

DOI: 10.26693/jmbs05.03.441

УДК 616-056.5:616.633.455.623

Цапенко П. К.<sup>1,2</sup>, Василенко М. І.<sup>1,2</sup>, Алієв Р. Б.<sup>1</sup>,  
 Завгородній М. О.<sup>1,2</sup>, Козловська М. Г.<sup>1</sup>, Топчанюк Л. Я.<sup>1</sup>,  
 Сидоренко А. М.<sup>1,2</sup>, Братусь Л. В.<sup>1</sup>, Бакуновський О. М.<sup>1,2</sup>,  
 Портніченко В. І.<sup>1,2</sup>, Портніченко А. Г.<sup>1,2</sup>

## ВПЛИВ ВИСОКОЖИРОВОЇ ДІЄТИ НА РОЗВИТОК ІНСУЛІНОРЕЗИСТЕНТНОСТІ ТА МЕТАБОЛІЧНОГО СИНДРОМУ У ЩУРІВ

<sup>1</sup>Інститут фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України, Київ

<sup>2</sup>Міжнародний центр астрономічних та медико-екологічних досліджень НАН України, Київ

port@biph.kiev.ua

Одним з ключових факторів патогенезу і корекції метаболічного синдрому вважають вживання вуглеводних або ліпідних метаболічних субстратів. Однак дослідження впливу редуційних дієт на вуглеводний та ліпідний обмін у пацієнтів з цукровим діабетом 2 типу та експериментальних тварин надають суперечливі результати.

*Метою роботи* було дослідити короткостроковий вплив високожирової дієти на розвиток інсулінорезистентності та ожиріння у щурів. Матеріали та методи. У щурів-самців лінії Вістар віком 6 місяців застосовували високожирову дієту з вмістом жиру 58% від загальної калорійності протягом 4 тижнів. Інсулінорезистентність визначали за допомогою тесту толерантності до інсуліну (0,5 МО/кг інсуліну людини короткої дії).

Вживання високожирової дієти протягом 2-4 тижнів супроводжувалося стійким зростанням показників глікемії на 16-20 % без розвитку ожиріння у дослідних щурів порівняно з контрольною групою. Через 2 тижні вживання високожирової дієти у тварин розвивалася стійка інсулінорезистентність, про що свідчила відсутність гіпоглікемічної реакції на введення інсуліну протягом 60 хв ( $P < 0,05$  порівняно з контрольною групою).

Короткостроковий вплив високожирової дієти викликає розвиток інсулінорезистентності у щурів, не пов'язаний з наявністю ожиріння, та може використовуватися для дослідження відповідних механізмів розвитку метаболічного синдрому. Динаміка розвитку інсулінорезистентності при високожировій дієті може свідчити про швидке зниження здатності клітин метаболізувати вуглеводні субстрати і доцільність вживання дієт з роздільним використанням енергетичних субстратів для зменшення ризику розвитку діабету 2 типу.

**Ключові слова:** високожировою дієта, інсулінорезистентність, ожиріння, метаболічний синдром, експериментальне моделювання.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дослідження є фрагментом трьох НДР Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України «Механізми розвитку та компенсації гіпоксичних та оксидативних тканинних пошкоджень при нейродегенеративних і метаболічних розладах» (№ держ. реєстрації 0116U004474), «Молекулярно-генетичні механізми впливу гіпоксії на перебіг запалення та метаболічних розладів» (№ держ. реєстрації 0119U103909), «Молекулярно-генетичні механізми цитопroteкції при нейродегенеративних та метаболічних розладах» (№ держ. реєстрації 0116U004470) та МЦ АМЕД НАН України «Фазові зміни енергетичного метаболізму на різних етапах тривалої адаптації до гіпоксичного середовища (№ держ. реєстрації 0117U004054), «Роль мікроРНК в регуляції клітинної та метаболічної адаптації при впливі гіпоксії» (№ держ. реєстрації 0117U004053).

**Вступ.** Вживання значної кількості вуглеводних та/або ліпідних метаболічних субстратів визначається як один з ключових факторів як для розвитку метаболічного синдрому та діабету 2 типу, так і для його корекції [1, 2]. Проте одержано багато суперечливих результатів клінічних досліджень з застосуванням різних варіантів редуційних дієт у пацієнтів з цукровим діабетом 2 типу, а також впливу таких дієт на розвиток інсулінорезистентності в експериментальних дослідженнях на тваринах [1-6]. Зокрема, важливим є встановлення зв'язку характеру і тривалості дієти з розвитком або редуцією окремих проявів метаболічного синдрому.

**Метою роботи** було дослідити короткостроковий вплив високожирової дієти на розвиток інсулінорезистентності та ожиріння у щурів.

**Матеріал та методи дослідження.** Досліди проведено на 30 щурах-самцях лінії Вістар віком 6 місяців, масою 300-370 г. Тварин розподіляли на дві групи: контрольну ( $n=15$ ), що знаходилася на стандартній дієті віварію (сухий комбінований корм

для гризунів), та дослідну із вживанням високожирової дієти (ВЖД, n=15), яка базувалася на стандартній дієті, але вміщувала додаткову домішку жиру (внутрішній жир свині) до 58% від загальної калорійності. Тривалість ВЖД становила 4 тижні. В динаміці експерименту визначали масу тіла щурів і рівень глікемії.

Розвиток інсулінорезистентності перевіряли за допомогою тесту толерантності до інсуліну після 2 тижнів експерименту. Тест толерантності до інсуліну виконували за методом [7] з власною модифікацією за допомогою внутрішньоочеревинного введення 0,5 МО/кг маси тіла рекомбінантного інсуліну людини короткої дії («Хумодар», Україна). Реакцію оцінювали в динаміці за допомогою вимірювання вмісту глюкози в периферичній крові, одержаній з кінчика хвоста тварини до і протягом 60 хв після введення інсуліну. Концентрацію глюкози вимірювали за допомогою автоматичного глюкометра «OneTouch Select» (LifeScan, США).

Статистичний аналіз проводили за допомогою загальноприйнятих методів варіаційної статистики. Показники представляли у вигляді ( $M \pm m$ ), після перевірки на нормальність розподілу статистичну значущість визначали за допомогою t-критерію Стьюдента, різницю вважали значущою при  $P < 0,05$ .

Всі роботи з лабораторними тваринами проводили відповідно до положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для експериментальних та інших цілей» (Страсбург, 2005), «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах» (Київ, 2013) та діючого законодавства України.

**Результати дослідження та їх обговорення.**

Встановлено, що високожирова дієта через 2 тижні призводила до зростання маси тіла тварин в середньому на  $24,2 \pm 2,6$  г, що становило 6,5% від початкових показників. Після 4 тижнів вживання ВЖД зростання маси тіла щурів на 3,5% перевищувало показники контрольної групи. Незважаючи на відсутність значного збільшення маси тіла, двотижневе вживання ВЖД супроводжувалося стійким зростанням показників глікемії у дослідних тварин (рис. 1), яке зберігалось протягом наступних 2 тижнів до завершення експерименту.

Водночас у щурів з ВЖД зростала толерантність до інсуліну (рис. 2). Зокрема, гіпоглікемічна реакція після введення інсуліну розвивалася пізніше (через 30 хв), ніж у контрольних щурів, а показники мали лише тенденцію до зниження відносно вихідних значень, тоді як у контролі спостерігали вірогідне зменшення глікемії протягом періоду спостереження. На всіх етапах тесту показники глікемії у щурів з ВЖД були вірогідно вищими, ніж у контролі (рис. 2).

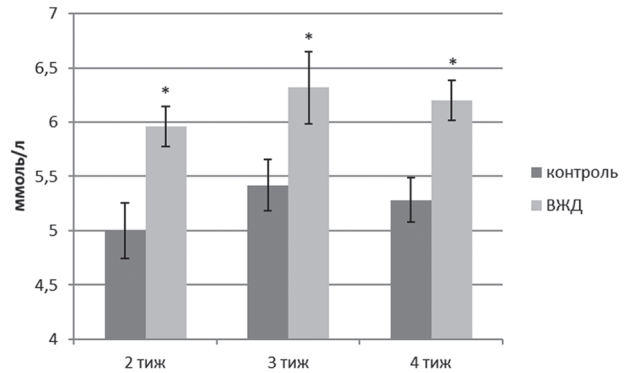


Рис. 1. Динаміка глікемії у щурів на тлі високожирової дієти

Примітка: \* –  $P < 0,05$  порівняно з контролем.

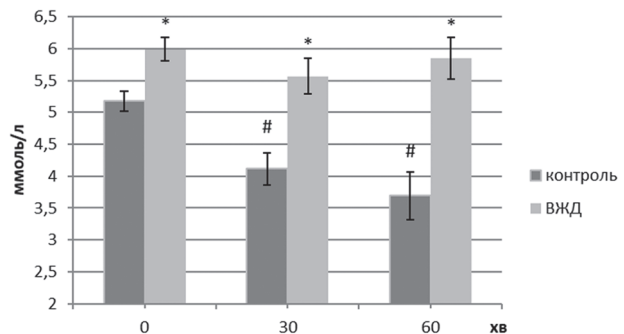


Рис. 2. Показники тесту толерантності до інсуліну у щурів через 2 тижні вживання високожирової дієти

Примітка: \* –  $P < 0,05$  порівняно з контролем; # $P < 0,05$  порівняно з вихідним рівнем.

Слід відмітити, що у щурів контрольної групи реакція на введення інсуліну (глікемія на 60-й хвилині тесту) не корелювала з масою тіла тварин ( $r=0,17$ ). Після вживання ВЖД інтенсивність цього зв'язку дещо зростала, але залишалася слабкою ( $r=0,37$ ).

Одержані результати можуть свідчити, що застосування високожирової дієти зменшує метаболізм глюкози в клітинах внаслідок переходу на переважне використання ліпідних субстратів. Водночас гальмуються інсулінозалежні механізми забезпечення енергетичного метаболізму, через що введення інсуліну не призводить до суттєвого зростання глюкозного транспорту. При цьому рівень глікемії зростає завдяки уповільненому використанню вуглеводних субстратів в енергетичному метаболізмі. Ці результати висвітлюють вплив особливостей використання енергетичних субстратів клітинами на розвиток інсулінорезистентності як патогенетичної ланки діабету 2 типу. На тлі тривалого вживання ВЖД вуглеводні субстрати не можуть метаболізуватися клітинами з належною для підтримання нормоглікемії швидкістю. Таким чином,

вживання вуглеводних продуктів на тлі ВЖД створює ризик гіперглікемії (предіабету) та, за умов тривалої дизрегуляції метаболічних ланок, цукрового діабету 2 типу.

Згідно зі спостереженнями при використанні низьковуглеводної дієти, зв'язок між зростанням ваги та інсулінорезистентністю може залежати від значного вживання вуглеводів [2]. Незважаючи на ряд негативних результатів клінічних досліджень з застосуванням низьковуглеводної дієти у пацієнтів з цукровим діабетом 2 типу [3], виявлено сприятливий вплив високожирової дієти на основі ненасичених жирних кислот у поєднанні з дуже низьким вмістом вуглеводів на ліпідний та глікемічний профіль, зниження маси тіла та глікозильованого гемоглобіну у пацієнтів з цією патологією [6]. З цієї точки зору, роздільне використання енергетичних субстратів є більш сприятливим для попередження або компенсації метаболічних розладів, що опосередковується через модифікацію інсуліннезалежних та інсулінозалежних шляхів енергозабезпечення клітин.

Спостереження, одержані при вживанні високожирової та низьковуглеводної дієти у гвінейських свинків протягом 12 тижнів, демонструють зростання маси тіла без наявності гіперінсулінемії, інсулінової та лептинової резистентності [2]. У співставленні з одержаними нами даними, ця модель більш придатна для дослідження ожиріння, але

одержані показники не відповідають проявам метаболічного синдрому. В той же час, розроблена нами короткострокова експериментальна модель на щурах демонструє ефекти зниження чутливості до інсуліну до появи ознак ожиріння. Таким чином, ця модель є більш придатною для вивчення механізмів розвитку інсулінорезистентності, пов'язаних безпосередньо з аліментарним впливом, тоді як ефекти адипокінів, які можна розглядати як ендогенні ланки механізмів розвитку метаболічного синдрому, виявляються у відповідності зі зростанням маси жирової тканини.

**Висновки.** Короткостроковий вплив високожирової дієти викликає розвиток інсулінорезистентності у щурів, не пов'язаний з наявністю ожиріння, та може використовуватися для дослідження відповідних механізмів розвитку метаболічного синдрому. Динаміка розвитку інсулінорезистентності при ВЖД може свідчити про швидке зниження здатності клітин метаболізувати вуглеводні субстрати і доцільність вживання дієт з роздільним використанням енергетичних субстратів для зменшення ризику розвитку діабету 2 типу.

**Перспективи подальших досліджень.** Результати роботи дозволяють досліджувати розвиток інсулінорезистентності, не пов'язаної з ожирінням, на ранніх стадіях метаболічного синдрому.

**Конфлікт інтересів:** відсутній.

## References

1. Ajala O, English P, Pinkney J. Systematic review and meta-analysis of different dietary approaches to the management of type 2 diabetes. *Am J Clin Nutr.* 2013; 97(3): 505-16. doi: 10.3945/ajcn.112.042457
2. Leite JO, DeOgurn R, Ratliff JC, Su R, Volek JS, McGrane MM, et al. Low-carbohydrate diet disrupts the association between insulin resistance and weight gain. *Metabolism.* 2009; 58(8): 1116-22. doi: 10.1016/j.metabol.2009.04.004
3. Castañeda-González LM, Bacardí Gascón M, Jiménez Cruz A. Effects of low carbohydrate diets on weight and glycemic control among type 2 diabetes individuals: a systematic review of RCT greater than 12 weeks. *Nutr Hosp.* 2011; 26(6): 1270-6. doi: 10.1590/S0212-16112011000600013
4. Hernández Alcantara G, Jiménez Cruz A, Bacardí Gascón M. Effect of low carbohydrate diets on weight loss and glycosylated hemoglobin in people with type 2 diabetes: systematic review. *Nutr Hosp.* 2015; 32(5): 1960-6. doi: 10.3305/nh.2015.32.5.9695
5. Wang LL, Wang Q, Hong Y, Ojo O, Jiang Q, Hou YY, et al. The Effect of Low-Carbohydrate Diet on Glycemic Control in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus. *Nutrients.* 2018; 10(6): pii: E661. doi: 10.3390/nu10060661
6. Tay J, Luscombe-Marsh ND, Thompson CH, Noakes M, Buckley JD, Wittert GA, et al. Comparison of low- and high-carbohydrate diets for type 2 diabetes management: a randomized trial. *Am J Clin Nutr.* 2015; 102(4): 780-90. doi: 10.3945/ajcn.115.112581
7. Furuya DT, Binsack R, Machado UF. Low ethanol consumption increases insulin sensitivity in Wistar rats. *Braz J Med Biol Res.* 2003; 36(1): 125-30.

УДК 616-056.5: 616.633.455.623

### ВЛИЯНИЕ ВЫСОКОЖИРОВОЙ ДИЕТЫ НА РАЗВИТИЕ ИНСУЛИНОРЕЗИСТЕНТНОСТИ И МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СИНДРОМА У КРЫС

Цапенко П. К., Василенко М. И., Алиев Р. Б., Завгородний Н. О., Козловская М. Г., Топчанюк Л. Я., Сидоренко А. М., Братусь Л. В., Бакуновский А. Н., Портниченко В. И., Портниченко А. Г.

**Резюме.** Одним из ключевых факторов патогенеза и коррекции метаболіческого синдрому считают употребление углеводов или липидных метаболіческих субстратов. Однако исследования влияния

редукционных диет на углеводный и липидный обмен у больных сахарным диабетом 2 типа и экспериментальных животных дают противоречивые результаты.

*Целью работы* было исследовать краткосрочное влияние высокожировой диеты на развитие инсулинорезистентности и ожирения у крыс. Материалы и методы. У крыс-самцов линии Вистар в возрасте 6 месяцев применяли высокожировую диету с содержанием жира 58% от общей калорийности в течение 4 недель. Инсулинорезистентность определяли с помощью теста толерантности к инсулину (0,5 МЕ/кг инсулина человека короткого действия). Употребление высокожировой диеты в течение 2-4 недель сопровождалось устойчивым ростом показателей гликемии на 16-20% без развития ожирения у опытных животных по сравнению с контрольной группой. Через 2 недели применения высокожировой диеты у животных развивалась стойкая инсулинорезистентность, о чем свидетельствовало отсутствие гипогликемической реакции на введение инсулина в течение 60 мин ( $P < 0,05$  по сравнению с контрольной группой). Краткосрочное влияние высокожировой диеты вызывает развитие инсулинорезистентности у крыс, не связанное с наличием ожирения, и может использоваться для исследования соответствующих механизмов развития метаболического синдрома. Динамика развития инсулинорезистентности при высокожировой диете может свидетельствовать о быстром снижении способности клеток метаболизировать углеводные субстраты и целесообразности применения диет с раздельным использованием энергетических субстратов для уменьшения риска развития диабета 2 типа.

**Ключевые слова:** высокожировая диета, инсулинорезистентность, ожирение, метаболический синдром.

UDC 616-056.5: 616.633.455.623

### Effects of High-Fat Diet on the Development of Insulin Resistance and Metabolic Syndrome in Rats

*Tsapenko P. K., Vasylenko M. I., Aliiev R. B., Zavgorodniy M. O., Kozlovskaya M. G., Topchaniuk L. Ya., Sydorenko A. M., Bratus L. V., Bakunovskiy O. M., Portnichenko V. I., Portnychenko A. G.*

**Abstract.** One of the key factors for the development or correction of metabolic syndrome is the use of carbohydrate or lipid metabolic substrates. However, there have been many conflicting results from clinical trials using different reduction diets in patients with type 2 diabetes, and the impact of such diets on the development of insulin resistance in experimental animal studies. It is important to link the nature and duration of the diet with the development or reduction of certain manifestations of metabolic syndrome.

*The purpose of the study* was to investigate the effects of short-term using of high-fat diet on the development of insulin resistance and obesity in rats.

*Material and methods.* High-fat diet was used in Wistar male rats, 6 months of age, by the addition of lard in standard feed to a fat content of 58% of total calories for 4 weeks. The control group was on a standard vivarium diet. Insulin resistance was determined using an insulin tolerance test with 0.005 IU/kg short-acting human insulin. Blood glucose concentration was measured in dynamics using glucose meter OneTouch Select (LifeScan, USA).

*Results and discussion.* The obtained results showed that two-week intake of the high-fat diet led to an increase in the mean body weight of animals by 6.5% of the initial values. After 4 weeks, the weight gain of rats by 3,5% exceeded that of the control group. Despite the lack of significant weight gain, the use of high-fat diet for 2-4 weeks was accompanied by a steady increase in glycemia by 16-20% in experimental animals compared to control group without the development of obesity. After two-week intake of the high-fat diet, the rats developed persistent insulin resistance, as evidenced by the absence of a hypoglycemic response to insulin administration over 60 min ( $P < 0.05$  compared with control).

*Conclusion.* The short-term action of a high-fat diet causes the development of insulin resistance in rats, which is unrelated to the presence of obesity, and can be used to investigate appropriate mechanisms for the development of metabolic syndrome. The dynamics of insulin resistance appearance during high-fat diet may indicate a rapid decrease in the ability of cells to metabolize carbohydrate substrates, and the feasibility of diets with separate use of energy substrates to reduce the risk of type 2 diabetes.

**Keywords:** high fat diet, insulin resistance, obesity, metabolic syndrome.

*The authors of this study confirm that the research and publication of the results were not associated with any conflicts regarding commercial or financial relations, relations with organizations and/or individuals who may have been related to the study, and interrelations of coauthors of the article.*

Стаття надійшла 18.01.2020 р.

Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування