

Сравнение влияния стандартных лабораторных диет и натуральных кормов на морфологические и функциональные характеристики мышей

Ловать М.Л.,

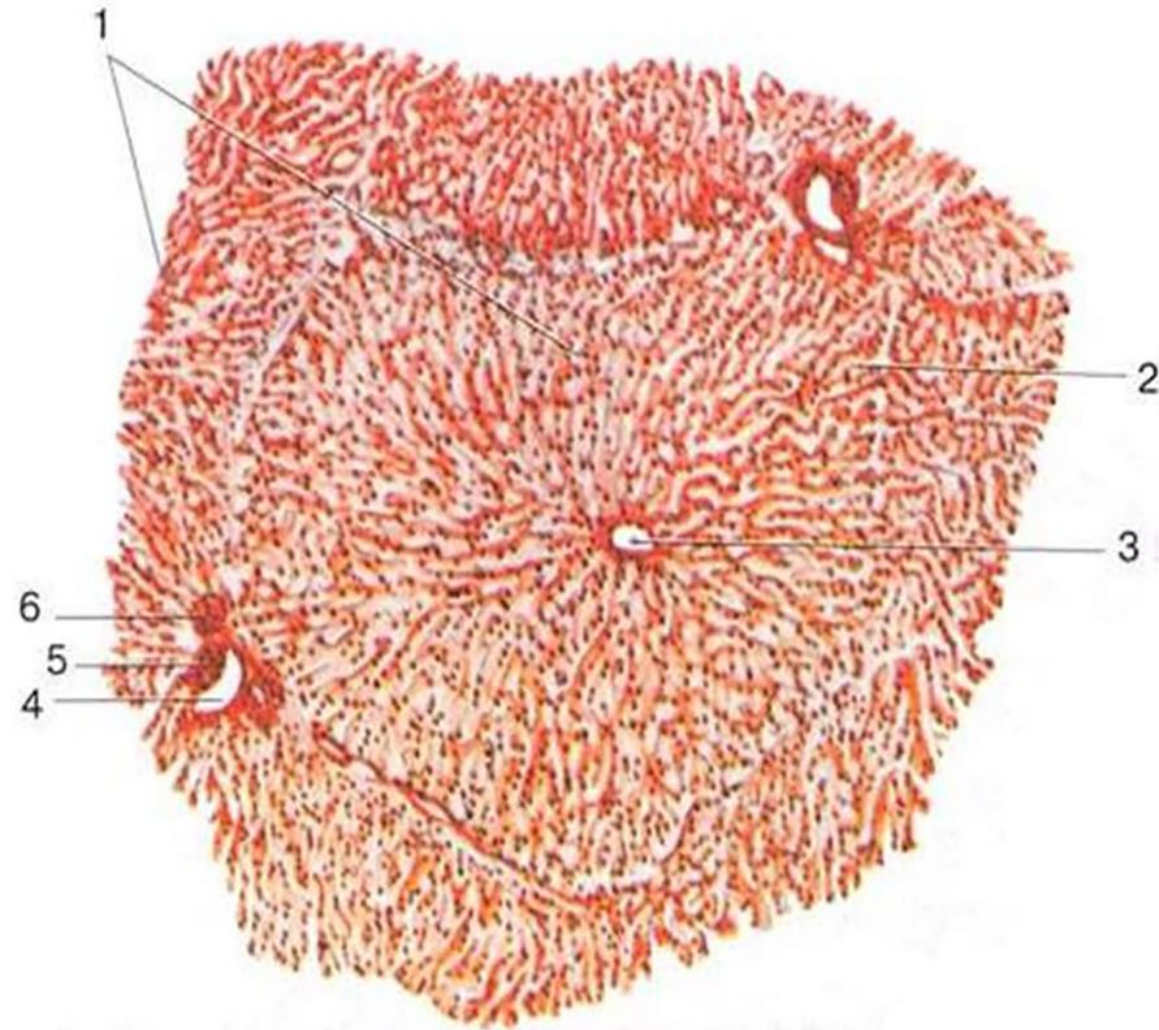
*Вайс В.Б., Вангели И.М., Погорелая Е.К.,
Кушнир Е.А. Бакеева Л.Е.*

**Испытательный Центр «Виварно-экспериментальный комплекс
ООО «НИИ Митоинженерии МГУ», Москва**

**НИИ физико-химической биологии
имени А.Н. Белозерского,
МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия**

**Конференция GLP-PLANET III
30 июня - 01 июля 2022 г.**

Гистологическое строение дольки печени



1. Дольки печени, lobuli hepatis.
2. Синусоид.
3. Центральная вена, v. centralis.
4. Междольковая портальная вена, v. interlobularis.
5. Междольковая артерия, a. interlobularis.
6. Междольковые протоки, ductuli interlobulares.

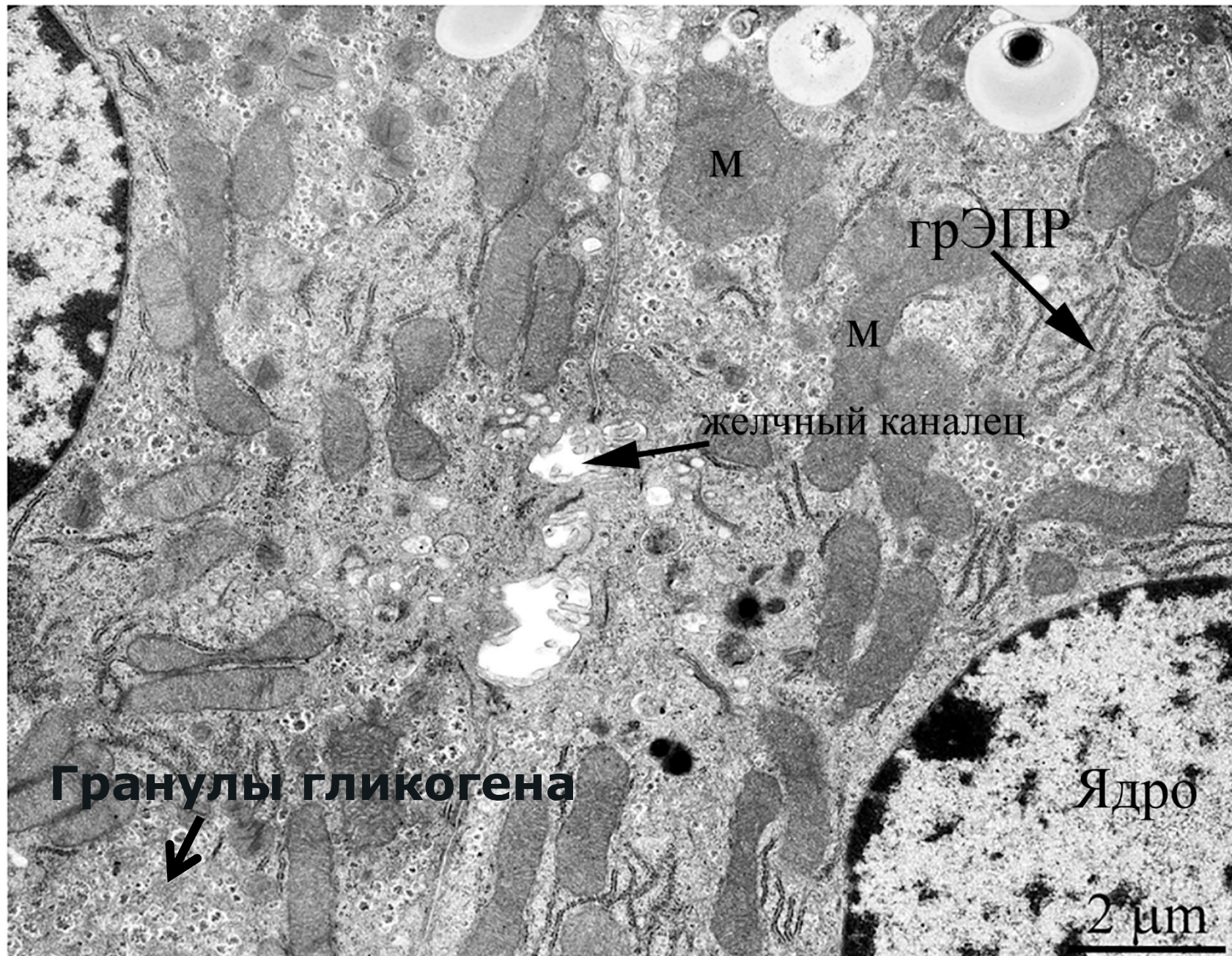
А что при БОльшем увеличении?

Ультраструктура отражает процессы, идущие в клетке

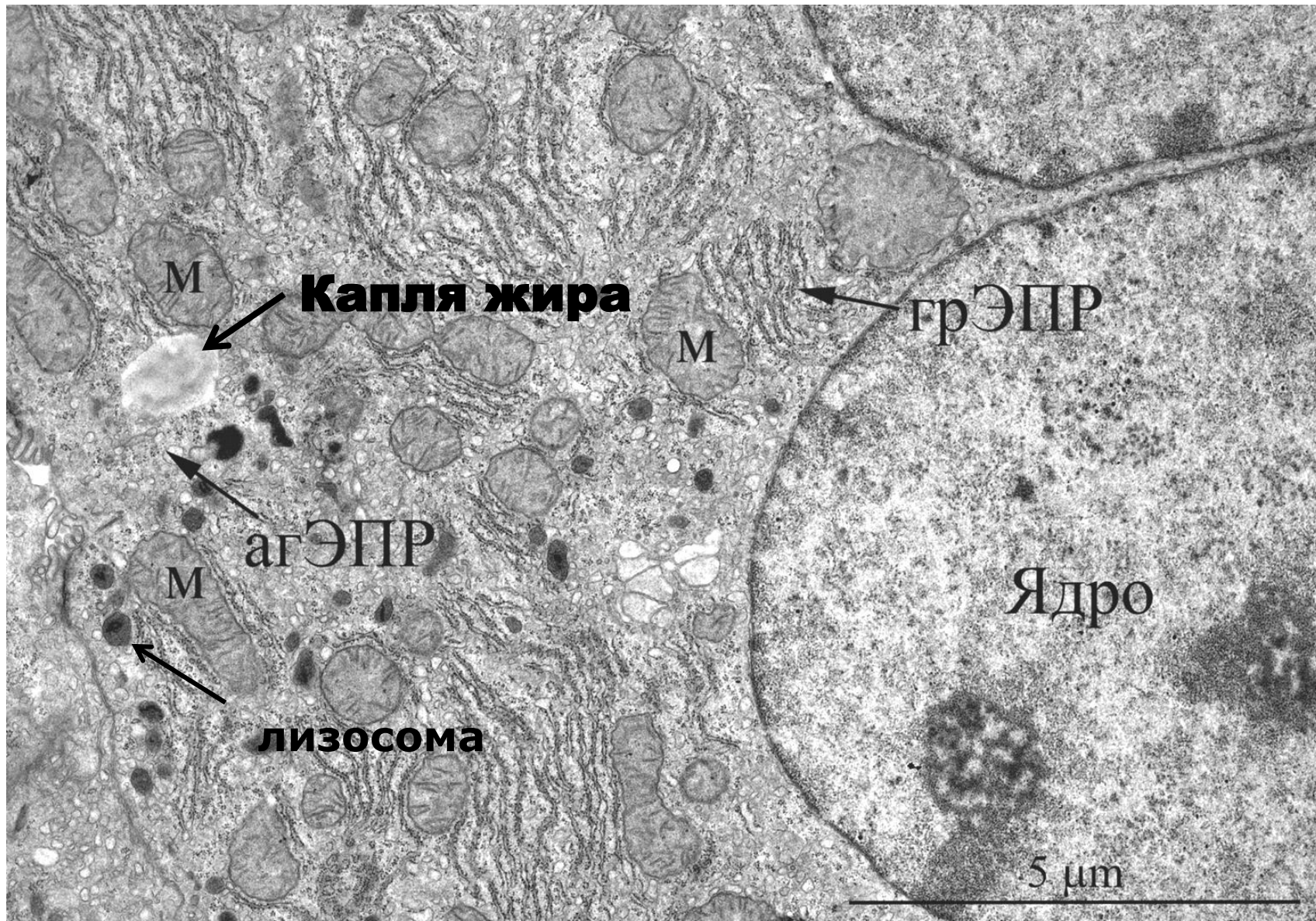
Ультраструктура гепатоцита мыши в возрасте 1 месяца. Принятая норма.



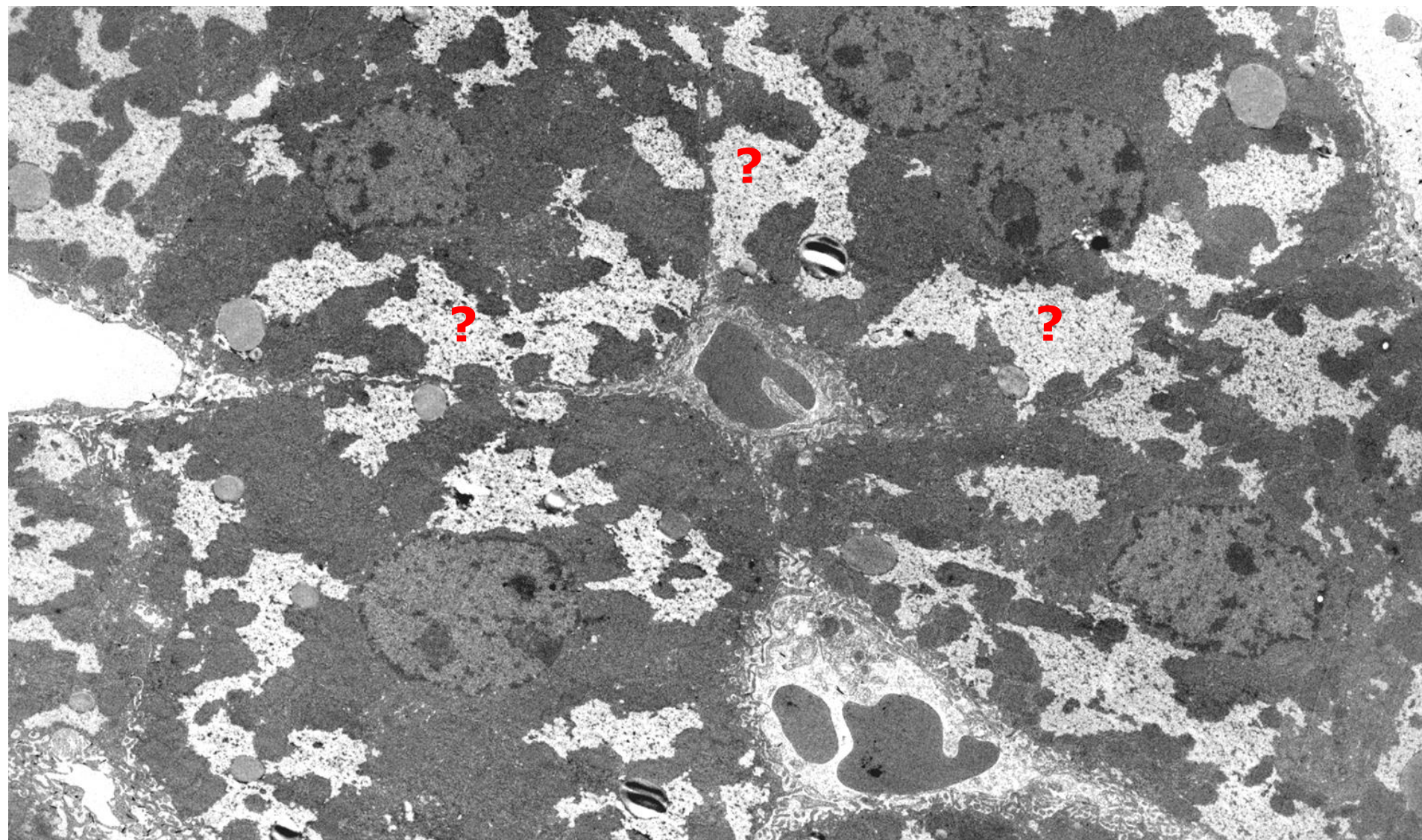
Ультраструктура гепатоцита мыши в возрасте 1 месяца. Большое увеличение.



Особенности внутренней ультраструктуры гепатоцита мыши в возрасте 1 месяца. Большое увеличение.



Ультраструктура гепатоцитов мыши в возрасте 3 месяцев, конвенциональные животные, корм «Чара»



В рамках сравнительно физиологических исследований, контроль



Ультраструктура гепатоцитов мыши в возрасте 1 месяца, конвенциональные животные, корм «Лабораторкорм»



Экспериментальные группы

Исследованные корма:

- Mucedola
- Altromin
- SSNIFF

(только синтетические компоненты)

- Лабораторкорм
- Чара
- Тосно
- Натуральный
(с животными и
растительными компонентами)
- Натуральный
(только с растительными
компонентами)

Режим кормления:

- в с возраста 6 месяцев, в течение полугода
- В течение 1-2 месяцев (с перехода к самостоятельному питанию)

Мыши:

- Конвенциональные
- SPF

Линия:

C57Bl/6

Гибриды: F1 C57Bl/6/CBA

Сток: CD1

Питомники:

Charles River,

ИЦИГ (Новосибирск)

Собственное разведение

Эвтаназия (10-11 утра):

- Сытые
- Лишенные корма за 12 часов

Состав натуральных диет

Состав животно-растительной кормовой смеси:

творог 30 гр
вареная рыба 50 гр
овес 30 гр
пшеница 5 гр
красная морковь 30 гр
капуста 50 гр
сушеные яблоки 5 гр
сено автоклавированное – 20 гр

- Смена через день
- У животных есть выбор!

Состав растительной кормовой смеси:

подсолнечник – 5 гр
орех фундук – 6 шт
овес 30 гр
пшеница 5 гр
красная морковь 30 гр
капуста 50 гр
сушеные яблоки 5 гр
сено автоклавированное – 20 гр



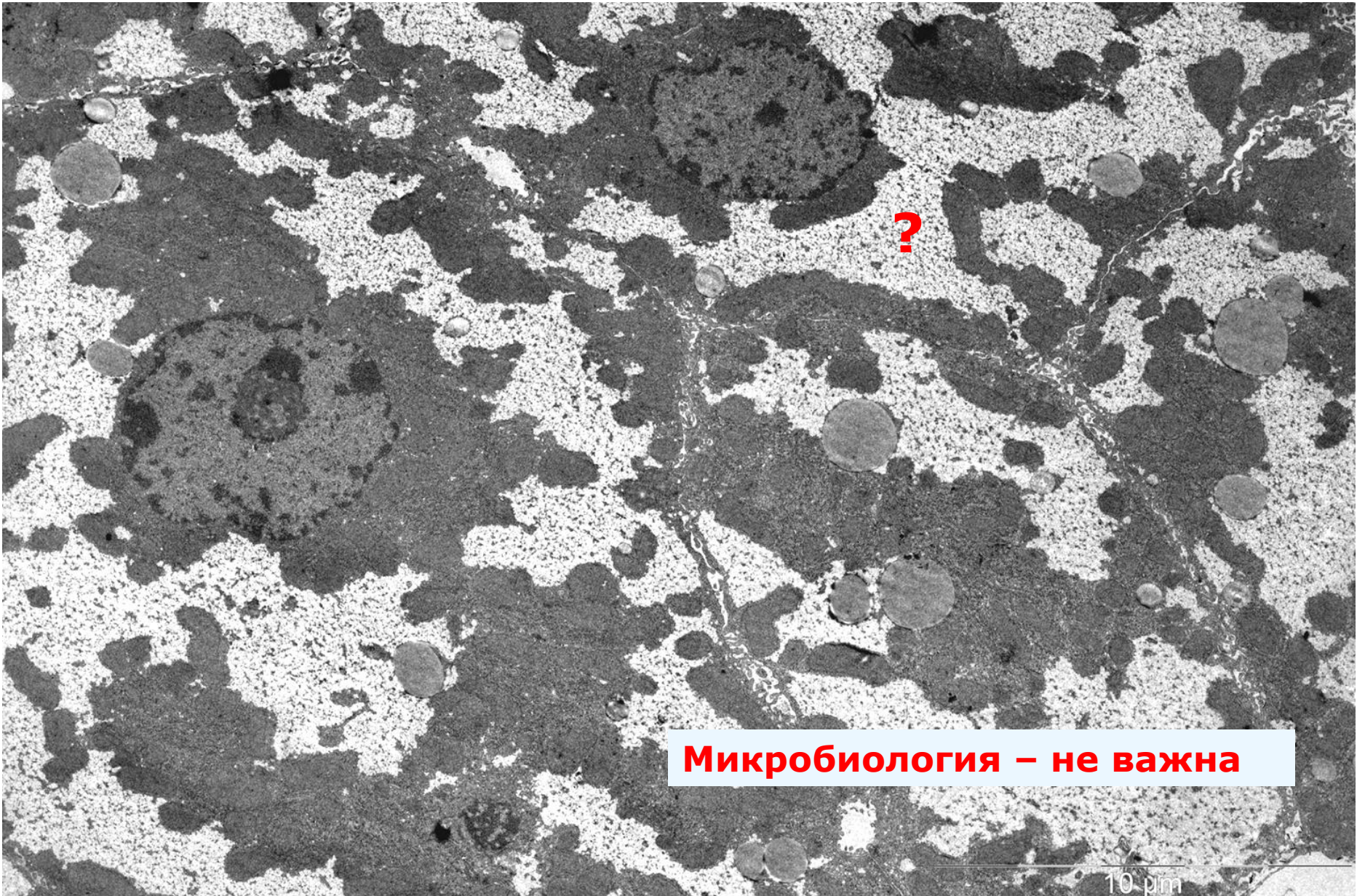
Ультраструктура гепатоцитов мыши в возрасте 1 месяца, животные SPF статуса, сразу после привоза из питомника Charles River (в пути питание гелем)



Пробоподготовка - ок

10 μ m

Ультраструктура гепатоцитов мыши в возрасте 3 месяцев, животные SPF статуса (ИБК), корм «Чара»



Микробиология – не важна

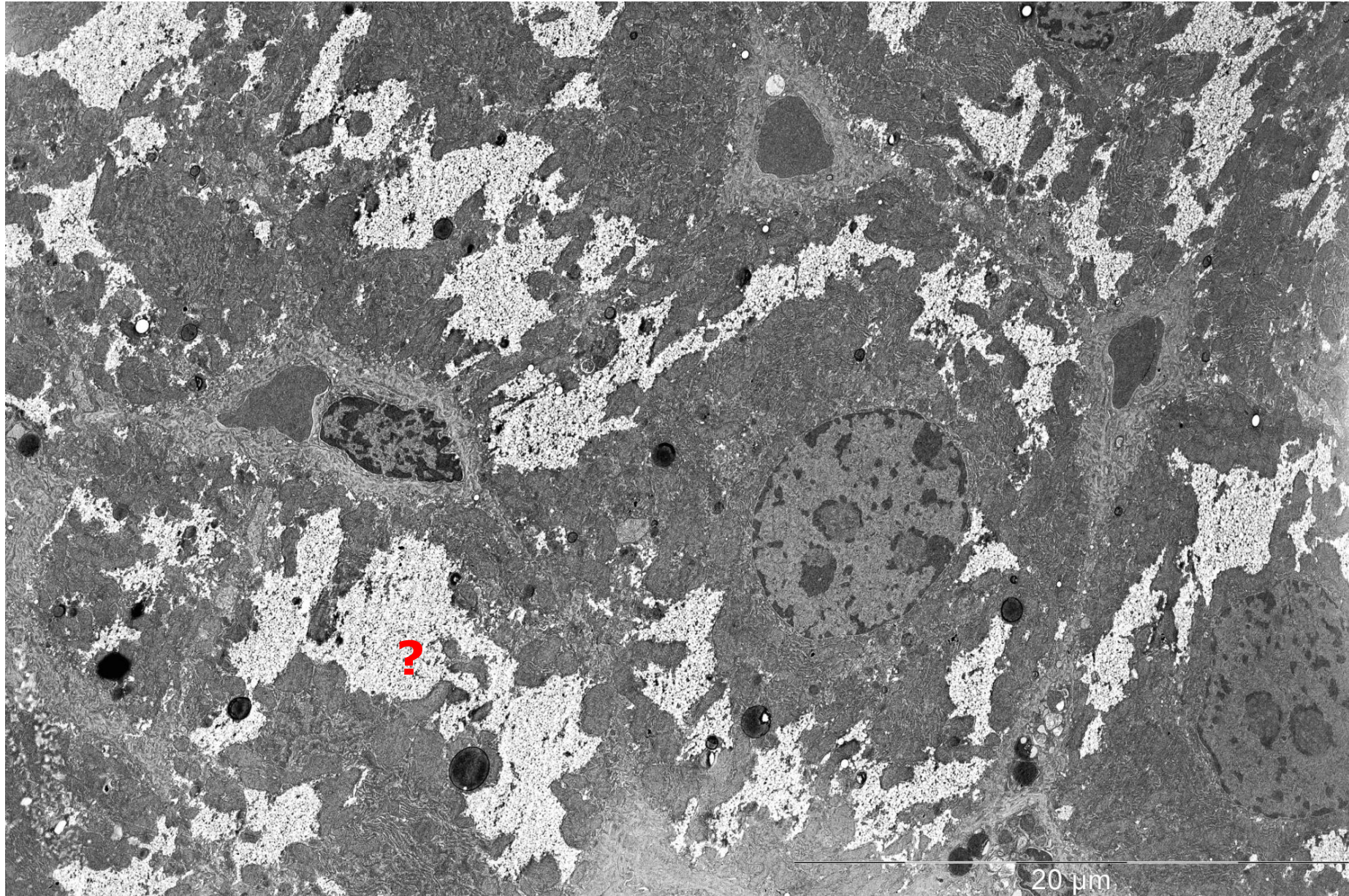
Ультраструктура гепатоцитов мыши в возрасте 3 месяцев, животные SPF статуса (ИБК), корм «Чара»

Немембранные аморфные структуры, цитоплазма прижата к ядру, органеллы в норме



Корм неизвестного состава?

Ультраструктура гепатоцитов мыши в возрасте 3 месяцев,
SPF, корм **Тосненского** завода «ЛБК -120_106104»



Ультраструктура гепатоцитов мыши в возрасте 3 месяцев, животные SPF статуса (ИБК), корм «**Mucedola**»



Стандарт корма не влияет

5 μm

Ультраструктура гепатоцитов мыши в возрасте 2 месяцев,
SPF статус, собственное разведение, корм **Altromin**



Синтетический корм картину не меняет

Ультраструктура гепатоцитов мыши в возрасте 2 месяцев, SPF статус, собственное разведение, корм **SSNIFF**



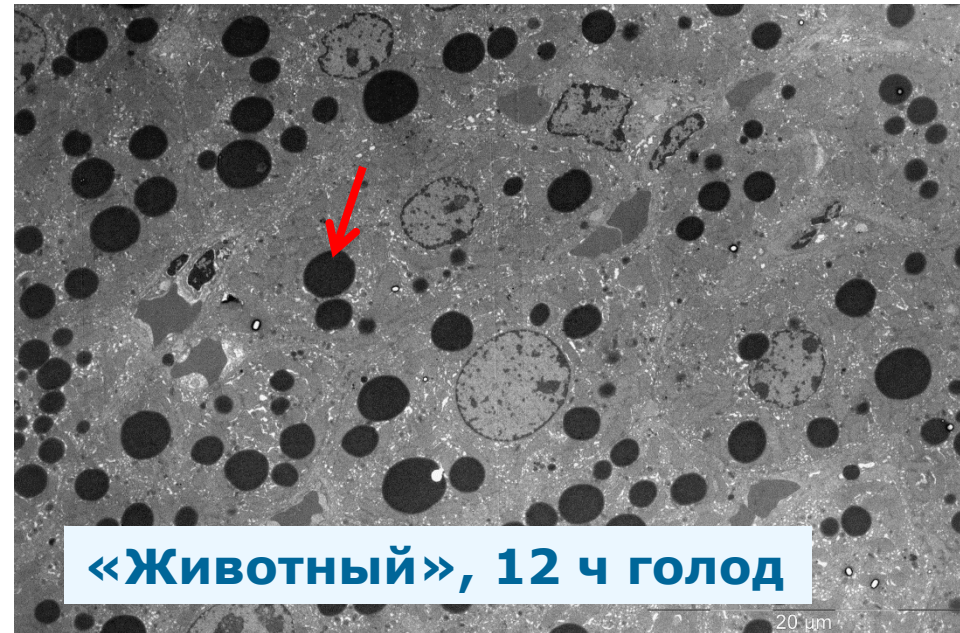
Вид стандартного гранулированного корма влияет на структуру органелл, но не на аморфные структуры

20 μm

Ультраструктура гепатоцитов мыши в возрасте 3 месяцев, животные SPF статуса (ИБК), **натуральные корма**



«Животный», сытые



«Животный», 12 ч голод



«Растительный», сытые



Растительный, 12ч голод

Ультраструктура гепатоцитов мыши в возрасте 3 месяцев, животные SPF статуса (ИБК), растительные корма, голод

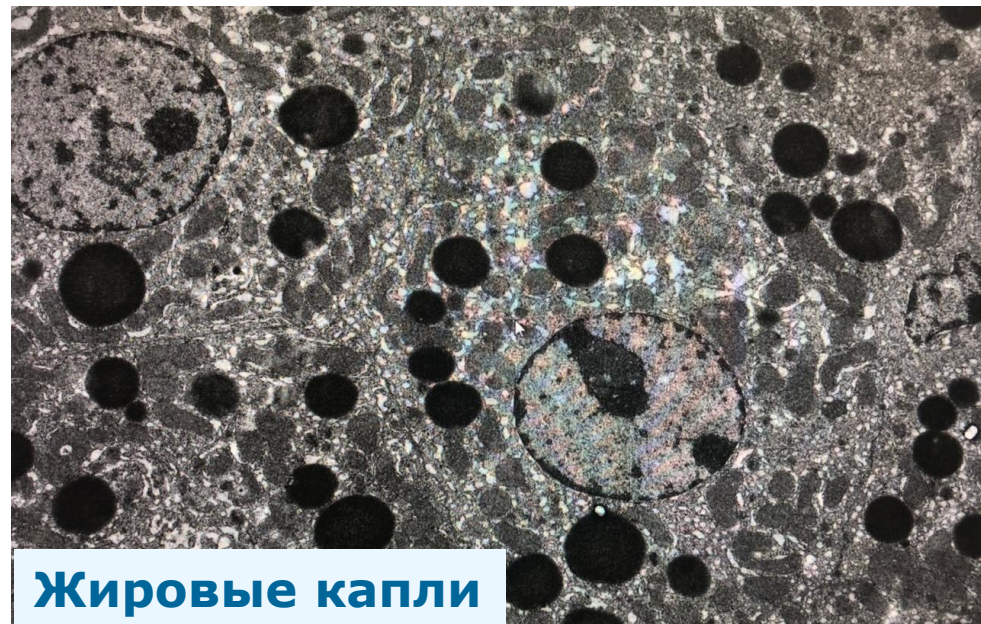


Натуральный «животный»
корм, сытые.



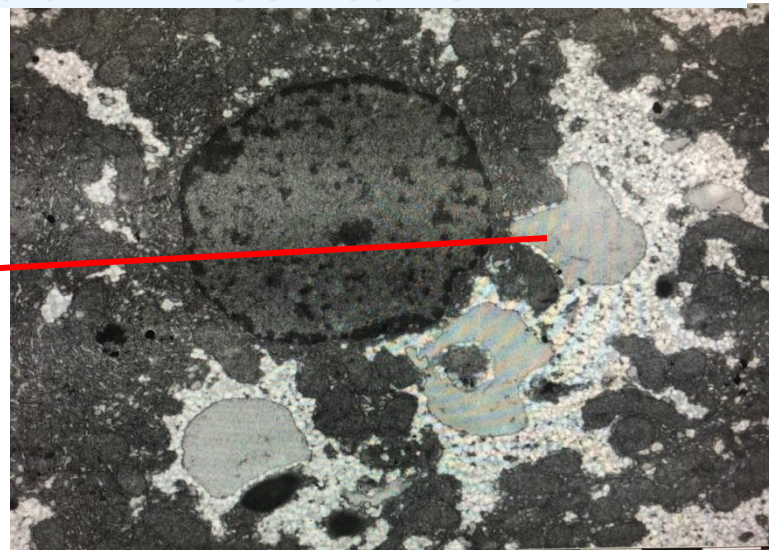
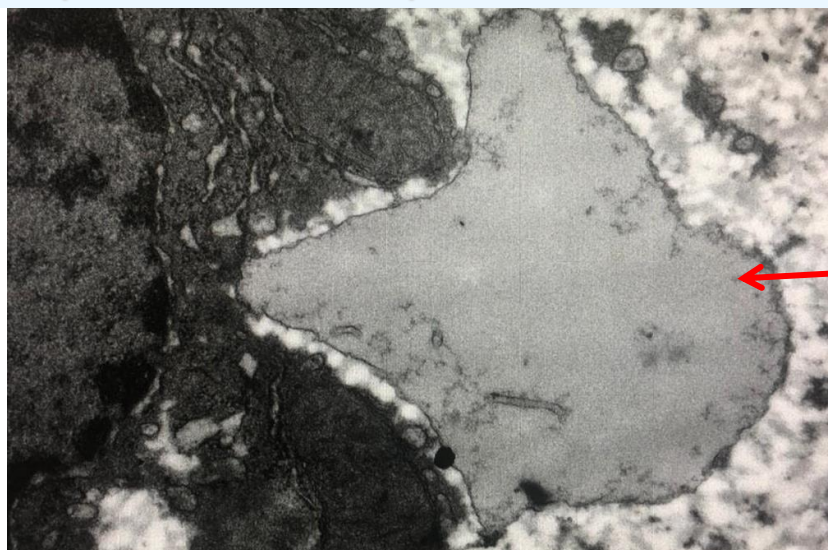
Структуры есть, но немного

Натуральный «животный»
корм. 12 часов голодание



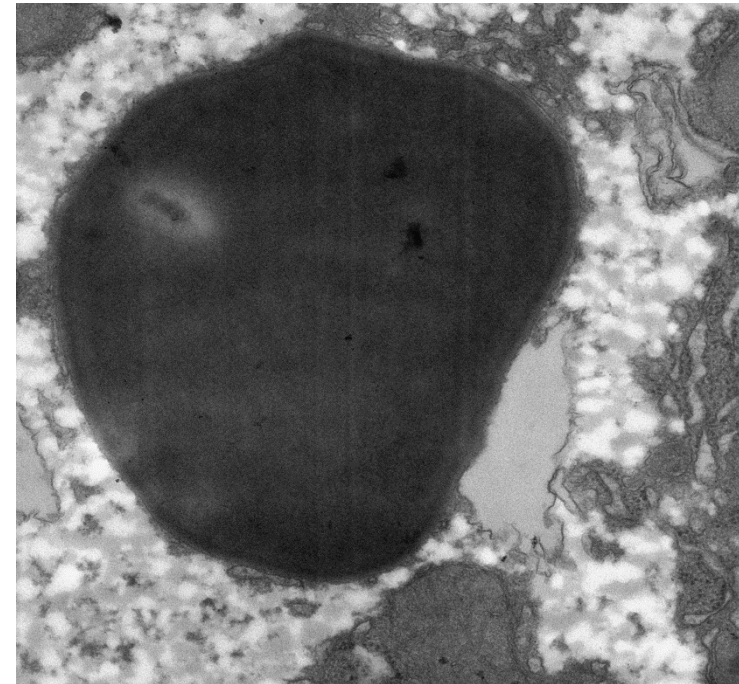
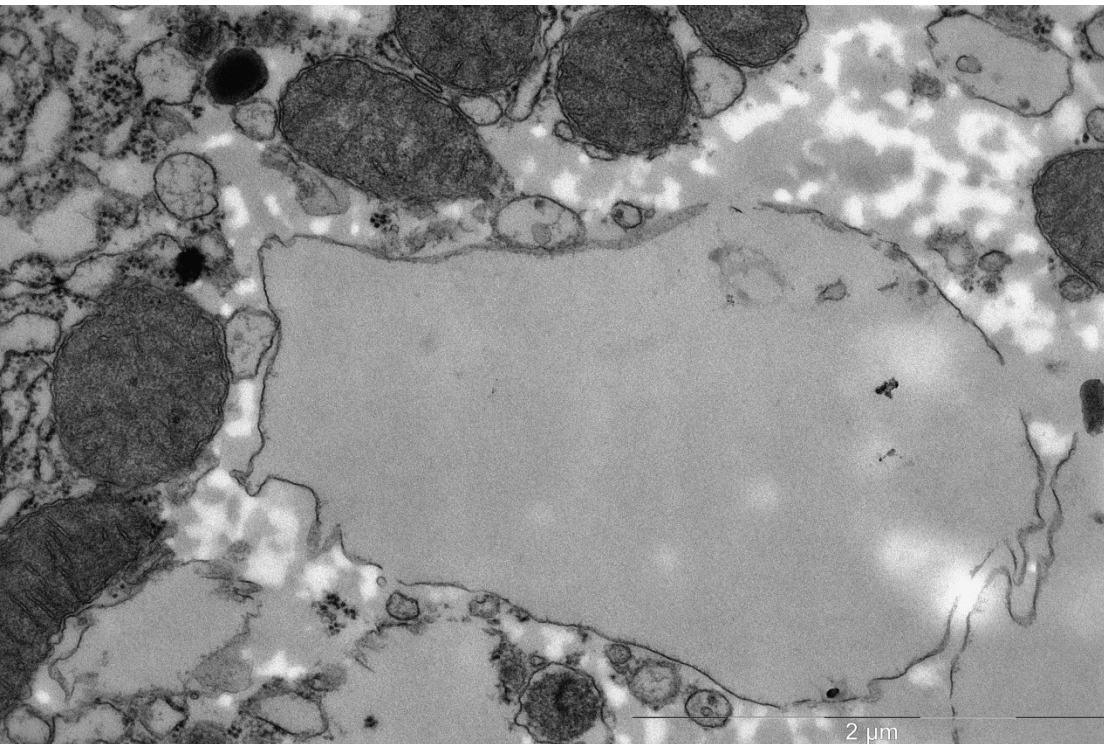
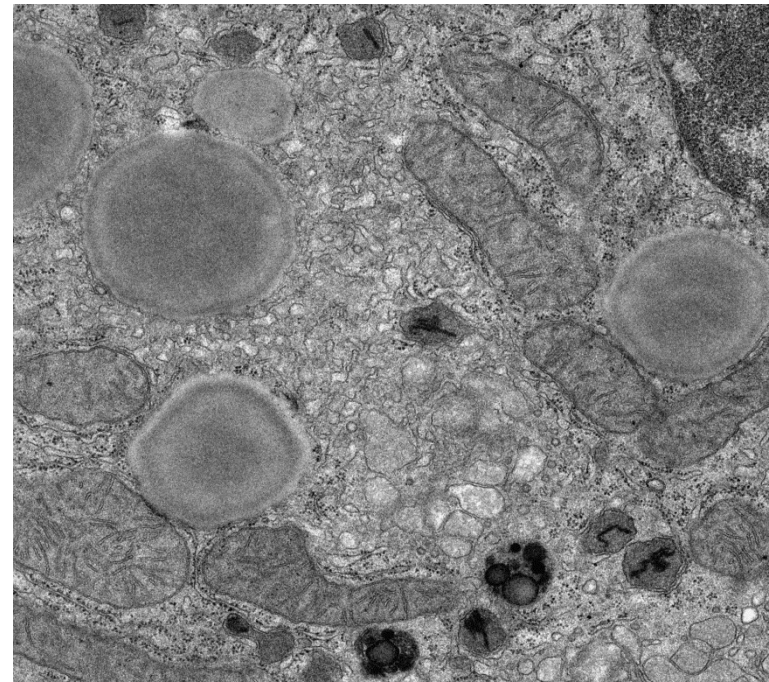
Жировые капли

Образование жировых капель из аморфных структур при голоде?



Возможные этапы мобилизации запасов при голодании

- превращение аморфного вещества (гликолипиды?) в жировые капли (за счет траты углеводной компоненты?),
- появление лизосом,
- просветление жировых капель



Ультраструктура гепатоцитов мыши в возрасте 2 месяцев, SPF статус, корм Mucedola

12 часов голодание

Жировые капли, мало аморфных структур

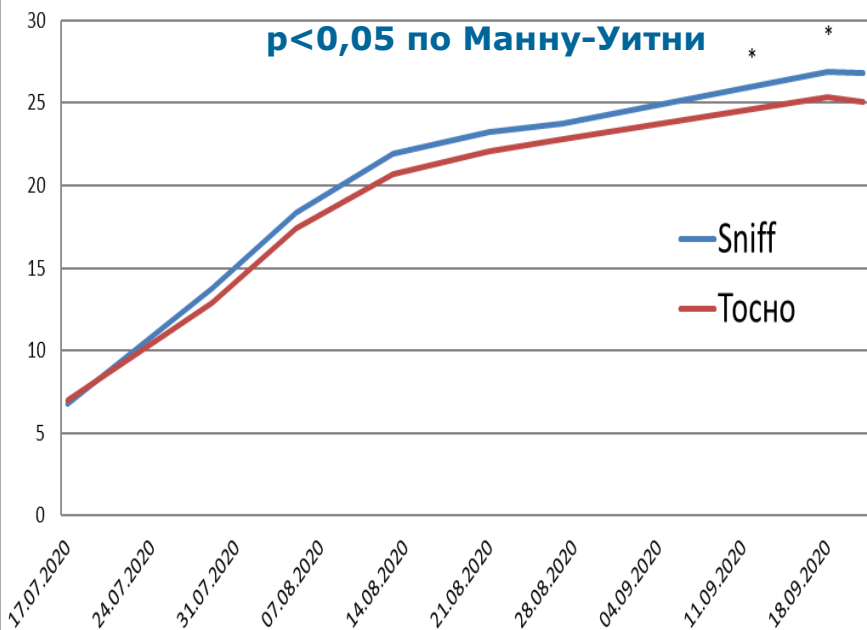
Быть может, все это малозначимые вариации нормы?

10 μ m

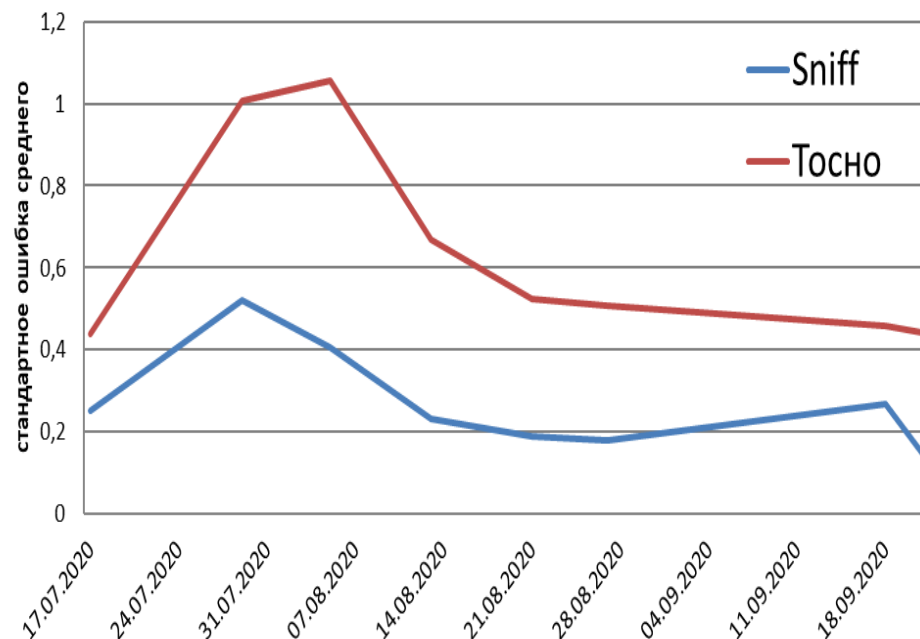
Набор веса, мышцы в возрасте 2 месяцев, SPF статус, собственное разведение (гибриды F1 C57Dl6/BALB/c), корм SSNIFF/ «Тосно» с рождения

Динамика массы тела, г

$p < 0,05$ по Манну-Уитни



Разброс массы тела (COШ)

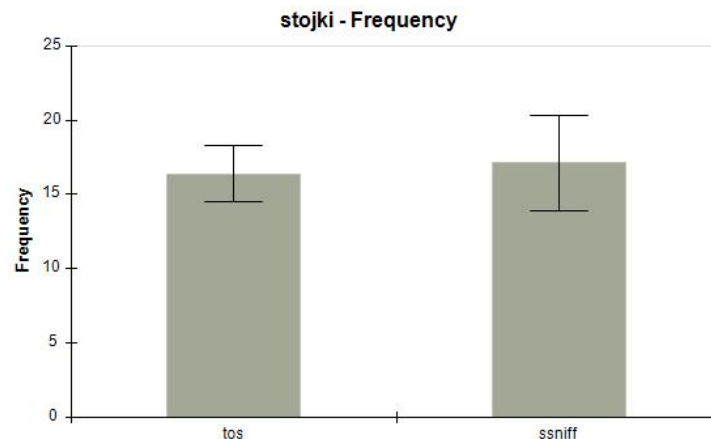
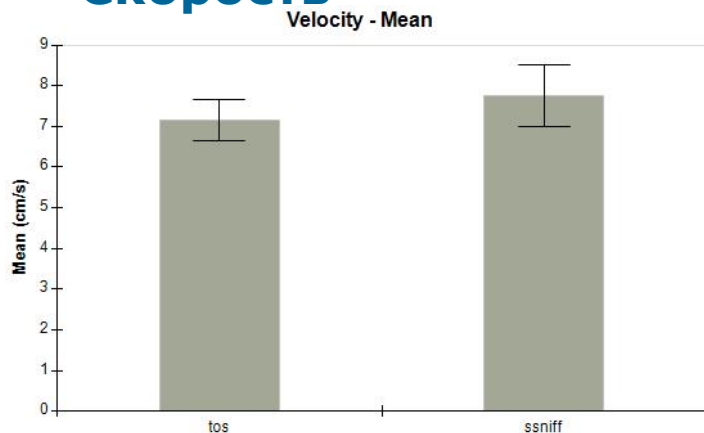


Замедление набора веса, большой разброс

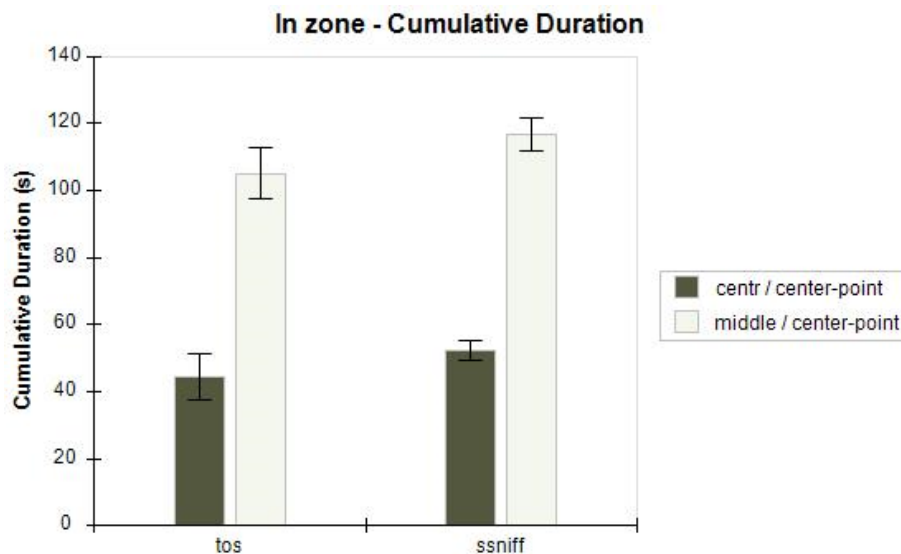
Активность в тесте «Открытое поле», мыши в возрасте 1,5 месяцев, SPF статус, собственное разведение, корм **SSNIFF/ «Тосно» с рождения**

Стойки

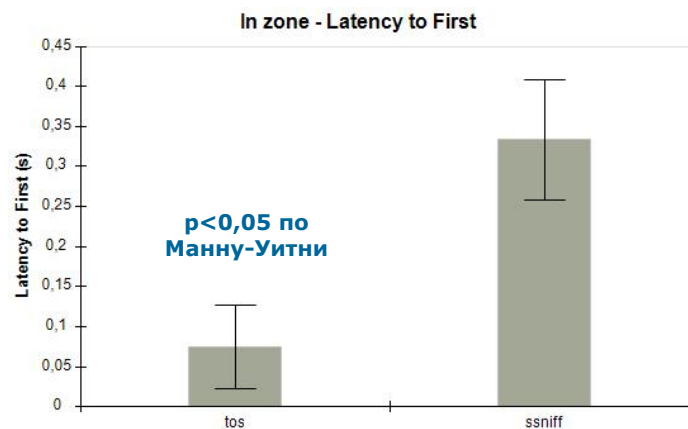
Скорость



Время в центре



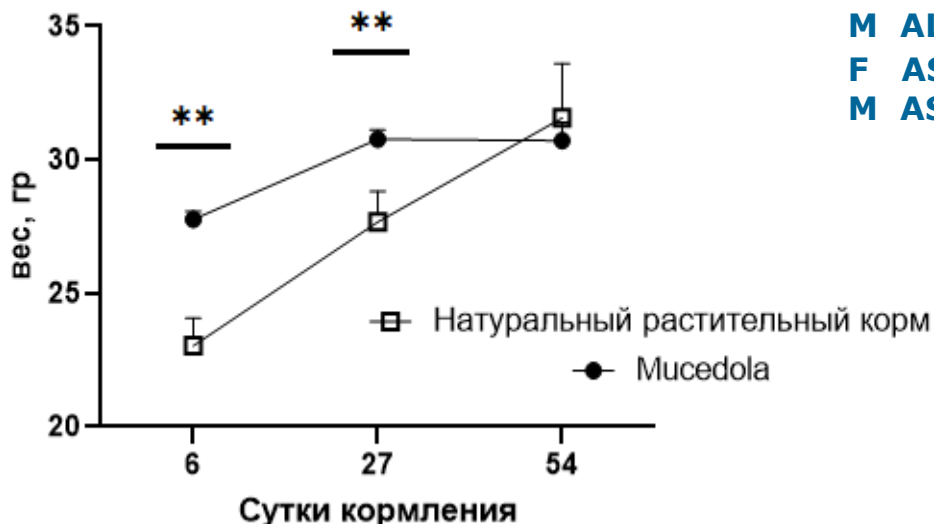
Латентный период
ухода из центра поля
(тревожность?)



Мыши в возрасте 3 месяцев, SPF, (гибриды F1 C57DI6/BALBc), «растительный» корм / Mucedola

Мыши C57BI/6, SPF, корм Altromin контроль, 4 недели

Динамика веса мышей



	Наши данные	лит-ра*	Лит-ра **
F ALT, U/L	52,6±16,65	49 ± 22.6	
M ALT, U/L	74,34±23,503	99 ± 86.3	8-18
F AST	204,49±64,665	128 ± 60.6	
M AST	256±80,9	196 ± 132.6	14-38

*- The Mouse in Biomedical Research, 2nd Edition.
James G. Fox. 2007, Elsevier, Inc
**- Clinical Biochemical and Hematological
Reference Values in Normal Experimental Animals
and Normal Humans, BM Mitruka and HM Rawnsley,
2nd Edition, 1981.

Показатели крови

	лейкоциты	лимфоциты	гранулоциты	эритроциты	гемоглобин	гематокрит	объем эритроцита	тромбоциты
Растительный	2,22	1,70	0,36	5,40	83,00	27,60	51,08	110,17
Муцедола	4,07	3,13	0,67	8,25	136,67	44,52	54,12	130,50
P, по Манну-Уитни	0,03	0,03	н/д	0,04	0,03	0,04	0,01	н/д

Различия есть не только в микроструктуре печени!

Данные
литературы:

Ультраструктура гепатоцитов крысы SD, конвенциональные, **корм, сытость** - ?

Fasting blood
glucose
Fasting insulin
ALT
AST
Total cholesterol
TG (mg/dl)
HDL (mg/dl)
LDL (mg/dl)
LDL/HDL ratio mean

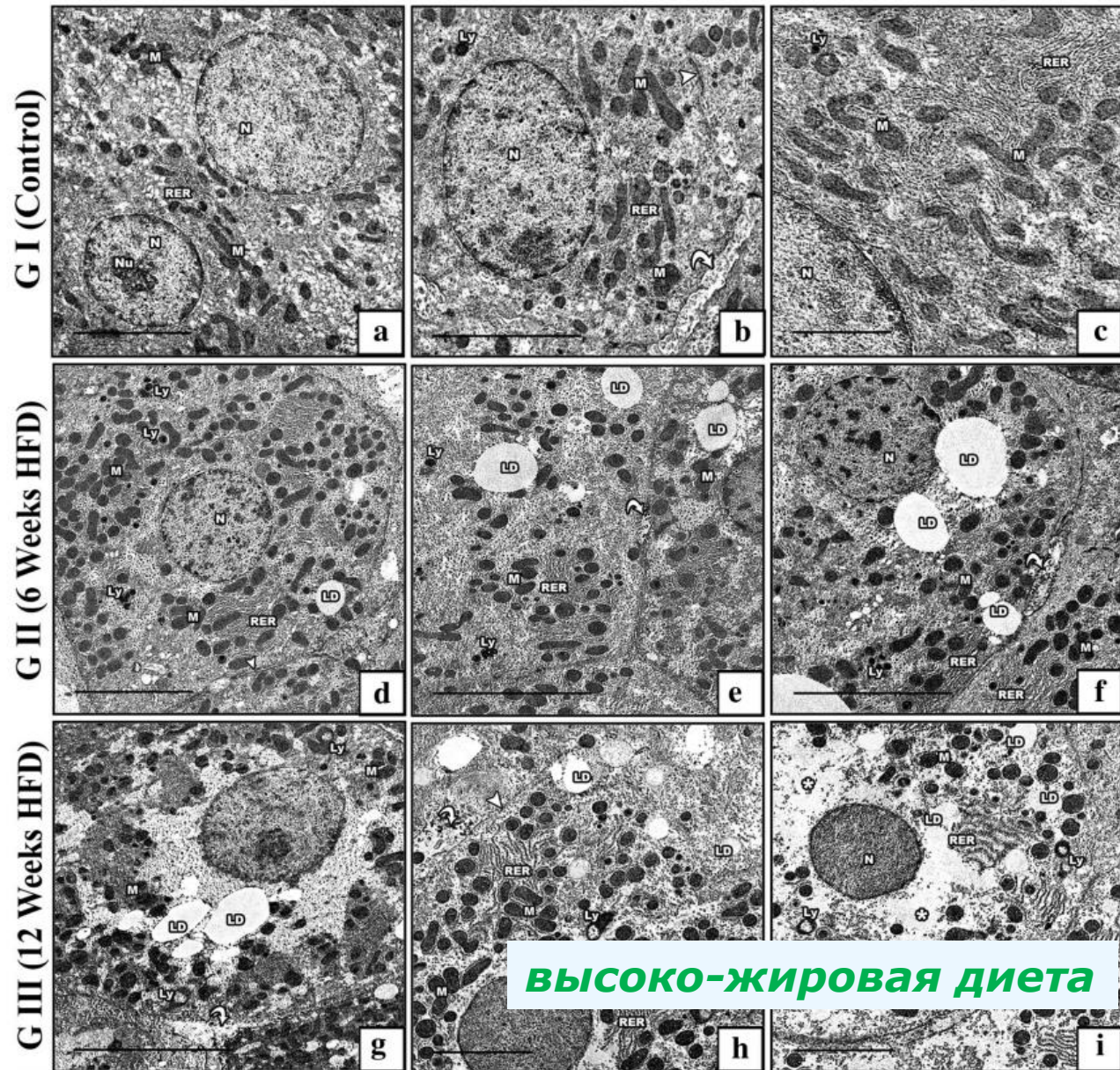
TNF- α gene expression
CRP gene expression
HNF4 α gene expression

**Note that some areas of
the cytoplasm are
devoid of organelles (*).**

Molecular and ultrastructure
study of endoplasmic reticulum
stress in hepatic steatosis: role
of hepatocyte nuclear factor 4 α
and inflammatory mediators

Salwa M. Abo El-khair1 · Fatma
M. Ghoneim2
· Dalia A. Shabaan2
· Ayman Z. Elsamanoudy1,3

4 October 2019
Histochemistry and Cell Biology
<https://doi.org/10.1007/s00418-019-01823-2>



The background of the image is a microscopic view of plant tissue, likely a cross-section of a stem or root. It shows a complex arrangement of cells, including vascular bundles with xylem and phloem, and surrounding cortical cells. The colors are somewhat muted, with dark brown and black tones for the cell walls and lighter, yellowish-green areas for the cytoplasm and intercellular spaces. A semi-transparent grey rectangular box is centered over the image, containing the Russian text "Спасибо за внимание" in a teal-colored font.

Спасибо за
внимание

CLINICAL CHEMISTRY REFERENCE RANGES FOR ADULT MICE^a

Analyte	Units	CD-1		C57BL/6		BALB/cBy	
		M	F	M	F	M	F
Serum							
Glucose	mg/dl	112 ± 38.1	97 ± 39.9	121.7 ± 33.2	134.4 ± 20.3	171.6 ± 57.2	174.9 ± 31.0
Urea nitrogen	mg/dl	38 ± 20.1	37 ± 16	32.7 ± 3.5	23.6 ± 5.3		
Creatinine	mEq/l	1.10 ± 1.45		0.50 ± 0.08	0.84 ± 0.298	0.43 ± 0.14	0.45 ± 0.07
Sodium	mEq/l	166 ± 8.6	166 ± 4.1	166.7 ± 8.9	160.8 ± 4.40	157.8 ± 5.7	157 ± 6.70
Potassium	mEq/l	8.0 ± 0.85	7.8 ± 0.75				
Chloride	mg/dl	125 ± 7.2	130 ± 3.9				
Calcium	mg/dl	8.90 ± 2.06	10.30 ± 1.58			8.10 ± 0.80	
Phosphorus	mg/dl	8.30 ± 1.46	8.00 ± 1.85			5.95 ± 0.63	
Magnesium	mg/dl	3.11 ± 0.37	1.38 ± 0.28				
Iron	µg/dl	474 ± 44	473 ± 16				
Alanine aminotransferase	IU/l	99 ± 86.3	49 ± 22.6	41.4 ± 16.4	29.3 ± 7.1		
Aspartate aminotransferase	IU/l	196 ± 132.6	128 ± 60.6	99.5 ± 33.4	73.6 ± 15.3		
Alkaline phosphatase	IU/l	39 ± 25.7	51 ± 27.3	59 ± 11.4	118 ± 15.9		
Lactate dehydrogenase	IU/l					378 ± 269	
Protein, total	g/l	44 ± 11.0	48 ± 8.5	53.9 ± 7.5	63.5 ± 8.8	55.7 ± 8.9	54.6 ± 8.3
Albumin	g/l			36.7 ± 5.2	46.4 ± 7.0	31.7 ± 4.7	39.3 ± 5.4
Cholesterol	mg/dl	114 ± 56.3	72 ± 20.1	94.8 ± 16.9	92 ± 15.9	150.4 ± 29.9	118.2 ± 36.1
Triglycerides	mg/dl	91 ± 58.5	53 ± 23.6	97 ± 21.1	78 ± 12.2		
Bilirubin	mg/dl	0.4 ± 0.2	0.5 ± 0.35			0.7 ± 0.15	

Мыши C57 Bl/6, SPF, корм Altromin контроль, 4 недели

		Средн	СОШ
F	ALT, U/L	52,6	16,65657888
M	ALT, U/L	74,34	23,50837213
F	AST	204,49	64,66570335
M	AST	256	80,9543081