

ФИЗИОЛОГИЯ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ

УДК 616-056.52:612.014.4.001.6

О.Б. Жукова¹, К.В. Зайцев¹, Н.П. Степаненко¹, А.А. Гостюхина¹,
С.С. Гутор¹, И.И. Вебер², Д.А. Нимирская²,
С.А. Межерицкий¹, Н.Г. Абдулкина¹

¹ Томский научно-исследовательский институт курортологии и физиотерапии (г. Томск)

² Томский государственный университет (г. Томск)

ВЛИЯНИЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ДЕСИНХРОНОЗА НА ЛИПИДНЫЙ ОБМЕН У КРЫС ПРИ ОЖИРЕНИИ

Работа выполнена при поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации в рамках Федеральной целевой программы «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009–2013 годы» (Соглашение № 8304 от 10.08.2012 г.).

Приведены результаты исследования, посвященного экспериментальной оценке влияния десинхронизации циркадных биоритмов на липидный обмен при ожирении. На 80 аутобредных крысах-самцах показано, что содержание животных на высококалорийном рационе в течение 30 дней способствовало формированию модели алиментарного ожирения, о чем свидетельствовало значительное увеличение массы тела. По данным биохимического и иммуно-ферментного анализов сыворотки крови крыс установлено, что диет-индуцированное ожирение на фоне круглосуточного действия света сопровождается гиперхолестеролемией и гипертриглицеридемией, снижением продукции гормонов инсулина и лептина. Содержание экспериментальных животных с моделью алиментарного ожирения в условиях длительного постоянного затемнения, несмотря на очевидную их прибавку в весе, способствовало нормализации всех рассматриваемых показателей. Предполагается, что этот эффект может быть обусловлен синтезом в темное время суток протективного фактора.

Ключевые слова: ожирение; десинхроноз; липидный обмен; инсулин; лептин.

Введение

Ожирение – это хроническое нарушение обмена веществ, которое является избыточным развитием жировой ткани, прогрессирует при естественном течении и характеризуется высокой вероятностью рецидива после окончания курса терапии [1]. Исследования последних лет доказали мультифакториальный характер ожирения, где наряду с генетической предрасположенностью большая роль принадлежит внешним факторам (образу жизни, особенностям питания, физической активности, психоэмоциональному состоянию и др.) [1, 2].

Патогенез ожирения до конца не изучен. Известно, что ключевые центры, регулирующие потребление пищи и энергетический баланс, расположены в гипоталамусе. Одни нейромедиаторы и гормоны (нейропептид Y, галанин, опиоиды, соматолиберин, грелин, b-эндорфин, соматостатин) увеличивают, другие (серотонин, норадреналин, кортиколиберин, холецистокинин, меланоцитостимулирующий гормон, лептин, бомбезин и др.) снижают потребность в пище. Нарушение синтеза, метаболизма и секреции нейротрансмиттеров может приводить к эндокринным сдвигам, которые, в свою очередь, имеют значение для развития ожирения и специфичности отложения жира [2].

На сегодняшний день жировая ткань рассматривается как самостоятельный секреторный орган, обладающий ауто-, пара- и эндокринной функциями [3]. С помощью сети местных и системных сигнальных структур, которые взаимодействуют с нейроэндокринными регуляторами, пути передачи сигналов в жировой ткани, сформированные по иерархическому принципу, являются важным механизмом, который позволяет организму приспосабливаться к различным условиям: голоду, стрессу, инфекциям, а также к периодам значительного избытка поступления энергии [4].

Развитие общества привело не только росту частоты избыточной массы тела среди населения, но и к тому, что с появлением электричества человек стал проводить больше времени при искусственном освещении. Для живого организма цикл свет – темнота является важнейшим регулятором суточной ритмичности. Известно, что существует прямая зависимость между патологическим процессом и нарушением временной организации физиологических функций (т.е. десинхронозом), глубина которого коррелирует с тяжестью заболевания [5].

Настоящее исследование было посвящено экспериментальной оценке влияния десинхронизации циркадных биоритмов на липидный обмен при ожирении.

Материалы и методики исследования

Исследование выполнено на 80 половозрелых аутбредных крысах-самцах с исходной массой тела 330–380 г, которые случайным образом были разделены на 4 группы по 20 особей в каждой:

- 1) интактные крысы;
- 2) крысы с алиментарным ожирением, содержащиеся 10 суток при естественном освещении;
- 3) крысы с алиментарным ожирением, содержащиеся 10 суток при круглосуточном освещении;
- 4) крысы с алиментарным ожирением, содержащиеся 10 суток в полной темноте.

Все процедуры с животными проводили в соответствии с международными правилами и нормами (European Communities Council Directives of

24 November 1986, 86/609/ЕЕС) в течение марта 2013 г., когда продолжительность светового периода суток составляла от 10 ч 44 мин до 13 ч 00 мин (в среднем 11 ч 42 мин). Модель алиментарного ожирения воспроизводили путем изменения характера питания крыс. Животные содержались в тесных клетках по 1 особи в течение 30 суток и находились на высококалорийной диете, состоящей из комбикорма (47%), сладкого сгущенного молока (44%), растительного масла (8%) и растительного крахмала (1%) (жиры – 29,6%, протеины – 14,8%, углеводы – 55,6%) [6]. Интактные крысы содержались в аналогичных условиях, но получали только комбикорм производства ООО «Лабораторкорм» (Россия) в полном объеме.

Для индукции экспериментального десинхроноза животные опытных групп в течение 10 дней круглосуточно находились при искусственном освещении либо в полной темноте.

Поскольку ожирение сопряжено с изменениями обменных и трофических процессов, в ходе эксперимента у животных регистрировали динамику изменения массы тела.

В сыворотке крови измеряли концентрацию глюкозы, общего холестерина, триглицеридов стандартными методами на биохимическом анализаторе Hitachi 911 (Япония). Уровни инсулина и лептина в сыворотке крови определяли с помощью твердофазного иммуноферментного «сэндвичевого» метода согласно инструкции, предлагаемой производителями соответствующих тест-систем.

Обработка полученных данных была выполнена в программе Statsoft STATISTICA for Windows 6.0 с расчетом описательных характеристик (Me – медиана, Q_1 – 25% квартиль, Q_3 – 75% квартиль). Метод статистического анализа включал внутригрупповое и межгрупповое сравнение показателей с помощью непараметрических критериев Вилкоксона и Манна – Уитни соответственно. Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты исследования и обсуждение

Содержание животных на гиперкалорийном рационе в течение 1 месяца способствовало формированию модели алиментарного ожирения, о чем свидетельствовало значительное увеличение массы тела (476,0 г) по сравнению с животными, находящимися на стандартном питании (333,4 г, $p < 0,01$). При этом интенсивность прибавления в весе у крыс, находящихся на высококалорийной диете, составила около 43% ($p < 0,05$), а количество потребляемой в день пищи на 23% превышало количество пищи, необходимой животным интактной группы. Исходя из этого мы заключили, что высококалорийное питание вызывает у крыс гиперфагию.

По данным литературы, гиперфагия является основным этиологическим фактором диет-индуцированного ожирения как у животных, так и у людей [6] и вызывает патологическую, так называемую постпрандиальную

(послеобеденную), гипергликемию и гиперлипидемию, что ассоциируется с замедлением катаболизма триглицеридов и функциональными и количественными изменениями липопротеидов [7]. Установленные значения биохимических показателей в сыворотке крови животных с алиментарным ожирением указывали на появление гиперхолестеролемии и гипертриглицеридемии, при этом содержание общего холестерина (ОХС) превышало фоновый уровень на 44,0%, а триглицеридов (ТГ) – на 48,4%. Зарегистрирована была также небольшая гипергликемия (123,3% от нормы; $p > 0,3$) (таблица). Таким образом, на фоне высококалорийной диеты в организме крыс имеет место развитие дислипидемии II-б типа.

Известно, что обмен веществ подчиняется принципу ритмичности протекания всех биологических процессов. Действие экзогенных или эндогенных факторов всегда вызывает адаптационные перестройки в организме. Можно предположить, что при десинхронозе может измениться степень и направленность действия факторов. Для выяснения закономерностей влияния расщепления суточного ритма свет – темнота, подстраивающего ход биологических часов под астрономические сутки, крыс с ожирением содержали при круглосуточном искусственном освещении либо в полной темноте в течение 10 суток. Под действием постоянного света у животных были выявлены нарушения липидного обмена, аналогичные таковым особой контрольной группы. При этом уровни медиаторов энергетического обмена – гормонов инсулина и лептина – имели статистически значимые минимальные значения (таблица).

Гипоинсулинемия приводит к затруднению поступления и утилизации глюкозы в мышечной ткани, к интенсификации липолиза в висцеральных адипоцитах. Это, в свою очередь, чревато выбросом большого количества глицерина и свободных жирных кислот в печень, где они становятся субстратом для формирования атерогенных липопротеидов [2]. Снижение выработки инсулина может быть вызвано функциональным истощением поджелудочной железы.

Ряд работ показали наличие на панкреатитах лептиновых рецепторов, активация которых регулирует транскрипцию гена инсулина [8]. В норме в ответ на увеличение концентрации инсулина увеличивается и продукция лептина, который по принципу отрицательной обратной связи тормозит дальнейшую продукцию и выброс инсулина [1]. Лептин вырабатывается адипоцитами в ответ на пополнение жировых запасов и передает в головной мозг сигнал о насыщении [9, 10]. Следует отметить, что он является ключевым медиатором между жировой тканью и гипоталамо-гипофизарной системой. При нарушении восприятия лептиновых сигналов страдает секреция многих нейропептидов, регулирующих пищевое поведение и расход энергии [2]. Очевидно, что выявленный нами дефицит данного гормона, влияющего на чувствительность тканей к инсулину, свидетельствует о дисрегуляции энергетического обмена.

**Изменение биохимических и гормональных показателей
в сыворотке крови крыс при ожирении, Ме (Q₁; Q₃)**

Группа животных	Концентрация глюкозы, ммоль/л	Концентрация общего холестерина, ммоль/л	Концентрация триглицеридов, ммоль/л	Уровень инсулина, усл. ед.	Уровень лептина, усл. ед.
Интактные крысы	4,45 (4,01; 5,10)	1,57 (1,37; 1,66)	0,93 (0,80; 1,10)	26,00 (24,00; 29,00)	21,50 (20,00; 29,00)
Крысы с алиментарным ожирением	5,52 (4,93; 5,71)	2,26 (2,02; 2,40) [^]	1,38 (0,92; 1,52) [^]	24,00 (23,00; 27,00)	21,00 (19,00; 22,00)
Крысы с ожирением, содержащиеся при круглосуточном освещении	5,08 (4,85; 5,58)	2,76 (2,55; 2,94) [^]	1,13 (0,79; 1,24) [^]	23,00 (22,00; 24,00) [^]	19,00 (18,00; 20,00) [^]
Крысы с ожирением, содержащиеся в полной темноте	5,03 (4,70; 5,55)	1,37 (1,21; 1,48) ^{*#}	0,57 (0,50; 0,66) ^{*#}	25,00 (24,00; 27,00) [#]	20,00 (19,00; 21,00)

Примечание. [^] – р-уровень < 0,05 по сравнению с аналогичными показателями у интактных крыс;

^{*} – р-уровень < 0,05 по сравнению с аналогичными показателями у крыс с алиментарным ожирением;

[#] – р-уровень < 0,05 по сравнению с аналогичными показателями у крыс с ожирением, содержащихся при круглосуточном освещении.

Содержание экспериментальных животных с моделью алиментарного ожирения в условиях длительного постоянного затемнения, несмотря на очевидную их прибавку в весе (в среднем на 42,5% от исходных значений, $p < 0,05$), способствовало нормализации всех рассматриваемых показателей (см. таблицу). Данный факт наводит на мысль о наличии протективного фактора, вырабатываемого ночью.

Известно, что в темное время суток и у дневных, и у ночных животных эпифизом (шишковидная, или пинеальная железа) секретируется мелатонин, координирующий работу всего организма. Синтез мелатонина подчинен суточному ритму, определяющему, в свою очередь, ритмичность всех физиологических процессов. В настоящее время обоснована роль данного гормона в диагностике и лечении различных заболеваний внутренних органов [5]. Согласно гипотезе «циркадианной деструкции» воздействие света в ночные часы нарушает эндогенный суточный ритм, подавляет ночную секрецию мелатонина, что приводит к снижению его плеiotропного влияния на организм. Искусственное увеличение продолжительности темного периода суток, вероятно, способствует продлению мелатониновых эффектов в отношении нормализации липидного обмена.

Заключение

Диет-индуцированное ожирение у крыс, моделируемое путем увеличения объема и калорийности питания в течение 1 месяца, на фоне круглосуточного непрерывного воздействия искусственного света сопровождалось выраженными нарушениями липидного обмена в виде гиперхолестерол- и гипертриглицеридемии, склонностью к гипергликемии, снижением продукции гормонов инсулина и лептина. Длительная (10 суток) световая депривация полностью нивелирует указанные нарушения у крыс с моделью алиментарного ожирения.

Таким образом, для повышения эффективности терапии ожирения можно рекомендовать смещение естественного цикла освещенности в сторону темноты с целью немедикаментозной коррекции метаболических нарушений.

Литература

1. *Ожирение и другие нарушения метаболизма липидов* / под ред. С.И. Удинцева, В.Ю. Сереброва. Томск : Изд-во Том. гос. ун-та, 2008. 326 с.
2. *Дедов И.И., Мельниченко Г.А.* Ожирение: этиология, патогенез, клинические аспекты. М., 2004. 456 с.
3. *Шварц В.* Жировая ткань как эндокринный орган // Проблемы эндокринологии. 2009. Т. 55, № 1. С. 38–43.
4. *Чубриева С.Ю., Глухов Н.В., Зайчик А.М.* Жировая ткань как эндокринный регулятор // Вестн. Санкт-Петербургского университета. 2008. Сер. 11. Вып. 1. С. 32–40.
5. *Процаев К.И., Ильницкий А.Н., Кветная Т.В. и др.* Значение мелатонина в диагностике некоторых заболеваний внутренних органов и перспективы его применения в практической медицине // Медицинский академический журнал. 2007. Т. 7, № 2. С. 95–105.
6. *Fisette A., Lapointe M., Cianflone K.* Obesity-inducing diet promotes acylation stimulating protein resistance // Biochem Biophys Res Commun. 2013. Vol. 437, № 3. P. 403–407.
7. *Чазова И.Е., Мычка В.Б.* Метаболический синдром. М.: Медиа Медика, 2004. 168 с.
8. *Steppan C.M., Brown E.G., Wright C.M. et al.* A family of resistin-like molecule // Proc. Natl. Acad. Sci USA. 2001. Vol. 98. P. 502–506.
9. *Flier J.S.* Leptin expression and action: new experimental paradigms // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2002. Vol. 94. P. 4242–4245.
10. *Lonnqvist F., Nordfors L., Jansson M. et al.* Leptin secretion from adipose tissue in women: Relationship to plasma levels and gene expression // J. Clin. Invest. 2002. Vol. 99. P. 2398–2404.

Поступила в редакцию 17.09.2013 г.

Oksana B. Zhukova¹, Constantin V. Zaitsev¹, Nina P. Stepanenko¹,
Alena A. Gostyuhina¹, Sergey S. Gutor¹, Irina I. Veber², Dariya A. Nimirskaya²,
Stanislav A. Mezheritskiy¹, Nataliya G. Abdulkina¹

¹ Tomsk Scientific Research Institute of Resort and Physiotherapy, Tomsk, Russia

² Tomsk State University, Tomsk, Russia

EFFECT OF EXPERIMENT ALDESYNCHRONOSIS ON LIPID METABOLISM IN RATS WITH OBESITY

The study was supported by the Ministry of education and science
of the Russian Federation, project №8304 (10.08.2012)

The article presents the results of a study of the effect of desynchronization of circadian rhythms on lipid metabolism in case of obesity. The model of the alimentary obesity was reproduced in 80 outbred male rats with an initial weight of 330–380 g by changing the nature of nutrition. The animals were kept in cages for one individual within one month and were at high-calorie diet consisting of standard food (47%), sweet condensed milk (44%), vegetable oil (8%) and vegetable starch (1%) (fats – 29.6%, proteins – 14.8%, carbohydrates – 55.6%) (diet C11024, Research Diets, New Brunswick, NJ). To induce desynchronization, experimental animals were in artificial light or in full darkness for 10 days around the clock. All procedures with animals were performed in accordance with international rules and standards (European Communities Council Directives of 24 November 1986, 86/609/EEC). The study showed that keeping animals at high-calorie diet during 30 days promoted formation of the model of alimentary obesity, as evidenced by a significant increase in their body weight (average 43%). According to biochemical and enzyme-linked immunosorbent analyses of blood serum of rats, diet-induced obesity on the background of the round the clock lighting is accompanied by hypercholesterolemia and hypertriglyceridemia, tendency to hyperglycemia and decreased production of hormones insulin and leptin. Keeping experimental animals with the model of alimentary obesity under long-term continuous darkening, despite their increase in weight, promoted normalization of all the considered parameters. It is assumed that this effect may be conditioned by synthesis of the protective factor during hours of darkness. Thus, to improve the efficiency of obesity treatment, one can recommend shifting the natural light-dark cycle to darkness for non-pharmacological correction of metabolic disorders.

Key words: obesity; desynchronization; lipid metabolism; insulin; leptin.

Received September 17, 2013