

*Е.А. Калаева<sup>1</sup>, В.Н. Калаев<sup>1</sup>, И.В. Блаженков<sup>1</sup>, М.С. Нечаева<sup>2</sup>,  
О.Ю. Мальцева<sup>3</sup>, И.В. Новикова<sup>3</sup>*

## **ВЛИЯНИЕ КЕТОГЕННОЙ ДИЕТЫ НА ЛЕЙКОЦИТАРНУЮ ФОРМУЛУ, СТАБИЛЬНОСТЬ И АКТИВНОСТЬ ГЕНЕТИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА МЫШЕЙ**

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет»,  
г. Воронеж, Российская Федерация;

<sup>2</sup> ФГБОУ ВО «Воронежский государственный медицинский университет  
имени Н.Н. Бурденко» Министерства здравоохранения Российской Федерации,  
г. Воронеж, Российская Федерация;

<sup>3</sup> ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет инженерных технологий»,  
г. Воронеж, Российская Федерация

**Резюме.** Несмотря на довольно длительную историю применения и исследования эффектов кетогенной диеты, многие аспекты ее действия на организм до настоящего времени остаются малоизученными. **Цель** — исследование воздействия кетогенной диеты на стабильность и активность генетического аппарата клеток и лейкоцитарную формулу крови. **Материалы и методы.** В качестве объекта исследования были использованы самцы мышей линии C57BL/6 в возрасте 8 недель, которые были разделены на две группы — контрольную и экспериментальную. В течение 14 дней контрольная группа получала стандартную диету, а экспериментальная получала кетогенную диету. Был проведен микроядерный тест эритроцитов, подсчет ядрышек в лимфоцитах и рассчитана лейкоцитарная формула крови крыс. **Результаты.** Установлено, что у животных, получавших кетогенную диету, доля эритроцитов с тельцами Жолли в 18,7 раз выше, чем у мышей контрольной группы, получавших стандартный рацион. Диета не вызывала изменений ядрышковой активности в лимфоцитах периферической крови мышей. Было обнаружено незначительное повышение уровня нейтрофилов у мышей из опытной группы по сравнению с контролем, вероятно, индуцированное изменением биохимического состава крови (кетодиета имитирует состояние после голодания или тяжелой физической нагрузки, которые могут сопровождаться незначительной нейтрофилией). Выявлено существенное повышение доли эритроцитов с микроядрами в периферической крови животных опытной группы. **Заключение.** Таким образом, кетогенная диета не влияла на ядрышковую активность лимфоцитов, не приводила к патологическим изменениям лейкоцитарной формулы крови, но обладала заметным кластогенным эффектом на эритроциты периферической крови мышей. Это может быть обусловлено нарушением созревания клеток в условиях жесткого дефицита основного источника энергии для красных кровяных клеток — глюкозы и невозможностью использования кетоновых тел в качестве энергетического субстрата.

**Ключевые слова:** кетогенная диета, лейкоцитарная формула, микроядра, тельца Жолли, эритроциты, ядрышки

Конфликт интересов отсутствует.

Контактная информация автора, ответственного за переписку:

Калаев Владислав Николаевич

dr\_huixs@mail.ru

Дата поступления: 03.08.2023

Образец цитирования:

Калаева Е.А., Калаев В.Н., Блаженков И.В., Нечаева М.С., Мальцева О.Ю., Новикова И.В. Влияние кетогенной диеты на лейкоцитарную формулу, стабильность и активность генетического мате-

## Введение

Кетогенная диета — это лечебное питание, подразумевающее строгое ограничение углеводов и повышение содержания жиров в рационе относительно суммарного содержания белков и углеводов до 3:1 или 4:1 [1]. Дефицит углеводов в рационе существенно перестраивает метаболизм и вызывает физиологический кетоз [2].

После нескольких дней голодания или резкого ограничения потребления углеводов из жировых отложений мобилизуются свободные жирные кислоты, которые в печени подвергаются митохондриальному окислению с образованием ацетоацетил-КоА и кетоновых тел (КТ) — ацетоацетата, ацетона и гидроксибутирата ( $\beta$ -НВ) [3, 4]. После секреции в кровоток  $\beta$ -НВ становится основным источником энергии для клеток головного мозга и других тканей, где он снова превращается в ацетил-Ко-А и вступает в цикл Кребса [5]. Таким образом, в условиях дефицита глюкозы ЦНС и другие ткани используют кетоны для получения энергии.  $\beta$ -НВ также играет роль в синтезе холестерина, липогенезе *de novo* и в процессах, влияющих на транскрипцию генов и окислительный стресс. [6-8].

Механизм лечебного эффекта кетогенной диеты до конца не ясен. Положительные эффекты этой диеты подтверждены только для фармакорезистентной эпилепсии, преимущественно у детей [9]. Предположительно, подобный рацион может играть терапевтическую роль при ожирении, синдроме поликистозных яичников, злокачественных новообразованиях [6]. При других заболеваниях опыт не столь богат, что, вместе с отсутствием результатов крупномасштабных исследований, не позволяет сформировать выводы о кетодиете [10].

К побочным эффектам кетогенной диеты относят метаболические и гастроинтестинальные нарушения, мочекаменную болезнь, задержку темпов физического развития у детей, дефицит витаминов и минералов, остеопороз, дислипидемию, пруриго, повышение смертности [11]. Выявлено, что эмбрионы мышей, получавшие кетодиету во время гестации, отставали в росте, имели грубые дефекты развития ЦНС и меньшие размеры при рождении [11, 12, 13]. В постнатальном периоде при возобновлении стандартного полноценного питания такие мышата продолжали отставать в развитии, плохо прибавляли вес, а по данным нейровизуализации у них сохранялись пороки развития головного мозга [13].

## Цель исследования

Таким образом, несмотря на довольно длительную историю применения и исследования эффектов кетогенной диеты, многие аспекты ее действия на организм до настоящего времени остаются неизученными. В связи с изложенным выше целью нашей работы было исследование воздействия кетогенной диеты на стабильность и активность генетического аппарата клеток и лейкоцитарную формулу крови.

## Материалы и методы

В качестве объекта исследования были использованы самцы мышей линии C57BL/6 в возрасте 8 недель, полученные из питомника «Столбовая» ФГБУН НЦБМТ ФМБА России. Мыши содержались в стандартных условиях вивария при +25°C, относительной влажности воздуха 40%, 12-часовом режиме смены дня и ночи, свободном доступе к пище и воде. Все процедуры проводились в соответствии с условиями, установленными Этическим комитетом по биологическим исследованиям (Секция использования и заботы о животных, протокол №42-03 от 02.04.2019) и требованиями Директивы 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского Союза о защите животных, используемых в научных целях.

Подопытные животные случайным образом были разделены на две группы — контрольную (10 особей) и экспериментальную (10 особей). В течение 14 дней контрольная группа получала стандартную диету — 11% жиров, 24% белков и 65% углеводов (Диета для содержания мышей и крыс, Altromin Spezialfutter GmbH, Германия); экспериментальная группа получала кетогенную диету — 84% жиров, 11% белков и 5% углеводов (Кетогенная диета, Altromin Spezialfutter GmbH, Германия).

По окончании эксперимента у каждой мыши брали периферическую кровь из хвостовой вены и готовили мазок. Параметры стандартного нанесения мазка: начало мазка на расстоянии 1–1,5 см от узкого края предметного стекла, конец — на расстоянии 2–2,5 см от противоположного края. Препараты фиксировали в 96% этиловом спирте 20 минут, высушивали на воздухе, окрашивали азур-эозином в течение 5 минут, после чего краситель смывали дистиллированной водой [14].

Полученные микропрепараты анализировали на микроскопе Laboval-4 (Carl Zeiss, Jena) с иммерсией при увеличении  $100\times 1,5\times 10$ . Просматривали не менее 3000 эритроцитов на каждом препарате. За микроядра принимали хроматиновые тела округлой или овальной формы с гладким непрерывным краем, размером не более  $1/3$  ядра [15]. Вычисляли частоту встречаемости клеток с микроядрами (%) (рис. 1).



Рис. 1. Эритроциты с микроядрами в периферической крови мыши. Увеличение  $100\times 1,5\times 10$   
Figure 1. Erythrocytes with micronuclei in the peripheral blood of mouse (magnification:  $100\times 1,5\times 10$ )

Для выявления транскрипционно активных ядрышкообразующих районов хромосом в интерфазных ядрах лимфоцитов мазки крови, предварительно окрашенные по Романовскому–Гимзе, докрашивали по методу W. Howell, D. Black [16]. Препараты импрегнировали 50 % раствором азотнокислого серебра в течение 20 минут при комнатной температуре в темноте и в течение 5 минут в термостате при температуре  $+37^{\circ}\text{C}$ . Просматривали не менее 100 лимфоцитов на каждом препарате, вычисляли среднее число ядрышек на клетку (отношение общего числа ядрышек на препарате к числу просмотренных клеток), долю клеток с 1, 2, ..., n ядрышками в ядре.

Для расчета лейкоцитарной формулы крови на препарате анализировали не менее 200 лейкоцитов и вычисляли процентное соотношение их типов [17].

Статистическую обработку результатов исследования проводили с использованием пакетов статистических программ STADIA 7.0 (InCo, Россия). Результаты представлены в формате «среднее $\pm$ стандартное отклонение», также приведены медианы показателей и квартили. Характер распределения большей части исследованных показателей отличался от нормального (по критериям Колмогорова,  $\omega^2$ ,  $\chi^2$ ), поэтому сравнение медиан выборок осуществляли с использованием X-критерия рангов Ван-дер-Вардена [18]. Нулевую гипотезу при применении всех методов статистической обработки отвергали при  $p < 0,05$ .

**Результаты и обсуждение**

При проведении микроядерного анализа в эритроцитах периферической крови мышей были получены следующие результаты (табл. 1).

Таблица 1  
Доля эритроцитов с микроядрами (%) в периферической крови мышей в контрольной и опытной группах  
Table 1

The proportion of erythrocytes with micronuclei (%) in the peripheral blood of mice in the control and experimental groups

Показатель	Контроль (n=10)	Опыт (n=10)
$x \pm s_x$	0,8±0,4	14,9±4,3
Me	0,7	13,7*
Квартили	0,6; 1,0	11,3; 18,5

Примечание: \* – отличия от контроля статистически достоверны (P=0,0002).

Note. \* – the differences are significant compared with the control group (P=0,0002).

Было выявлено значительное повышение количества эритроцитов с микроядрами в опытной группе по сравнению с контролем: в контрольной группе частота встречаемости эритроцитов с тельцами Жолли составила 0,8%, а в опытной — 14,9 %, то есть возросла в 18,7 раз.

Результаты ядрышкового теста представлены в таблице 2.

Таблица 2  
Ядрышковые характеристики лимфоцитов периферической крови мышей в контрольной и опытной группах  
Table 2

Nucleolar characteristics of the peripheral blood lymphocytes of mice in the control and experimental groups

Показатель	Контроль (n=10) $x \pm s_x$ Ме Квартили	Опыт (n=10) $x \pm s_x$ Ме Квартили
Среднее число ядрышек на клетку, шт.	1,7±0,1 1,7 1,7; 1,8	1,7±0,1 1,7 1,6; 1,8
Доля клеток с 1 ядрышком, %	39,9±4,0 39,9 37,7; 43,6	38,3±7,9 39,1 29,8; 44,9
Доля клеток с 2 ядрышками, %	48,3±3,5 48,7 45,6; 51,5	50,3±4,5 50,4 47,4; 53,8
Доля клеток с 3 ядрышками, %	9,7±3,2 9,8 7,1; 11,4	10,0±4,9 8,6 6,3; 13,9
Доля клеток с 4 ядрышками, %	1,9±2,0 1,5 1,0; 1,8	1,7±1,0 1,2 0,6; 2,4
Доля клеток с 5 ядрышками, %	0,1±0,3 0,0 0,0; 0,13	0,1±0,3 0,0 0,0; 0,2
Доля клеток с 6 ядрышками, %	0,06±0,2 0 0; 0	не обнаружено

Различий в активности ЯОР лимфоцитов между группами мышей, получавшими стандартную и кетогенную диеты, обнаружено не было.

Результаты расчета лейкоцитарных формул у контрольной и опытной групп мышей представлены в таблице 3.

Лейкоцитарная формула крови мышей, получавших стандартную диету (контрольная группа), соответствовала норме. Полученные нами результаты согласуются с данными других авторов [19]. 14-дневная кетодиета индуцировала повышение количества нейтрофилов в периферической крови мышей из опытной группы. Остальные показатели лейкограммы животных указанной группы не отличались от таковых в контроле.

Микроядра представляют собой ацентрические хромосомные фрагменты и отдельные целые хромосомы, «потерянные» во время митоза [15]. Тельца Жолли описаны как остатки ядер эритроцитов, циркулирующих в органах с патологическими изменениями [20]. Считается, что микроядра отражают начальные стадии развития геномной нестабильности и злокачественной трансформации клеток. Особи, предрасположенные к развитию злокачественных новообразований, характеризуются более быстрым и резким накоплением клеток с микроядрами, чем остальные индивиды

[21]. Кетогенная диета обладает выраженным кластогенным действием на эритроциты, хотя кетоновые тела, по данным литературы, не являются мутагенами и генотоксикантами [22, 23]. Возможно, появление большого количества эритроцитов с тельцами Жолли связано не непосредственно с воздействием продуктов метаболизма жирных кислот, а с дефицитом энергетических субстратов для эритроцитов, что препятствует нормальному созреванию клеток, так как метаболизм в эритроцитах ограничен анаэробным гликолизом и гексозомонофосфатным путем.

Таблица 3

Лейкограммы периферической крови мышей в контрольной и опытной группах  
Table 3  
Leukograms of peripheral blood of mice in the control and experimental groups

	Контроль (n=10) x±s <sub>x</sub> Me Квартили	Опыт (n=10) x±s <sub>x</sub> Me Квартили
Лимфоциты	61,7±4,8 60,0 58; 66	59,1±5,4 57,5 54,6; 65,5
Нейтрофилы	24,8±3,6 26,3 21,6; 27,5	28,6±5,1 29,0* 23,1; 32,9
Моноциты	12,1±2,8 12,8 9,8; 14,1	11,9±2,1 11,8 10,1; 14,1
Эозинофилы	1,0±1,3 0,5 0,0; 1,5	0,3±0,3 0,3 0,0; 0,5
Базофилы	0,5±0,5 0,5 0,0; 1,0	0,2±0,2 0,0 0,0; 0,5

Примечание. \* — отличия от контроля статистически достоверны (P=0,03).

Note. \* — the differences are significant compared with the control group (P=0,03).

Ядрышки обнаруживаются в ядрах практически всех клеток, за небольшим исключением (так, ядрышки отсутствуют в клетках зародыша на ранних этапах эмбриогенеза и в клетках, которые проходят специализацию, как, например, некоторые клетки крови). В клеточном цикле ядрышки присутствуют в течение всей интерфазы; в период митоза в профазе во время компактизации хромосом они постепенно исчезают. В метафазе и анафазе ядрышки отсутствуют. Анализ ядрышковой активности позволяет оценить уровень синтеза в клетках 18S и 28S субъединиц рибосомальной РНК, принимающих участие в биосинтезе белка [24]. Полученные нами результаты позволяют сделать вывод о том, что кетогенная диета не нарушала процессы биосинтеза белка в лимфоцитарных клетках.

Лейкограмма дает представление о балансе между выработкой лейкоцитов в костном мозге, их распределением в сосудистой системе и эмиграцией из кровеносных сосудов в ткани. Повышение уровня нейтрофилов в периферической крови может указывать на развитие воспалительной реакции и активацию фагоцитарного звена иммунной защиты. Уровень нейтрофилов также может быть повышен на фоне стрессов, интенсивной физической нагрузки, переохлаждения или перегрева [25]. Поскольку содержание кетоновых тел в крови после интенсивной физической нагрузки увеличивается, биохимически кетодиета может имитировать это состояние и вызывать соответствующую реакцию со стороны иммунной системы.

### Заключение

Таким образом, кетогенная диета не влияла на ядрышковую активность лимфоцитов, не приводила к патологическим изменениям лейкоцитарной формулы крови, но обладала заметным кластогенным эффектом на эритроциты периферической крови мышей. Последний может быть связан с

дефицитом глюкозы, которая является источником энергии для красных клеток крови и из-за особенностей их метаболизма не может быть заменена кетоновыми телами. Дефицит энергии привел к нарушению созревания эритроцитов в красном костном мозге и выходу дефектных клеток в кровотоки. Такие клетки хуже справляются с газотранспортной функцией, что может индуцировать системные эффекты, связанные с нарушением снабжения тканей и органов кислородом. Также нарушение процессов созревания может приводить к трансформации клеток-предшественниц эритроцитов и провоцировать онкогематологические заболевания.

Поэтому кетогенная диета должна применяться строго по показаниям, под наблюдением медицинских специалистов и при постоянном контроле биохимических показателей в тех случаях, когда ожидаемая польза превышает возможные риски и вред от побочных эффектов.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Лихачев С.А., Зайцев И.И., Куликова С.Л., Белая С.А., Назарова О.П., Попова М.В. Применение кетогенной диеты для лечения фармакорезистентной эпилепсии у детей в Республике Беларусь: первый опыт. *Неврология и нейрохирургия. Восточная Европа*. 2017; 3: 399–409.
2. Kuchkuntla A.R., Shah M., Velapati S., Gershuni V.M., Rajjo T., Nanda S., et al. Ketogenic Diet: an Endocrinologist Perspective. *Curr Nutr Rep*. 2019; 8: 402-410. doi: <https://doi.org/10.1007/s13668-019-00297-x>.
3. Jensen N.J., Wodschow H.Z., Nilsson M., Rungby J. Effects of Ketone Bodies on Brain Metabolism and Function in Neurodegenerative Diseases. *Int J Mol Sci*. 2020; 20;21(22): 8767. doi: <https://doi.org/10.3390/ijms21228767>.
4. Merlotti D., Cosso R., Eller-Vainicher C., Vescini F., Chiodini I., Gennari L., et al. Metabolism and Ketogenic Diets: What about the Skeletal Health? A Narrative Review and a Prospective Vision for Planning Clinical Trials on this Issue. *Int J Mol Sci*. 2021; 22 (1): 435. doi: <https://doi.org/10.3390/ijms22010435>.
5. Valente-Silva P., Lemos C., Köfalvi A., Cunha R.A., Jones J.G. Ketone bodies effectively compete with glucose for neuronal acetyl-CoA generation in rat hippocampal slices. *NMR Biomed*. 2015; 28: 1111-1116. doi: <https://doi.org/10.1002/nbm.3355>.
6. Иванникова Е.В., Алташина М.В., Трошина Е.А. Кетогенная диета: история возникновения, механизм действия, показания. *Проблемы эндокринологии*. 2021; 68 (1): 49-72. doi:10.14341/probl12724.
7. McCue M.D. Starvation physiology: Reviewing the different strategies animals use to survive a common challenge. *Comp. Biochem. Physiol*. 2010; 156: 1-18. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2010.01.002>.
8. Schwingshackl L., Chaimani A., Hoffmann G., Schwedhelm C., Boeing H. A network meta-analysis on the comparative efficacy of different dietary approaches on glycaemic control in patients with type 2 diabetes mellitus. *Eur J Epidemiol*. 2018; 33: 157-170. doi: <https://doi.org/10.1007/s10654-017-0352-x>.
9. Ненартович И.А. Кетогенная диета: биохимическая основа и «техника безопасности». *Лечебное дело: научно-практический терапевтический журнал*. 2020; 4 (74): 60-66.
10. Ненартович И.А. Реалии и перспективы кетогенной диеты в клинической практике. *Лечебное дело: научно-практический терапевтический журнал*. 2021; 1 (76): 66-72.
11. Каминарская Ю.А. Диетотерапия при гестационном сахарном диабете: что говорят научные данные? *Клиническое питание и метаболизм*. 2021; 2 (4): 202–214. doi: <https://doi.org/10.17816/clinutr105653>.
12. Sussman D, Ellegood J, Henkelman M. A gestational ketogenic diet alters maternal metabolic status as well as offspring physiological growth and brain structure in the neonatal mouse. *BMC Pregnancy Childbirth*. 2013; 13: 198. doi: 10.1186/1471-2393-13-198.
13. Sussman D., van Eede M., Wong M.D., Adamson S.L., Henkelman M. Effects of a ketogenic diet during pregnancy on embryonic growth in the mouse. *BMC Pregnancy Childbirth*. 2013; 13: 109. doi: 10.1186/1471-2393-13-109.
14. Ильинских Н.Н. Микроядерный анализ в оценке цитогенетической нестабильности / Н.Н. Ильинских, А.С. Ксенц, Е.Н. Ильинских и [др.] Томск. Изд-во ТГПУ 2011. 312 с.
15. Калаев В.Н., Нечаева М.С., Калаева Е.А. Микроядерный тест буккального эпителия ротовой полости человека: монография. Воронежский государственный университет. Воронеж: Издатель-

ский дом ВГУ; 2016. 136.

16. Howell W. Black D. Controlled silver staining of nucleus organizer regions with a protective colloidal developer: in a one step method. *Experientia*. 1980; 36: 1014–1015.

17. Thöml H., Diem H., Haferlach T. *Color Atlas of Hematology. Practical Microscopic and Clinical Diagnosis: 2nd revised edition*. Stuttgart. New York: Thieme; 2004. 198.

18. Калаева Е.А., Артюхов В.Г., Калаев В.Н. Теоретические основы и практическое применение математической статистики в биологических исследованиях и образовании: учебник. Воронежский государственный университет. Воронеж: Издательский дом ВГУ; 2016. 284.

19. Кравченко И.Н., Хохлова О.Н., Кравченко Н.Н., Пужалин А.Н., Дьяченко И.А., Мурашев А.Н. Гематологические показатели свободных от патогенной флоры крыс CD (Sprague Dawley) и мышей CD1 в норме. *Биомедицина*. 2008; 2: 20–30.

20. Sears D.A., Udden M.M. Howell–Jolly bodies: a brief historical review. *Am. J. Med. Sci.* 2011; 343: 407–409.

21. Luzhna L., Kathiria P., Kovalchuk O. Micronuclei in genotoxicity assessment: from genetics to epigenetics and beyond. *Front. Genet.* 2013; 4: 131–148.

22. Белугин С.Н. *Экологическая медицина: терминологический словарь* Минск.: БГМУ; 2015. 231.

23. Нужный В.П., Савчук С.А. Токсичность алкогольных напитков и ацетон. *Токсикологический вестник*. 2005; 5: 22–25.

24. Кленовицкий П.М., Иолчиев Б.С., Жилинский М.А., Багиров В.А., Онкорова Н.Т., Гришин В.Н. Анализ ядрышек в интактных лимфоцитах периферической крови разных видов млекопитающих. *Достижения науки и техники АПК*. 2015; 12: 92–94

25. Амиров Д.Р., Тамимдаров Б.Ф., Шагеева А.Р. *Клиническая гематология животных: Учебное пособие*. Казань.: Центр информационных технологий КГАВМ; 2020. 134.

#### Авторы

Калаева Елена Анатольевна

ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет»

Кандидат биологических наук, доцент кафедры биофизики и биотехнологии

kalaevae@gmail.com

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-3668-0816>

Воронеж, Российская Федерация

Калаев Владислав Николаевич

ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет»

Доктор биологических наук, профессор кафедры генетики, цитологии и биоинженерии

dr\_huixs@mail.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-4247-4509>

Воронеж, Российская Федерация

Блаженов Игорь Владимирович

ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет»

Студент 3 курса медико-биологического факультета кафедры генетики, цитологии и биоинженерии

blazhenov02@mail.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0007-8217-3413>

Воронеж, Российская Федерация

Нечаева Марина Сергеевна

ФГБОУ ВО «Воронежский государственный медицинский университет имени Н.Н. Бурденко»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации,

Кандидат биологических наук, доцент кафедры нормальной физиологии

MAR-Y-ANA@yandex.ru,

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-4880-6751>

Воронеж, Российская Федерация

Мальцева Оксана Юрьевна

ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет инженерных технологий»

Кандидат технических наук, доцент кафедры биохимии и биотехнологии

[ksenia2002@list.ru](mailto:ksenia2002@list.ru)

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-3815-123X>

Воронеж, Российская Федерация

Новикова Инна Владимировна

ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет инженерных технологий»

Доктор технических наук, профессор кафедры технологии бродильных и сахаристых производств

[noviv@list.ru](mailto:noviv@list.ru)

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-2360-5892>

Воронеж, Российская Федерация

*V.N. Kalaev<sup>1</sup>, E.A. Kalaeva<sup>1</sup>, I.V. Blazhenov<sup>1</sup>,  
M.S. Nechaeva<sup>2</sup>, O.Yu. Maltseva<sup>3</sup>, I.V. Novikova<sup>3</sup>*

## THE INFLUENCE OF THE KETONE DIET ON THE LEUKOCYTE FORMULA, STABILITY AND ACTIVITY OF THE GENETIC MATERIAL OF MICE

<sup>1</sup> Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education  
«Voronezh State University», Voronezh, Russian Federation;

<sup>2</sup> Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education  
«N.N. Burdenko Voronezh State Medical University», Voronezh, Russian Federation;

<sup>3</sup> Federal State Budget Educational Institution of Higher Education  
«Voronezh State University of Engineering Technologies», Voronezh, Russian Federation

**Abstract.** The effect of a 14-day ketogenic diet on the level of erythrocytes with micronuclei, the activity of nucleolar-forming regions in lymphocytes, and the leukocyte blood count of 8-week-old male C57BL/6 mice was studied. It was found that in animals receiving a ketone diet, the proportion of erythrocytes with Jolly bodies was 18.7 times higher than in mice in the control group receiving a standard diet. The diet did not cause changes in nucleolar activity in lymphocytic cells of the peripheral blood of experimental animals. A slight increase in the level of neutrophils in mice from the experimental group compared with the control was found, probably induced by a change in the biochemical composition of the blood (ketodiet mimics the state after fasting or heavy exercise, which may be accompanied by slight neutrophilia). A significant increase in the proportion of erythrocytes with micronuclei in the peripheral blood of animals of the experimental group may be due to a violation of cell maturation under conditions of severe deficiency of the main energy source for red blood cells - glucose and the inability to use ketone bodies as an energy substrate.

**Keywords:** ketogenic diet, leukocyte formula, micronuclei, Jolly bodies, erythrocytes, nucleoli

There is no conflict of interest.

Contact details of the corresponding author:

Vladislav N. Kalaev

[dr\\_huixs@mail.ru](mailto:dr_huixs@mail.ru)

Received 03.08.2023



For citation:

Kalaev V.N., Kalaeva E.A., Blazhenov I.V., Nechaeva M.S., Maltseva O.Yu., Novikova I.V. The influence of the ketone diet on the leukocyte formula, stability and activity of the genetic material of mice. [Online] Vestn. Ural. Med. Akad. Nauki. = Journal of Ural Medical Academic Science. 2023, Vol. 20, no. 3, pp. 31–41. DOI: 10.22138/2500-0918-2023-20-3-31-41 (In Russ)

## REFERENCES

1. Likhachev S.A., Zaytsev I.I., Kulikova S.L., Belaya S.A., Nazarova O.P., Popova M.V. *Primenenie ketogennoy diety dlya lecheniya farmakorezistentnoy epilepsii u detey v Respublike Belarus'*: pervyy opyt. [The use of the ketogenic diet for the treatment of drug-resistant epilepsy in children in the Republic of Belarus: the first experience]. *Nevrologiya i neyrokhirurgiya. Vostochnaya Evropa*. 2017; 3: 399–409 (in Russian).
2. Kuchkuntla A.R., Shah M., Velapati S., Gershuni V.M., Rajjo T., Nanda S., Hurt R.T., Mundi M.S. *Ketogenic Diet: an Endocrinologist Perspective*. *Curr Nutr Rep*. 2019; 8: 402-410. doi: <https://doi.org/10.1007/s13668-019-00297-x>.
3. Jensen N.J., Wodschow H.Z., Nilsson M., Rungby J. *Effects of Ketone Bodies on Brain Metabolism and Function in Neurodegenerative Diseases*. *Int J Mol Sci*. 2020; 20;21(22): 8767. doi: <https://doi.org/10.3390/ijms21228767>.
4. Merlotti D., Cosso R., Eller-Vainicher C., Vescini F., Chiodini I., Gennari L., Falchetti A. *Energy Metabolism and Ketogenic Diets: What about the Skeletal Health? A Narrative Review and a Prospective Vision for Planning Clinical Trials on this Issue*. *Int J Mol Sci*. 2021; 22 (1): 435. doi: <https://doi.org/10.3390/ijms22010435>.
5. Valente-Silva P., Lemos C., Köfalvi A., Cunha R.A., Jones J.G. *Ketone bodies effectively compete with glucose for neuronal acetyl-CoA generation in rat hippocampal slices*. *NMR Biomed*. 2015; 28: 1111-1116. doi: <https://doi.org/10.1002/nbm.3355>.
6. Ivannikova E.V., Altashina M.V., Troshina E.A. *Ketogennaya dieta: istoriya vozniknoveniya, mekhanizm deystviya, pokazaniya*. [The ketogenic diet: history, mechanism of action, indications and contraindications] *Problemy endokrinologii*. 2021; 68 (1): 49-72. doi:10.14341/probl12724 (in Russian).
7. McCue M.D. *Starvation physiology: Reviewing the different strategies animals use to survive a common challenge*. *Comp. Biochem. Physiol*. 2010; 156: 1-18. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2010.01.002>.
8. Schwingshackl L., Chaimani A., Hoffmann G., Schwedhelm C., Boeing H. *A network meta-analysis on the comparative efficacy of different dietary approaches on glycaemic control in patients with type 2 diabetes mellitus*. *Eur J Epidemiol*. 2018; 33: 157-170. doi: <https://doi.org/10.1007/s10654-017-0352-x>.
9. Nenartovich I.A. *Ketogennaya dieta: biokhimicheskaya osnova i «tekhnika bezopasnosti»*. [Ketogenic diet: biochemical background and «safety regulations»] *Lechebnoe delo: nauchno-prakticheskiy terapevticheskiy zhurnal*. 2020; 4 (74): 60-66 (in Russian).
10. Nenartovich I.A. *Realii i perspektivy ketogennoy diety v klinicheskoy praktike*. [Ketogenic diet realities and prospects in clinical practice] *Lechebnoe delo: nauchno-prakticheskiy terapevticheskiy zhurnal*. 2021; 1 (76): 66-72 (in Russian).
11. Kaminarskaya Yu.A. *Dietetapiya pri gestatsionnom sakharnom diabete: chto govoryat nauchnye dannye?* [Nutritional therapy for gestational diabetes mellitus: what does the evidence say?]. *Klinicheskoe pitanie i metabolizm*. 2021; 2 (4): 202–214. doi: <https://doi.org/10.17816/clinutr105653> (in Russian).
12. Sussman D, Ellegood J, Henkelman M. *A gestational ketogenic diet alters maternal metabolic status as well as offspring physiological growth and brain structure in the neonatal mouse*. *BMC Pregnancy Childbirth*. 2013; 13: 198. doi: 10.1186/1471-2393-13-198.
13. Sussman D., van Eede M., Wong M.D., Adamson S.L., Henkelman M. *Effects of a ketogenic diet during pregnancy on embryonic growth in the mouse*. *BMC Pregnancy Childbirth*. 2013; 13: 109. doi: 10.1186/1471-2393-13-109.
14. Ilyinsky N.N. *Mikroyadernyy analiz v otsenke tsitogeneticheskoy nestabil'nosti* [Micronuclear analysis in the assessment of cytogenetic instability] / N.N. Ilyinsky, A.S. Xenz, E.N. Ilyinsky [et al.] Tomsk. Publishing House of TSPU, 2011 . 312 p.
15. Kalaev V.N. *Mikroyadernyy test bukkal'nogo epiteliya rotovoy polosti cheloveka: monografiya*. [Micronucleus test of buccal epithelium of the human oral cavity: monograph] Voronezhskiy

gosudarstvennyy universitet. Voronezh: Izdatel'skiy dom VGU; 2016. 136 (in Russian).

16. Howell W. Black D. Controlled silver staining of nucleus organizer regions with a protective colloidal developer: in a one step method. *Experientia*. 1980; 36: 1014–1015.

17. Thelml H., Diem H., Haferlach T. *Color Atlas of Hematology. Practical Microscopic and Clinical Diagnosis: 2nd revised edition.* Stuttgart. New York: Thieme; 2004. 198.

18. Kalaeva E.A., Artyukhov V.G., Kalaev V.N. *Teoreticheskie osnovy i prakticheskoe primeneniye matematicheskoy statistiki v biologicheskikh issledovaniyakh i obrazovanii: uchebnyy.* [Theoretical Foundations and Practical Application of Mathematical Statistics in Biological Research and Education: Textbook] Voronezhskiy gosudarstvennyy universitet. Voronezh: Izdatel'skiy dom VGU; 2016. 284 (in Russian).

19. Kravchenko I.N., Khokhlova O.N., Kravchenko N.N., Puzhalin A.N., D'yachenko I.A., Murashev A.N. Gematologicheskie pokazateli svobodnykh ot patogennoy flory kryss CD (Sprague Dawley) i myshey CD1 v norme. [Hematological characters of normal specific pathogen-free cd (Sprague-dawley) rats and cd-1 mice] *Biomeditsina*. 2008; 2: 20–30 (in Russian).

20. Sears D.A., Udden M.M. Howell–Jolly bodies: a brief historical review. *Am. J. Med. Sci.* 2011; 343: 407–409.

21. Luzhna L., Kathiria P., Kovalchuk O. Micronuclei in genotoxicity assessment: from genetics to epigenetics and beyond. *Front. Genet.* 2013; 4: 131–148.

22. Belugin S.N. *Ekologicheskaya meditsina: terminologicheskiy slovar' [Environmental medicine: terminological dictionary]* Minsk.: BGMU; 2015. 231 (in Russian).

23. Nuzhnyy V.P., Savchuk S.A. Toksichnost' alkohol'nykh napitkov i atseton. [Toxicity of alcoholic beverages and acetone] *Toksikologicheskiy vestnik*. 2005; 5: 22–25 (in Russian).

24. Klenovitskiy P.M., Iolchiev B.S., Zhilinskiy M.A., Bagirov V.A., Onkorova N.T., Grishin V.N. Analiz yadryshek v intaktnykh limfotsitakh perifericheskoy krovi raznykh vidov mlekopitayushchikh. [Analysis of nucleoli in intact peripheral blood lymphocytes in different species of mammals] *Dostizheniya nauki i tekhniki APK*. 2015; 12: 92-94 (in Russian).

25. Amirov D.R., Tamimdarov B.F., Shageeva A.R. *Klinicheskaya gematologiya zhivotnykh: Uchebnoe posobie.* [Clinical Animal Hematology: Study Guide] Kazan': Tsentr informatsionnykh tekhnologiy KGAVM; 2020. 134 (in Russian).

#### Authors

Elena A. Kalaeva

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «Voronezh State University»

Candidate of Sciences (Biology), Associate Professor, Chair of biophysics and biotechnology

kalaevae@gmail.com

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-3668-0816>

Voronezh, Russian Federation

Vladislav N. Kalaev

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «Voronezh State University»

Doctor of Sciences (Biology), Professor, Chair of genetics, cytology and bioengineering

dr\_huixs@mail.ru,

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-4247-4509>

Voronezh, Russian Federation

Igor V. Blazhenov

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «Voronezh State University»

Student

blazhenov02@mail.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0007-8217-3413>

Voronezh, Russian Federation

Marina S. Nechaeva

---

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «N.N. Burdenko Voronezh State Medical University» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation  
Candidate of Sciences (Biology), Associate Professor, Chair of normal physiology  
MAR-Y-ANA@yandex.ru,  
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-4880-6751>  
Voronezh, Russian Federation

Oksana Yu. Maltseva  
Federal State Budget Educational Institution of Higher Education «Voronezh State University of Engineering Technologies»  
Candidate of Sciences (Technics) Associate Professor, Chair of biochemistry and biotechnology  
ksenia2002@list.ru  
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-3815-123X>  
Voronezh, Russian Federation

Inna V. Novikova  
Federal State Budget Educational Institution of Higher Education «Voronezh State University of Engineering Technologies»  
Doctor of Sciences (Technics), Professor, Chair of fermentation and sugar production technologies  
noviv@list.ru  
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-2360-5892>  
Voronezh, Russian Federation