

УДК 615.37:612.428

**ВЛИЯНИЕ ВЫСОКОЖИРОВОЙ ДИЕТЫ
И ФИЗИЧЕСКИХ УПРАЖНЕНИЙ НА СОДЕРЖАНИЕ
ТРИАЦИЛГЛИЦЕРОЛОВ В ПЕЧЕНИ И
СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦАХ КРЫС**

И.Ю. Якимович¹, Д.А. Бородин¹, И.К. Подрезов¹,
В.В. Иванов¹, В.Н. Васильев², М.Ю. Котловский³,
Л.В. Борисова¹, В.О. Колупаева¹

¹ Сибирский государственный медицинский университет
(СибГМУ) г. Томск,

² Томский политехнический университет,

³ Красноярский государственный медицинский университет
им. профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого

E-mail: iness2501@yandex.ru, bda1911@yandex.ru,
ksaru@yandex.ru, ivanovvv1953@gmail.com,
vas11@yandex.ru, Misha11443@rambler.ru,
LuciBor@yandex.ru, vikakolupaeva@mail.ru

Якимович Инесса Юрьевна,
канд. мед. наук, доцент, доцент
каф. физической культуры и здоро-
вья СибГМУ, г. Томск.

E-mail: iness2501@yandex.ru

Область научных интересов: эндок-
ринология, патофизиология, биохимия,
восстановительная медицина.

Бородин Дмитрий Александрович,
ст. преподаватель каф. физиче-
ской культуры и здоровья
СибГМУ, г. Томск.

E-mail: bda1911@yandex.ru

Область научных интересов: эндокри-
нология, патофизиология, биохимия,
восстановительная медицина.

Подрезов Илья Константинович,
ст. преподаватель каф. физиче-
ской культуры и здоровья
СибГМУ, г. Томск.

E-mail: ksaru@yandex.ru

Область научных интересов:
физиология двигательной активнос-
ти, биохимия.

Иванов Владимир Владимирович,
канд. биол. наук, доцент, доцент
каф. биохимии и молекулярной
биологии СибГМУ, г. Томск.

E-mail: ivanovvv1953@gmail.com

Область научных интересов:
биохимия, патофизиология.

Васильев Владимир Николаевич,
д-р биол. наук, профессор, проф.
каф. физического воспитания
ИСГТ ТПУ.

E-mail: vas11@yandex.ru

Область научных интересов:
двигательная активность, стресс,
физиологические основы здоровья.

Котловский Михаил Юрьевич,
канд. мед. наук, зам. заведующего
по науке Центральной научно-
исследовательской лаборатории
Красноярского государственного
медицинского университета им.
проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого.

E-mail: Misha11443@rambler.ru

Область научных интересов: кардио-
логия, биохимия, фармакология.

Борисова Людмила Викторовна,
студентка медико-биологического
факультета СибГМУ, г. Томск.

E-mail: LuciBor@yandex.ru

Область научных интересов: морфо-
логия, патофизиология, биохимия.

Колупаева Виктория Олеговна,
студентка медико-биологического
факультета СибГМУ, г. Томск.

E-mail: vikakolupaeva@mail.ru

Область научных интересов: мор-
фология, биохимия.

По-прежнему актуальными остаются вопросы взаимоотношения между мобилизацией и утилизацией внутримышечных и жировых запасов триацилглицеролов и их метаболитов. Цель настоящего исследования – выявить различия в содержании триацилглицеролов в печени и мышечной ткани крыс в зависимости от типа кормления и режима физических нагрузок. В рамках исследования 48 самцов крыс Wistar были разделены на две группы – 24 животных получали стандартный корм, другие 24 содержались на высокожировой диете. Спустя 8 недель начались физические тренировки в виде плавания с отягощением, которые длились ещё 6 недель. Каждая из групп была разделена ещё на три (по 8 крыс в каждой): нетренированные животные, анаэробная тренировка и аэробная тренировка. Отягощение подбирали, используя метод максимального стабильного содержания лактата (MLSS). В конце эксперимента определили содержание триацилглицеролов в печени и скелетной мышце (*m. soleus*), используя ферментативные методы. По результатам эксперимента содержание ТАГ у тучных нетренированных крыс было больше на 70 % в мышцах и на 71 % в печени по сравнению с группой нетренированных животных со стандартным питанием. У тучных крыс в результате анаэробных и аэробных тренировок содержание ТАГ в мышцах было ниже на 41 и 23 %, в печени – ниже на 42 и 21 % соответственно по сравнению с группой нетренированных тучных животных. У крыс, получавших стандартный корм, в результате анаэробных и аэробных тренировок содержание ТАГ в мышцах крыс было выше на 52 и на 46 %, в печени – выше на 57 и 37 % соответственно по сравнению с группой нетренированных животных. Сделан вывод, что высокожировая диета приводит к накоплению ТАГ в печени и скелетных мышцах крыс, физические тренировки у тучных крыс – к уменьшению содержания ТАГ. Однако тренировки крыс, получавших стандартный корм, приводили к накоплению ТАГ, что, видимо, является адаптивной реакцией на повышенный расход энергии.

Ключевые слова: Физические нагрузки, ожирение, триацилглицеролы, печень, скелетные мышцы.

Введение

Жировая ткань долгое время рассматривалась только как энергетический запас в виде депо триацилглицеролов. Работы последних лет показали участие жировой ткани в координации различных биологических функций, включая обеспечение энергетических процессов, нейроэндокринную и иммунную функции. Выделяют два основных депо жировой ткани: висцеральное и подкожное, имеющие различия в спектре секретируемых биологически активных соединений, распределение рецепторного аппарата, прогностического значения развития патологических процессов [1, 6].

В настоящее время в литературе накоплен значительный материал, в котором представлено влияние увеличения висцеральной жировой ткани в патогенезе развития ее воспаления и системных метаболических нарушений, ведущих к липотоксичности эктопических органов и инсулинорезистентности [1, 7, 8].

Профилактика заболеваний, ассоциированных с избыточной массой тела, сводится в первую очередь к профилактике и лечению ожирения. На сегодняшний день поиски комплексной терапии ожирения продолжаются, и на первом месте – диетотерапия и рациональная двигательная активность.

Во многих исследованиях подчеркивается и демонстрируется положительное влияние физической нагрузки на течение ожирения, сахарного диабета и формирование инсулинорезистентности [2–5]. Однако механизмы влияния систематических физических тренировок аэробного и анаэробного характера на распределение и метаболические процессы в разных видах жировой ткани, взаимоотношения между мобилизацией и утилизацией внутримышечных и жировых запасов триацилглицеролов и их метаболитов остаются в процессе исследования.

Цель данного исследования – на модели животных с ожирением, индуцированным высокожировой диетой, изучить влияние высокожировой диеты и физических тренировок аэробного и анаэробного характера на содержание триацилглицеролов в печени и мышечной ткани.

Материалы и методы

Исследования проводили на 48 белых крысах самцах Wistar. Содержание и все манипуляции, которым подвергались животные во время карантина и исследования, соответствовали правилам лабораторной практики, утвержденным приказом министра здравоохранения и социального развития от 23 августа 2010 г. N 708н «Об утверждении правил лабораторной практики», а также с соблюдением конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей, принятой Европейским союзом в 1986 году, и директивы 86/609 ЕЭС, основанной на тексте соглашения "Dr. RobertHubrecht, Current EU Legislation Controlling Animal Experiments".

Животные были разделены на шесть групп по восемь в каждой: 1 – животные, находящиеся на стандартной диете без физических нагрузок; 2 – животные, находящиеся на высокожировой диете без физических нагрузок; 3 и 5 – физические нагрузки в виде плавания в аэробном режиме; 4 и 6 – физические нагрузки в виде плавания в анаэробном режиме. Животные 1, 3 и 4-й групп принимали стандартную пищу «ПроКорм» для лабораторных крыс фирмы ЗАО «БиоПро» (г. Новосибирск) и воду *ad libitum*. Животные 2, 5 и 6-й групп в течение 12 недель находились на высокожировой диете (жир – 29,6 %, белок – 14,8 %, углеводы – 55,6 %) и принимали воду *ad libitum*.

Адаптация к водной среде проходила в течение 15 дней в цилиндрической емкости с гладкой поверхностью. Диаметр емкости 60 см, глубина – 120 см, температура воды 31 ± 1 °C. Цель адаптационного периода заключалась в том, чтобы уменьшить стрессовые реакции животных, которые могли возникнуть без физических тренировок. Аэробный характер физической нагрузки был определен методом максимального стабильного содержания лактата (Maximal Lactate Stable State) в сыворотке крови крыс [11, 12]. Плавание с отягощением, равным 4 % от массы тела крысы, приводило к повышению уровня лактата в сыворотке крови крыс с последующей его стабилизацией, что свидетельствовало о преобладании процессов аэробного энергообеспечения. Данный режим тренировок определен как «аэробная нагрузка». Плавание с отягощением 8 % от массы тела крысы приводило к нарастающему накоплению лактата в сыворотке крови крыс, что указывало на преобладание процессов анаэробного гликолиза; данный режим тренировок определен как «анаэробная нагрузка».

В 3-й и 5-й группах проводилась аэробная тренировка через день в течение 1 часа с отягощением 4 % от массы тела. В 4-й и 6-й группах проводилась анаэробная тренировка через день в течение 80 секунд с 8%-м отягощением от массы тела в три подхода с 5-минутными периодами отдыха между подходами. Продолжительность занятий составила 6 недель.

Спустя 6 недель тренировок через 24 часа после последнего занятия животных выводили из эксперимента CO_2 -асфиксией.

Для определения содержания триацилглицеролов (ТАГ) в скелетных мышцах (*m. soleus*) из навески мышц (250 мг) и печени из навески (500 мг) экстрагировали липиды по методу J. Folch (1957) смесью хлороформ-метанол (2:1). Перед проведением анализа к хлороформной фазе был добавлен 20%-й раствор детергента Thesit® (Sigma Aldrich) в хлороформе [9, 10]. Хлороформ был удален потоком азота, и эмульгированные липиды были растворены в дистиллированной воде. Определение содержания ТАГ в экстрагированных липидах проводили ферментативным методом с помощью наборов фирмы Chronolab. Измерения оптической плотности проводили на спектрофотометре СФ-2000 (Россия). Содержание триглицеролов выражали в мг на г ткани.

Полученные результаты выражены в виде медианы (Me), верхнего и нижнего квартилей (Q_1 – Q_3). Статистическую обработку данных проводили с использованием программного пакета SPSS 17.0. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Высокожировая диета приводила к существенному увеличению содержания триацилглицеролов в мышцах и печени. Их содержание в скелетных мышцах повышалось на 70 % ($p < 0,01$) и на 71 % в печени по сравнению с группой со стандартным питанием. В работах [15] было показано, что накопление ТАГ в скелетных мышцах при ожирении идет путем повышения не только их синтеза, но и увеличения количества транспортеров жирных кислот. Физические нагрузки в группах животных с высокожировой диетой приводили к существенному снижению содержания триацилглицеролов в скелетных мышцах. При этом анаэробные нагрузки вызывали наиболее выраженное снижение уровня ТАГ в скелетных мышцах (на 41 %, $p < 0,01$), аэробные нагрузки – на 23 % ($p < 0,05$) по сравнению с группой нетренированных животных, находящихся на высокожировой диете. В печени отмечено снижение уровня ТАГ при анаэробных физических нагрузках на 42 % ($p < 0,01$) и физических нагрузках аэробного характера на 21 % ($p < 0,05$), по сравнению с нетренированной группой, находящейся на высокожировой диете (табл. 1).

Таблица 1. Влияние высокожировой диеты и физических нагрузок на содержание триацилглицеролов (ТАГ) в печени и скелетных мышцах крыс (n – число животных в группе; p – степень статистической значимости)

Экспериментальные группы	Содержание ТАГ, мг/г печени			Содержание ТАГ, мг/г мышц		
	Me (Q_1 – Q_3)	изменения в %	P	Me (Q_1 – Q_3)	изменения в %	P
1. Стандартная диета без нагрузок ($n = 8$)	2,75 (2,23–2,97)			15,89 (14,13–18,54)		
2. Высокожировая диета без нагрузок ($n = 8$)	4,71 (4,05–5,58)	↑ 71 (2–1)	$p_{2-1} < 0,01$	27,16 (25,4–34,2)	↑ 70 (2–1)	$p_{2-1} < 0,01$
3. Стандартная диета, аэробные нагрузки ($n = 8$)	2,92 (2,22–3,69)	↑ 6 (3–1)	$p_{3-1} > 0,05$	23,27 (19,22–25,2)	↑ 46 (3–1)	$p_{3-1} < 0,01$
4. Стандартная диета, анаэробные нагрузки ($n = 8$)	3,92 (3,57–4,45)	↑ 42 (4–1)	$p_{4-1} < 0,05$	24,26 (19,62–28,67)	↑ 52 (4–1)	$p_{4-1} < 0,05$
5. Высокожировая диета, аэробные нагрузки ($n = 8$)	3,71 (3,19–4,06)	↓ 21 (5–2)	$p_{5-2} < 0,05$	20,94 (19,79–22,38)	↓ 23 (5–2)	$p_{5-2} < 0,05$
6. Высокожировая диета, анаэробные нагрузки ($n = 8$)	2,72 (2,46–3,27)	↓ 42 (6–2)	$p_{6-2} < 0,01$	16,13 (13,36–18,9)	↓ 41 (6–2)	$p_{6-2} < 0,01$

Интересные результаты получены в группах животных с физическими нагрузками, находящихся на стандартной диете. При анаэробных и аэробных нагрузках отмечалось повышение содержания ТАГ в скелетных мышцах крыс на 52 % ($p < 0,05$) и на 46 % ($p < 0,01$), в печени – на 57 % ($p < 0,05$) и 37 % ($p < 0,01$) соответственно по сравнению с группой нетренированных, находящихся на стандартном питании животных (табл. 1).

Таким образом, физические упражнения снижают содержание триацилглицеролов в мышцах и печени при ожирении и увеличивают накопление ТАГ у животных, находящихся на стандартной диете. Данный эффект более выражен при анаэробных физических нагрузках.

Жир является главным источником эндогенной энергии в организме человека и сохраняется в виде триацилглицеролов. Подавляющее большинство ТАГ в организме человека хранится в подкожной и висцеральной жировой ткани, в то же время в небольшом количестве они присутствуют в других тканях.

В исследованиях [16] было показано, что при продолжительных физических тренировках накопление триацилглицеролов в печени крыс зависит от поставки свободных жирных кислот, глюкозы и требует присутствия глюкокортикоидов.

В скелетных мышцах триацилглицеролы и свободные жирные кислоты являются субстратами для окисления, особенно в периоды повышенного расхода энергии. Было показано, что у высококвалифицированных спортсменов при работе на выносливость уровень ТАГ в тканях повышается и может быть выше, чем у людей с ожирением и сахарным диабетом типа 2 [13]. Накопление у тренированных спортсменов рассматривается как адаптивная реакция на повышенный расход энергии при длительных тренировках [14].

Таким образом, высокожировая диета вызывает накопление триацилглицеролов в скелетных мышцах и печени у крыс. Физические нагрузки у животных с высокожировой диетой снижают содержание триацилглицеролов в скелетных мышцах и печени, наибольшее снижение уровня триацилглицеролов отмечается при физических тренировках анаэробного характера. Физические нагрузки у животных, находящихся на стандартной диете, повышают содержание триацилглицеролов в скелетных мышцах и печени, что, возможно, является адаптивной реакцией на повышенный расход энергии.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Сундукова Е.Л., Миняйлова Н.Н., Ровда Ю.И. Физиологические и эндокринологические аспекты жировой ткани, количественные и топографические методы ее диагностики в клинической практике // *Мать и дитя в Кузбассе*. – 2009. – № 3 (38). – С. 3–8.
2. Magkos F. Basal very low-density lipoprotein metabolism in response to exercise: mechanisms of hypotriacylglycerolemia // *Progress in Lipid Research*. – 2009. – V. 48 (3–4). – P. 171–190.
3. Magkos F. Exercise and fat accumulation in the human liver // *Current Opinion in Lipidology*. – 2010. – V. 21 (6). – P. 507–517.
4. Gerhard Smekal, Serge P. von Duvillard, Rochus Pokan, Harald Tschan, Ramon Baron, Peter Hofmann, Manfred Wonisch, Norbert Bachl Effect of Endurance Training on Muscle Fat Metabolism During Prolonged Exercise: Agreements and Disagreements // *Nutrition*. – 2003. – V. 19 (10). – P. 891–900.
5. Gollisch KS, Brandauer J, Jessen N, Toyoda T, Nayer A, Hirshman MF, Goodyear L. J. Effects of exercise training on subcutaneous and visceral adipose tissue in normal- and high-fat diet-fed rats // *Am J Physiol Endocrinol Metab*. – 2009/ – V. 297 (2). – P. 495–504.
6. Шварц В. Жировая ткань как эндокринный орган // *Проблемы эндокринологии*. – 2009. – Т. 55, № 1. – С. 38–44.
7. Гриневиц В.Б., Сас Е.И., Кравчук Ю.А., Ефимов О.И. Абдоминальное ожирение: клинико-социальные аспекты проблемы // *Ожирение и метаболизм*. – 2012. – № 2. – С. 28–32.
8. Ожирение: молекулярные механизмы и оптимизация таргетной терапии / М.А. Пальцев и др. // *Молекулярная медицина*. – 2013. – № 2. – С. 3–12.
9. Folch J. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues // *J. Biol. Chem*. – 1957. – V. 226 (1). – P. 497–509.

10. Van Veldhoven P.P. Lipase-based quantitation of triacylglycerols in cellular lipid extracts: requirement for presence of detergent and prior separation by thin-layer chromatography // *Lipids*. – 1997. – V. 32 (12). – P. 1297–1300.
11. Gobatto C.A., Mello MAR, Sibuya C.Y., Azevedo JRM, dos Santos L.A., Kokubun E. Maximal lactate steady state in rats submitted to swimming exercise // *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol*. – 2001. – V. 130 (suppl. 1). – P. 21–27.
12. Araujo GG, Araujo M.B, D'Angelo RA, Machado FB, Mota CSA., Ribeiro C, et al. Maximal lactate steady state in obese rats of both genders // *Brasilian Journal of Sports Medicine*. – 2009. – V. 15 (1). – P. 46–49.
13. Van Loon L.J., Koopman R., Stegen J.H., Wagenmakers A.J., Keizer H.A., Saris W.H. Intramyocellular lipids form an important substrate source during moderate intensity exercise in endurance trained males in a fasted state // *J Physiol*. – 2003. – V. 553 (Pr). – P. 611–625.
14. Van Veldhoven P.P. Lipase-based quantitation of triacylglycerols in cellular lipid extracts: requirement for presence of detergent and prior separation by thin-layer chromatography // *Lipids*. – 1997. – V. 32 (12). – P. 1297–1300.
15. Li M, Paran C, Wolins N.E, Horowitz J.F. High muscle lipid content in obesity is not due to enhanced activation of key triglyceride esterification enzymes or the suppression of lipolytic proteins // *Am J Physiol Endocrinol Metab*. – 2011. – V. 300 (4). – P. 699–707
16. Górski J, Nowacka M, Namiot Z, Puch U. Effect of prolonged exercise on the level of triglycerides in the rat liver // *Eur J Appl Physiol Occup Physiol*. – 1988. – V. 57 (5). – P. 554–557.

Поступила 11.11.2014.