека, и сегодня нет сомнений в том, что с точки зрения фундаментальных механизмов у этих процессов существует ряд общих черт, несмотря на большое филогенетическое расстояние между человеком и улиткой [10].

Идея о том, что пейсмейкерные потенциалы являются основой эпилептиформной активности в нервной системе, обсуждалась в литературе [14]. Возможность генерации ПД в полностью изолированных нейронах, как у беспозвоночных [10], так и у позвоночных [11], и тот факт, что ПД сопровождаются увеличением импеданса нейронов [7, 12], не согласуется с идеей, что ПД имеют синаптическую природу. С другой стороны, в экспериментах на нейроне B3 было обнаружено, что с увеличением дозы пентилентетразола (как и этomidата) пейсмейкерные потенциалы постепенно трансформируются, их продолжительность и амплитуда увеличиваются, и можно предположить, что они превращаются в ПД (см. рис. 2).

Механизмы генерации пейсмейкерных потенциалов еще не выяснены полностью (см., например, работы [16, 17]). «Минимальная» математическая модель для пейсмейкерного потенциала нейронов виноградной улитки *Helix pomatia* была предложена в работах Н.И. Кононенко с соавторами [18–22]. Модель вводит в рассмотрение, во-первых, две стационарные, потенциал-независимые проводимости для натрия и калия, которые образуют линейный ток утечки, во-вторых, натриевую стационарную потенциал-зависимую S-образную проводимость, которой соответствует отрицательная область сопротивления мембранной вольт-амперной характеристики, в-третьих, проводимость, активируемую гиперполяризацией. С использованием модели Кононенко

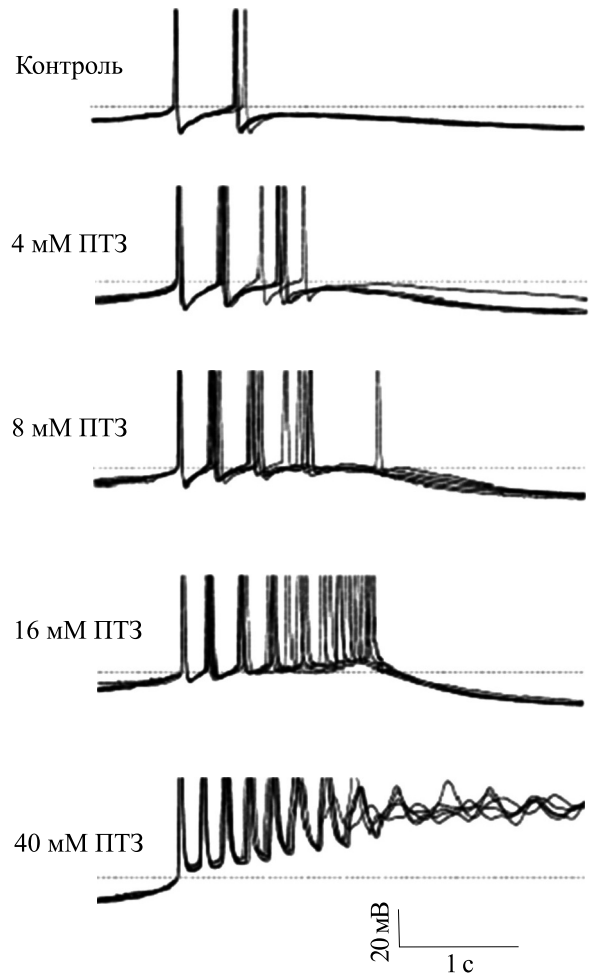


Рис. 2. Постепенное преобразование пейсмейкерного потенциала в ПД с увеличением концентрации пентилентетразола (ПТЗ). Изображение составлено на основе данных, опубликованных в работе [15].

было проведено математическое моделирование и определена область биофизических параметров, обеспечивающая переход от пейсмейкерного потенциала к ПД [23]. Было показано, что ПД-подобные потенциалы могут появляться как за счет изменения параметров модели, так и посредством добавления шума на вход модели (см. рис. 3). При уровне шума 0.2 усл. ед. пейсмейкерные потенциалы удлиняются и проявляют стремление к неустойчивости, при уровне 0.6 усл. ед. возникает гигантская продолжительная деполяризация, напоминающая ПД (рис. 3б,в) [23].

ГИПОТЕЗА КОНТАМИНАЦИИ МЕМБРАНЫ

У. Альтруп (Ulrich Altrup, 1943–2007), возглавлявший Исследовательский институт экспериментальной эпилепсии в Университете Мюнстера (Германия), изучал эпилептиформную актив-

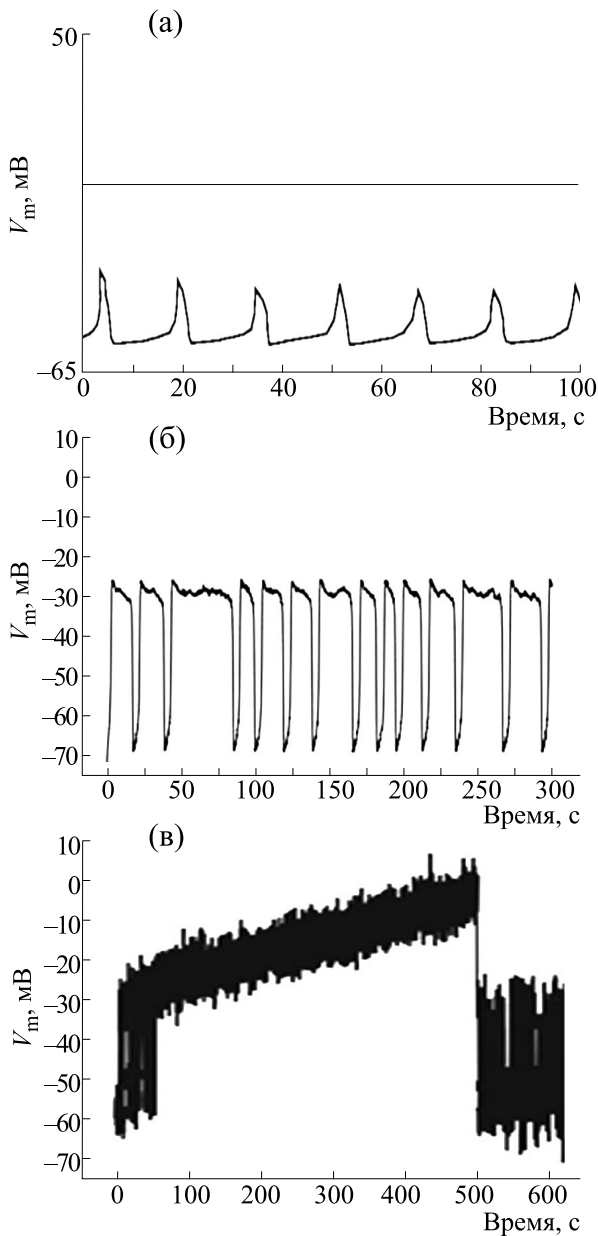


Рис. 3. Постепенное преобразование пейсмейкерного потенциала в ПД при добавлении шума. Расчеты проводили при помощи модели Кононенко [20]: (а) — спонтанные пейсмейкерные потенциалы, полученные авторами работы [21]; (б) и (в) — результат добавления белого гауссова шума (0.2 и 0.6 усл. ед. соответственно).

ность в буккальных ганглиях *Helix* почти 30 лет. В последние годы деятельности он выдвинул гипотезу мембранной контаминации. Альтруп полагал, что если вещества, резко различающиеся по механизму действия, такие как гептанол, пентилентетразол, этомидат (как и низкая концентрация магния), способны индуцировать ПД, то ос-

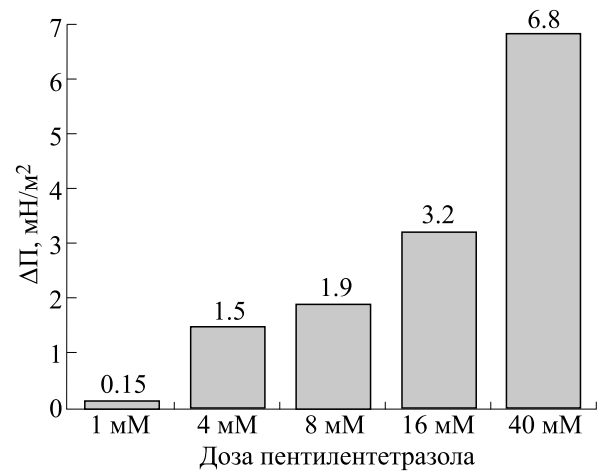


Рис. 4. Средние значения изменения латерального давления на весах Вильгельми при добавлении различных доз пентилентетразола. Диаграмма построена на основе данных, опубликованных в работе [15].

новной механизм эпилептогенеза должен быть неспецифическим.

К этому следует добавить, что разнообразные ионные механизмы, связанные с каналами утечки, калиевыми каналами, большим набором лиганд-зависимых каналов и др., подвержены влиянию в одном и том же диапазоне концентраций пентилентетразола (а также этомидата). Эти наблюдения указывают на существование неспецифического механизма эпилептогенеза. Альтруп с соавторами обнаружил при помощи весов Вильгельми, что эпилептогенные вещества пентилентетразол и этомидат вызывают в одном и том же диапазоне эпилептогенных концентраций постепенное повышение латерального давления липидных монослоев [7]. На рис. 4 приводятся результаты этих экспериментов при добавлении пентилентетразола.

Совокупность экспериментальных данных привела Альтрупа к гипотезе, что эпилептогенные амфифильные вещества проникают в липидный бислой мембраны нервной клетки и что эти включения увеличивают латеральное давление в бислое, вызывая ПД в тех нейронах, которые обладают способностью генерации пейсмейкерных потенциалов. Повышенное латеральное давление снижает текучесть мембраны, влияя на подвижность мембранных белков и вызывая переход от жидкого конденсированного состояния к твердому конденсированному состоянию.

Белково-липидные взаимодействия и возбудимость нейронов. Белково-липидные взаимодействия и их связь с возбудимостью обсуждались в течение нескольких десятилетий в биофизических исследованиях [24]. Так, авторы работы [25] обнаружили, что агенты, изменяющие химико-

физические свойства мембран (например, простые спирты и ацетон), способны изменять сродство Na,K-АТФазы к моновалентным катионам.

Наиболее известной моделью генерации и распространения нервного импульса является модель Ходжкина и Хаксли [9]. Ее биофизическая правдоподобность и способность объяснить многие свойства возбуждения нейронов привели к тому, что эта модель получила всеобщее признание в нейронауках и кардиологии. А. Ходжкин и Э. Хаксли обнаружили экспериментально, что электрическая емкость мембраны остается неизменной во время возбуждения. Поэтому роль липидов в этой модели игнорируется и любая модификация ионных каналов рассматривается как результат взаимодействий электростатической природы. В начале 1970-х годов И. Тасаки предложил теорию, которая не вписывается в модель Ходжкина и Хаксли: он предположил, что распространение нервного импульса сопровождается волной механического возбуждения вдоль аксона [26]. Эти идеи не нашли экспериментального подтверждения, в то время как регистрация воротных токов и токов через единичные ионные каналы наряду с другими наблюдениями свидетельствовали в пользу модели Ходжкина и Хаксли [27].

В последнее время появились доказательства того, что распространение потенциала действия сопровождается волной механической деформации клеточной мембраны, которая движется с постоянной скоростью [28]. Разные авторы стараются построить модель, способную описать все электрохимические, механические и термодинамические явления, связанные с генерацией и проведением нервного импульса. Гипотеза о механическом солитоне кажется нам самой привлекательной. Однако понадобится целый ряд экспериментальных доказательств, а также теоретических разработок, чтобы идея о нервном импульсе как о солитоне нашла подтверждение. В работах [28–31] было высказано предложение, что открытие ионных каналов, участвующих в генерации нервного возбуждения, требует механических изменений в двойном липидном слое. В пользу этого предположения приводится аргумент, что во время активации ионных каналов происходит деформация мембраны [28, 29]. С другой стороны, измерения энтальпии во время распространения потенциала действия не соответствуют предсказаниям Ходжкина и Хаксли, но поддерживают модель механического импульса [30, 31].

Авторы работы [31] утверждают, что потенциал действия, смоделированный Ходжкиным и Хаксли, отражает сумму всех потенциальных изменений по всей мембране, зарегистрированных на относительно большой площади, так что на са-

мом деле это результат сочетания эффектов как уже открытых каналов, так и закрытых или инaktivированных. Прямая механическая стимуляция аксона могла бы вызывать открытие натриевых каналов, в ходе которого генерируется энергия, необходимая для поддержания движения механического солитона [32].

Если вышеописанные изменения механических свойств двойного липидного бислоя, сопровождающие потенциал действия, окажутся тесно связаны с процессом нервной активности, то станет понятным, почему любое вещество, способное изменять физико-химические свойства двойного липидного слоя, может изменять и возбудимость нейронов. Такой подход мог бы дать правдоподобное объяснение эффекту ингаляционных анестезий, эффективность которых коррелирует с растворимостью применяемых веществ в липидах [33], а также известному антиэпилептическому эффекту ряда пищевых добавок, таких как омега-3-полиненасыщенные жирные кислоты [34], витамин Д [35] и др. [36]. Можно также ожидать, что изменение механических свойств неспецифических мембранных эпилептогенных амфифильных веществ повлияет и на пейсмейкерные потенциалы, вызывая аномальные изменения, которые приводят к эпилептогенезу, в соответствии с гипотезой контаминации мембран [37].

Кетогенная диета и гипотеза контаминации мембран. Около 30% пациентов с эпилепсией резистентны к лекарственной терапии (это более чем 15 млн человек в мире). Одним из терапевтических вмешательств, способных улучшить состояние более половины пациентов с тяжелой эпилепсией, является кетогенная диета. Типичная кетогенная диета (КД) очень богата жирами и бедна углеводами (обычно пропорция жиров к жирам равна четырем к одному) и применяется для лечения рефрактерной эпилепсии. Значение такой диеты в клиническом контексте было отмечено еще в 1920-х годах в связи с успешным ее применением для лечения эпилепсии.

Первая ссылка на то, что пост может оказывать антиэпилептическое действие, появилась в 1911 г. Парижские врачи Ж. Гуелпа и А. Мари использовали пост для лечения двадцати пациентов и сообщили об облегчении их симптомов [38]. В начале 1920-х годов Х. Конклин предположил, что эпилепсия проявляется в результате «интоксикации мозга веществами, поступающими из кишечника». Конклин использовал диету, состоящую только из воды, в течение 30 дней для лечения пациентов с рефрактерной эпилепсией и достиг успеха — улучшения состояния у более половины пациентов [39].

Представление о том, что кетоновые тела являются главным эффектором в противоэпилеп-

тическом механизме поста, привело в 1921 г. Р. Уайлдера к идее предложить диету с высоким содержанием жира и низким содержанием углеводов для лечения эпилепсии. Он получил обнадеживающие результаты и назвал такую диету кетогенной [40]. Полезные эффекты этой диеты подтвердились к 1930-м годам, но потом она перестала использоваться врачами, что было связано с появлением в 1938 г. фенитоина и позже — других антиэпилептиков. Однако за последние 30 лет эпилепсия, невосприимчивая к фармакотерапии, привлекла внимание научного сообщества, и кетогенная диета снова вызвала интерес специалистов. Единственным диетическим методом лечения эпилепсии, имеющим научное обоснование и разработанные принципы практического применения, является именно кетогенная диета, физиологической основой которой является создание в организме условий, сходных с теми, что наблюдаются при длительном посте. Среди вариантов КД встречаются классическая КД, диета, обогащенная триглицеридами средней длины, модифицированная диета Аткинса и диета с низким индексом гликемии [41–45].

Заметим, что повышенное содержание кетоновых тел в организме не обязательно связано с диабетическим кетоацидозом — несовместимым с жизнью состоянием. Концентрация кетоновых тел в крови повышается также в результате физиологического ответа на эпизоды кратковременного или умеренного голодания. Целью КД является достижение кетоза, избегая кетоацидоз. Так, в состоянии кетоза, индуцируемого КД, уровни глюкозы, инсулина и рН поддерживаются близкими к нормальным значениям, даже если концентрация кетоновых тел в крови почти на два порядка превышает нормальные значения, но все же остается в три раза ниже значений, характерных для диабетического кетоацидоза (при котором уровень глюкозы в крови увеличивается в три раза, а концентрация инсулина падает почти до нуля и рН опускается ниже 7,3, что несовместимо с жизнью [46]).

При применении КД у 50–60% пациентов, резистентных к нескольким противосудорожным лекарствам, уменьшается по крайней мере в два раза частота припадков и примерно 20% пациентов достигают полного подавления судорог. Кроме того, кетогенная диета способна улучшить самочувствие и когнитивные способности [47]. Доказательства эффективности КД ставят серьезные проблемы перед теоретиками-эпилептологами. Далее мы обсудим возможные механизмы КД, рассматривая их возможную связь с гипотезой Альтрупа о мембранной контаминации.

Метаболизм в условиях кетогенной диеты. При длительном голодании или при сахарном диабете, когда клетка не имеет доступа к глюкозе, орга-

низм начинает использовать жирные кислоты. Обычно это происходит посредством β -окисления, и в результате генерируется ацетил-КоА, который входит в цикл Кребса для генерации АТФ. Однако при длительном голодании не весь ацетил-КоА может метаболизироваться через цикл Кребса, и значительная часть ацетил-КоА преобразуется в кетоновые тела: ацетоацетат и β -гидроксипутират, а также ацетон (образующийся путем неферментативного декарбоксилирования ацетоацетата). При этом кетоновые тела могут обеспечить до двух третей энергетических потребностей мозга.

Кетогенная диета, влияя на общий энергетический обмен веществ, может создавать смещения в метаболизме, приводящие к снижению выработки лактата и альфакетоглутарата. В результате уменьшается концентрации глутамата и снижается риск эксайтотоксичности.

Лактат способен подавлять липолиз [48]. Увеличенный уровень липолиза в результате уменьшенного уровня лактата при КД вместе с поступлением с пищей специфических липидов и жирных кислот может оказывать определенные изменения в мембранах, способствуя механизмам борьбы против контаминации липидного бислоя. Важную роль при этом может играть ограниченная доступность глутамата. Снижение уровня глутамата приводит к увеличению абсорбции цистеина, и это вызывает повышение уровня глутатиона с соответствующим удалением ненужных амфифильных веществ, которые могут загрязнять мембрану нейронов. Таким образом, при повышенной защите от окислительного повреждения, обеспечиваемой глутатионом, клетки могут избегать эффекта контаминации мембран при эпилептогенезе [49].

Многие данные указывают на то, что КД проявляет свое противосудорожное действие посредством синергизма, включающего несколько механизмов. Таким образом, противоэпилептический эффект КД может найти объяснение вне традиционного подхода к действиям на синаптическом уровне, и многие из ее эффектов могут быть проанализированы с точки зрения гипотезы о мембранной контаминации. В контексте гипотезы Альтрупа мы сосредоточимся далее на следующих трех аспектах КД:

- 1) противосудорожный эффект кетоновых тел;
- 2) связь глутатиона с противоэпилептическими эффектами КД;
- 3) значение полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК) и холестерина в действии КД.

Противосудорожное действие кетоновых тел. Довольно давно была предложена гипотеза о том, что кетоновые тела могут действовать непосредственно как фармакологические агенты. Х. Кейт в 1933 г. сообщил, что приступы, вызванные туй-

оном у кроликов, были купированы предварительной обработкой ацетоацетатом [50]. Позже это было подтверждено на модели мышей, чувствительным к аудиогенным припадкам [51]. Также есть раннее сообщение о противосудорожном действии ацетона [52]. Авторы работы [53] сообщили о дозозависимом подавлении судорожных приступов внутрибрюшинным введением ацетона, в четырех отдельных моделях припадков и эпилепсии на животных. В поддержку идеи о том, что эффект ацетона является одним из основных механизмов действия КД, можно привести тот факт, что пациенты с эпилепсией, которые положительно реагировали на КД, демонстрировали высокие уровни ацетона в головном мозге (выше 1 мМ) [54]. Этот результат привел к тому, что авторы работы [53] выдвинули идею о том, что ацетон является причинным фактором противосудорожных эффектов КД.

Что касается возможных молекулярных мишеней для кетоновых тел, то было обнаружено, что VGLUT2 (переносчик глутамата в синаптические пузырьки) ингибируется ацетоацетатом [55] в концентрациях, которые ожидаются при КД. Этот эффект может противодействовать эксайто токсичности, связанной с глутаматом. В то же время кетоновые тела, по-видимому, не изменяют синаптическую передачу на уровне гиппокампа, что находится в полном соответствии с вышесказанным и наблюдениями Альтрупа [7, 15]. Так, авторы работы [56], используя методы клеточной электрофизиологии, обнаружили, что миллимолярные концентрации бета-гидроксibuтирата и ацетоацетата не влияют на: 1) возбуждающие постсинаптические потенциалы и популяционные разряды в пирамидных нейронах CA1 после стимуляции коллатералов Шаффера; 2) спонтанную эпилептиформную активность в модели приступа гиппокампаально-эпиторинальной коры; 3) ионные токи, вызываемые глутаматом, каинатом и гамма-аминомасляной кислотой в нейронах гиппокампа.

В частности, был идентифицирован рецептор β -гидроксibuтирата GPR109a (HCAR2), который активируется у мышей с эпилепсией *mutUNG1* при КД, что предполагает избирательное влияние КД на механизмы рецепторов кетоновых тел [57, 58].

Другие исследования показывают, что кетоновые тела также могут действовать как нейропротекторные средства [59, 60]. Так, авторы работы [61] показали, что бета-гидроксibuтират и ацетоацетат (в миллимолярных концентрациях) предотвращают гипервозбудимость, вызванную перекисью водорода, в острых неокортикальных срезах головного мозга и диссоциированных нейронах, и что кетоновые тела способны значительно снижать образование активных форм кисло-

рода в изолированных митохондриях. Это указывает на эффект КД посредством активации антиоксидантных механизмов жирными кислотами и кетонами. Также было показано, что ацетон способен увеличивать текучесть липидной мембраны [62], действуя в противоположном направлении, чем про-судорожные вещества, и это объясняет его антиэпилептический эффект в контексте гипотезы Альтрупа. В целом следует подытожить, что среди множества возможных механизмов противосудорожного действия кетоновых тел, их влияние на вязкость мембраны и соответствующая стабилизация липидного бислоя может носить фундаментальное значение.

Глутатион и механизм действия кетогенной диеты. Снижение уровня глутамата при сниженном потреблении глюкозы приводит к увеличению абсорбции цистеина, и это вызывает повышение уровня глутатиона с соответствующим удалением ненужных амфифильных веществ, которые могут загрязнять мембрану нейронов. Аналогично, избыток глутамата в синапсах, высвобождающийся при судорогах, препятствует абсорбции цистеина, необходимого компонента глутатиона. Глутатион-трипептидный тиол обнаружен практически во всех клетках, он участвует в окислительно-восстановительных реакциях, и защищает клетку от активных форм кислорода [24–26]. Глутатион путем прямой конъюгации выводит токсины и многие чужеродные и токсические соединения. В частности, за счет устранения свободных радикалов глутатионом стабилизируется структура мембраны [33].

Роль глутатиона при эпилепсии хорошо известна. При помощи модели пилокарпиновых судорог на крысах обнаружено, что концентрации глутатиона при судорогах уменьшились на 54 и 58% в стриатуме и лобной коре соответственно [63]. В модельных экспериментах на животных судороги связаны с производством большого количества активных форм кислорода, которые приводят к окислительному повреждению белков и перекисному окислению липидов и могут влиять на активность антиоксидантных ферментов супероксиддисмутазы и глутатионпероксидазы. Следовательно, уровни глутатиона в головном мозге снижаются. Так, в работе [64] было обнаружено значительное снижение примерно на 35% среднего отношения глутатион/вода даже в областях мозга, удаленных от эпилептогенного очага [65]. При этом ожидается, что глутатион способствует снижению уровня контаминации мембраны, приводящий к развитию эпилепсии [66].

Полиненасыщенные жирные кислоты и кетогенная диета. Кетогенная диета усиливает мобилизацию ПНЖК из жировой ткани в печень и мозг [57, 67]. Одна из разновидностей этой диеты — КД, обогащенная среднецепочечными триглице-

ридами, и является основным методом лечения не поддающейся лекарственному лечению эпилепсии. Было обнаружено, что на пентилентетразольной модели судорог в срезах гиппокампа крыс выявляется специфичная для точки ветвления активность, которая сравнима с антиэпилептическим эффектом вальпроевой кислоты. Это показывает, что жирные кислоты, присутствующие в КД, могут прямым образом оказывать противосудорожное действие [68].

Другим вероятным механизмом противоэпилептического эффекта кетогенной диеты может быть воздействие холестерина. В 1939 г. авторы работы [69] задавались вопросом, действует ли механизм кетогенной диеты через повышение уровня холестерина. Изучалась кокаин-индуцированная модель эпилепсии у крыс, было обнаружено, что внутрибрюшные инъекции холестерина приводят к увеличению порога судорог. Было показано, что кетогенная диета вызывает существенное и монотонное увеличение уровня холестерина на протяжении одного года ее применения [70].

В настоящее время известно, что холестерин регулирует текучесть мембран, и его противоэпилептический эффект может быть обусловлен этим. Холестерин, содержащийся в плазматических мембранах эукариот, модулирует текучесть мембран, делая мембрану менее жидкой при более высоких температурах (например, температуре тела 37°C) за счет ограничения подвижности фосфолипидов и более жидкой при более низких температурах за счет предотвращения плотной упаковки фосфолипидов [71].

Заметим, что гептанол вызывает уменьшение мембранной текучести холестеринных доменов в липидном бислое, и этим эффектом можно объяснить эпилептогенный эффект гептанола [72]. В этом плане также достойно внимания, что пропופол, который оказывает антиэпилептическое действие [73], способен увеличить текучесть мембран [74]. Таким образом, в отличие от других преобладающих теорий по эпилептогенезу, гипотеза контаминации мембраны может дать рациональное объяснение противоэпилептическому эффекту кетогенной диеты и другим экспериментально подтвержденным фактам [68].

ОБСУЖДЕНИЕ

Антиэпилептическое действие КД для многих специалистов является до сих пор загадкой. Клинические и экспериментальные свидетельства показывают, что кетогенная диета эффективна даже при самых тяжелых формах эпилепсии. Тем не менее общепринятые теории о механизмах эпилептогенеза не способны дать этому факту объяснение. Мы считаем, что гипотеза мембран-

ной контаминации может объяснить этот механизм, в этом и состоит основной тезис нашей работы.

Причины контаминации мембран нервных клеток при эпилептогенезе могут быть самыми разными: некроз мозговой ткани (скажем, в результате травмы), выделение токсинов в случае эпилепсии, вызванной нейроинфекцией, или выделение анфилильных веществ при инфламации или эксайтотоксичности.

В связи с возможными биофизическими механизмами противосудорожного эффекта кетогенной диеты можно отметить три главных момента.

1. Роль кетонных тел в стабилизации бислоя может быть связана с их влиянием на такие биофизические свойства бислоя, как текучесть, а также с их действием в качестве антиоксидантов.

2. Увеличение активности глутатиона способствует деконтаминации мембран и препятствует действию окислительных агентов.

3. ПНЖК, поступающие с КД, играют важную роль в стабилизации поврежденных мембран в эпилептической мозговой ткани.

Не исключается вклад других эффектов в действие КД: диета может менять сольватацию липидов, белков и углеводов, а также ряд межмолекулярных взаимодействий на уровне мембраны, которые могут быть нарушены при эпилепсии и восстановлены в результате применения КД.

Заметим, что возможна контаминация глиальных клеток при эпилептогенезе — в этих клетках не развиваются ПД, но контаминация их мембран может привести к последствиям, усугубляющим эпилептический процесс. В частности, к загрязнению мембран нейронов продуктами метаболизма или к синхронизации эпилептического очага [15].

В целом белково-липидные взаимодействия играют ключевую роль в переходе от пейсмекерного потенциала к ПД, где принимает участие целый набор белков-ионных каналов, ионных насосов, рецепторов и т. д. Так, по мнению Альтрупа: «эпилептическая активность может быть результатом контаминации мембран нейронов анфилильными молекулами...». Включение этих веществ вызывает рост латерального давления в мембране, что может приводить к увеличению электрического сопротивления мембраны, ингибированию потенциалозависимых калиевых каналов, ингибированию разных типов лигандозависимых каналов; в конечном итоге все это приводит к преобразованию пейсмекерных потенциалов в ПД [7].

На рис. 5 представлена схема, объясняющая противосудорожный эффект КД в соответствии с гипотезой Альтрупа.

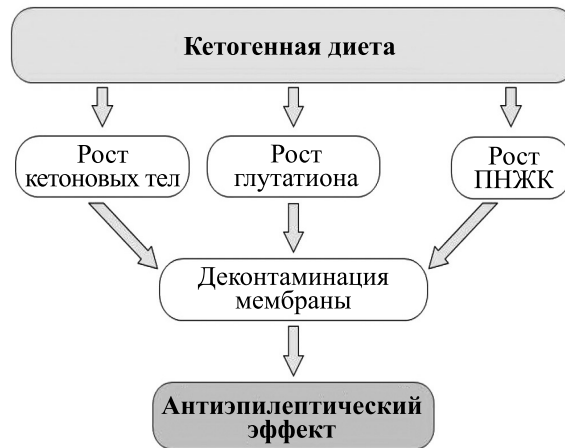


Рис. 5. Схематическое представление механизма действия кетогенной диеты в соответствии с гипотезой контаминации мембраны; ПНЖК – полиненасыщенные жирные кислоты.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В совокупности наши собственные данные наряду с литературными представляют новые факты, которые поддерживают и уточняют гипотезу контаминации мембраны, предложенную У. Алтрупом. Кетогенная диета может благоприятно изменить свойства двойного липидного слоя нейрональной мембраны при помощи различных механизмов:

- Прямого действия ацетона и других кетоновых тел (как противоэпилептического средства).
- Усиления синтеза холестерина, стабилизирующего текучесть мембраны и обладающего противоэпилептическим действием.
- Снижения эксайтотоксичности, связанной с глутаматом.
- Снижения уровня лактата, необходимого для включения липолиза.
- Повышения уровня глутатиона, который уменьшает уровень активных форм кислорода и захватывает эпилептогенные амфифильные вещества.
- Стабилизирующего действия ПНЖК.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы считают своим приятным долгом поблагодарить О. Остроумову, Ю. Ермакова, Д. Семёнова и Л. Яковенко за полезные обсуждения, И. Лавриненко – за техническую помощь. Мы также глубоко благодарны рецензенту за внимательное прочтение нашей работы, положительный отзыв и интересные вопросы.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена при поддержке Кубинского научного фонда (FONCI) и Проекта нефармакологической антиэпилептической терапии, координируемого Кубинским Центром нейронаук, а также при финансовой поддержке Программы фундаментальных исследований государственных академий наук России на 2013–2020 годы (темы № 01201363818 и № 01201363820).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая работа не содержит описания исследований с использованием людей и животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. K. M. Fiest, K. M. Sauro, S. Wiebe, et al., *Neurology* **88**, 296, (2017).
2. J. H. Bautista and F. Luders, *Epileptic Disord* **2** (1), 65 (2000).
3. J. Walden, H. Straub, and E. J. Speckmann, *Acta Neurol. Scand. (Suppl.)* **140**, 41 (1992).
4. S. Engelborghs, R. D’Hooge, and P. P. De Deyn, *Acta Neurol. Belg.* **100**, 201 (2000).
5. H. F. Bradford, *Prog. Neurobiol.* **47**, 477, (1995).
6. A. Bragin, C. L. Wilson, and J. Engel Jr, *Epilepsia* **41**, 144 (2000).
7. U. Altrup, M. Häder, J. L. Hernández Cáceres, et al., *Brain Res.* **1122**, 65 (2006).

8. E. Kandel, *Behavioral Biology of Aplysia* (New York, 1979).
9. A. L. Hodgkin and A. F. Huxley, *J. Physiol.* **117**, 500 (1952).
10. M. Wiemann, W. Wittkowski, U. Altrup, et al., *Cell Tissue Res.* **286**, 43 (1996).
11. E.-J. Speckmann and H. Caspers, *Epilepsia* **14**, 397 (1973).
12. M. Segal, *J. Neurophysiol.* **65**, 761 (1991)
13. Е. С. НИКИТИН и П. М. Балабан, *Журн. высш. нерв. деятельности им. И.П. Павлова* **61** (6), 750 (2011).
14. Т. П. Норемян, Е. С. НИКИТИН, Н. И. Браваренко и др., *Журн. высш. нерв. деятельности им. И.П. Павлова* **51**(6), 717 (2001).
15. U. Altrup, M. Hader, and U. Storz, *Brain Res.* **975**, 73 (2003).
16. R. H. Kramer and R. S. Zucker. *J. Physiol.* **362** (1), 107 (1985).
17. T. Budde, L. Caputi, T. Kanyshkova, et al., *J. Neurosci.* **25**, 9871 (2005).
18. N. I. Kononenko, *Comp. Biochem. Physiol.* **107A**, 323 (1994).
19. N. I. Kononenko, in: *Proc. IMACS Symp. on Mathematical Modelling* (Vienna, 1994), pp. 315–318.
20. A. O. Komendantov and N. I. Kononenko, *Systems Analysis Modelling Simulation* **18–19**, 725 (1995).
21. N. M. Berezetskaya, V. N. Kharkyanen, and N. I. Kononenko, *J. Theor. Biol.* **183** (2), 207 (1996).
22. N. I. Kononenko. *Comp. Biochem. Physiol.* **106A**, 135 (1993).
23. R. C. García Reyes, *B. Sc. Thesis* (Faculty of Mathematics, Havana University, 2020).
24. С. В. Стовбун и Л. В. Яковенко, *Вестн. МГУ. Физика* **6**, 101 (2014).
25. М. Н. Резаева, М. Хеншель, Х. Л. Эрнандес и др., *Биофизика* **25** (1), 41 (1980).
26. И. Тасаки, *Нервное возбуждение. Макромолекулярный подход* (М., Мир, 1971).
27. W. A. Catterall, A. L. Goldin, and S. G. Waxman, *Pharmacol. Rev.* **57**, 397 (2005).
28. I. Tasaki and K. Iwasa, *Japan. J. Physiol.* **32** (1), 69 (1982).
29. В. Г. Артюхов и М. А. Наквасина, *Биологические мембраны: структурная организация, функции, модификация физико-химическими агентами: Учеб. пособие* (Изд-во ВГУ, Воронеж, 2000).
30. J. R. Godfrey, M. P. Diaz, M. Pincus, et al., *Psychoneuroendocrinology* **91**, 169 (2018).
31. В. С. Abbott, A. V. Hill, and J. V. Howarth, *Proc. Roy. Soc. Lond. Ser. B – Biological Sciences* **148** (931), 149 (1958).
32. J. F. Howe, J. D. Loeser, and W. H. Calvin, *Pain* **3** (1), 25 (1977).
33. N. P. Franks and W. R. Lieb, *Nature* **333**, 662 (1988).
34. E. K. Lund, L. J. Harvey, S. Ladha, et al., *Ann. Nutr. Metab.* **43**, 290 (1999).
35. A. Hollo, Z. Clemens, A. Kamondi, et al., *Epilepsy Behav.* **24**, 131 (2012).
36. K. Ji-Eun and C. Kyung-Ok, *Nutrients* **11**, 1309 (2019).
37. A. Sukhotin, N. Fokina, and T. Ruokolainen, *J. Exp. Biol.* **220**, 1423 (2017).
38. G. Guelpa and A. Marie, *Rev. Ther. Medico-Chirurgicale* **78**, 8 (1911).
39. J. W. Wheless, *Epilepsia* **49** (8), 3 (2008).
40. R. M. Wilder, *Mayo Clinic Proc.* **2**, 307 (1921).
41. Y. Zhang, J. Xu, K. Zhang, et al., *Curr. Neuropharmacol.* **16**, 66 (2018).
42. D. Boison, *Curr. Opin. Neurol.* **30**, 187 (2017).
43. A. L. Hartman, X. Zheng, E. Bergbower, et al., *Epilepsia* **51**, 1395 (2010).
44. D. Y. Kim and J. M. Rho, *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care* **11**, 113 (2008).
45. A. L. Hartman, M. Gasior, E. P. Vining et al., *Pediatr. Neurol.* **36**, 281 (2007)
46. A. Paoli, G. Bosco, E. M. Camporesi, and D. Mangar, *Front. Psychol.* **6**, 27 (2015).
47. Е. А. Куринная и М. А. Барабанова, *Журн. неврологии и психиатрии* **10**, 67 (2005).
48. S. Sun, H. Li, J. Chen, et al., *Physiology* **32**, 453 (2017).
49. C. F. Pereira and C. R. de Oliveira, *Neurosci. Res.* **37**, 227 (2000).
50. H. M. Keith, *Arch. Neurol. Psych.* **29**, 148 (1933).
51. K. J. Bough and J. M. Rho, *Epilepsia* **48**, 43 (2007).
52. H. M. Keith, *Am. J. Dis. Children* **41** (3) 532 (1931).
53. S. S. Likhodii, I. Serbanescu, M. A. Cortez, et al., *Ann. Neurol.* **54** (2), 219 (2003).
54. K. J. Seymour, S. Bluml, J. Sutherling, et al., *Magnetic Resonance Materials in Physics, Biology and Medicine* **8** (1), 33 (1999).
55. N. Juge, J. A. Gray, H. Omote, et al., *Neuron* **68** (1), 99 (2010).
56. L. L. Thio, M. Wong, and K. A. Yamada, *Neurology* **54** (2), 325 (2000).
57. M. M. Hasan-Olive, K. H. Lauritzen, M. Ali, et al., *Neurochem. Res.* **44** (1), 22 (2019).
58. M. A. Rogawski, W. Löscher, and J. M. Rho, *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine* **6** (5), a022780 (2016).
59. R. L. Veech, B. Chance, Y. Kashiwaya, et al., *IUBMB Life* **51** (4), 241 (2001).
60. R. L. Veech, Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids **70** (3), 309 (2004).
61. A. Mosek, H. Natour, M. Y. Neufeld, et al., *Seizure* **18** (1), 30 (2009).
62. G. Dyrda, E. Boniewska-Bernacka, D. Man, et al. *Mol. Biol. Reports* **46** (3), 3225 (2019).
63. H. V. Júnior, M. M. D. F. Fonteles, and R. M. de Freitas, *Oxidative Med. Cell. Longevity* **2** (3), 130 (2009).

64. S. G. Mueller, A. H. Trabesinger, P. Boesiger, et al., *Neurology* **57** (8), 1422 (2001).
65. J. B. Schulz, J. Lindenau, J. Seyfried, et al., *Eur. J. Biochem.* **267** (16), 4904 (2000).
66. C. A. Shaw, in *Glutathione in the nervous system*, Ed. by C. A. Shaw (Taylor & Francis, Lond., 1998).
67. T. Harayama and T. Shimizu, *J. Lipid Res.* **61** (8), 1150 (2020).
68. P. Chang, K. Augustin, K. Boddum, et al., *Brain* **139** (2), 431, (2016).
69. R. B. Aird and C. Gurchot, *Arch. Neurol. Psychiatry* **42** (3), 491 (1939).
70. A. Mosek, H. Natour, M. Y. Neufeld, et al., *PLoS One* **5** (6), e11162-1 (2010).
71. M. H. Martinez-Seara, T. Rog, M. Karttunen, et al., *Epilepsia* **45** (Suppl. 7), 199 (2004).
72. E. L. Bastiaanse, H. J. Jongsma, A. van der Laarse, et al., *J. Membrane Biol.* **136** (2), 135 (1993).
73. M. T. Baker, *Anesthesia & Analgesia* **112** (2), 340 (2011).
74. H. Tsuchiya, *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* **28** (4), 292 (2001).

Hypothesis on Pollution of Neuronal Membranes, Epilepsy and Ketogenic Diet

Yu.D. Nechipurenko*, R.C. Garcia Reyes**, and J.L. Hernandez Caceres**

**Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, ul. Vavilova 32, Moscow, 119991 Russia*

***Cuban Neuroscience Center, 15202 Avenida 25, Playa, La Habana, 11600 Cuba*

In the light of new data, Altrup's hypothesis on the contamination of neuronal membranes in epilepsy is dealt with. This hypothesis links the paroxysmal depolarization observed during epileptic activity with the pacemaker potential of a single neuron. The physicochemical characteristics of the membrane, fluidity and contamination affect its ability to conduct an impulse and recharge. Previously proposed methods of epilepsy treatment based on ketogenic diet and their possible explanations are discussed in connection with the Altrup's hypothesis. Among the possible action mechanisms of the ketogenic diet, the antiepileptic effect of ketone bodies, the role of increased glutathione synthesis and the effect of dietary polyunsaturated fatty acids and cholesterol are emphasized. These three mechanisms lead to the regulation of the fluidity and other biophysical properties of the lipid bilayer, as well as to the de-contamination of the membrane from amphiphilic impurities, in accordance with Altrup's hypothesis.

Keywords: epileptic activity, paroxysmal depolarization shifts, pacemaker potential, hypothesis proposed by Altrup, membrane pollution, lateral pressure, ketogenic diet, glutathione, polyunsaturated fatty acids