УДК 616.379-008.64-021.6-08:615.825.3:577.12
https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-4-82-94

Эффекты принудительных беговых нагрузок на показатели липидного и углеводного обмена у мышей с моделью сахарного диабета типа 2

Милованова К.Г.[1], Захарова А.Н.[1], Орлова А.А.[1], Коллантай О.В.[1], Шувалов И.Ю.[1], Попов С.А.[1], Медведев М.А.[2], Ковалев И.В.[2], Якимович И.Ю.[2], Чибалин А.В.[1], Капилевич Л.В.[1, 2, 3]

[1] Национальный исследовательский Томский государственный университет (НИ ТГУ)
Россия, 634050, г. Томск, пр. Ленина, 36

[2] Сибирский государственный медицинский университет (СибГМУ)
Россия, 634050, г. Томск, Московский тракт, 2

[3] Национальный исследовательский Томский политехнический университет (НИ ТПУ)
Россия, 634050, г. Томск, пр. Ленина, 30

РЕЗЮМЕ

Цель: изучалось влияние принудительных физических нагрузок на показатели липидного и углеводного обмена в тканях печени и скелетных мышц у мышей с моделью сахарного диабета типа 2 (СД2) с учетом возрастных и биоритмологических особенностей.

Материалы и методы. Для формирования модели заболевания использовалась высокожировая диета, физические нагрузки в виде принудительного бега проводились в течение 4 нед. Показатели липидного и углеводного обмена в тканях мышц и печени определялись методом вестерн-блоттинга.

Результаты. Снижение содержания гликогена в мышцах при СД2 в большей степени связано с активацией процессов его распада, чем со снижением синтеза. Значительные и разнонаправленные изменения фиксировались в содержании гликогенфосфорилазы в тканях печени и скелетных мышц, на эти изменения существенное влияние оказывали и характер питания, и физические нагрузки. Развитие экспериментального СД2 у мышей сопровождалось снижением содержания липопротеинов высокой плотности в печени параллельно с возрастанием липопротеинов низкой и очень низкой плотности. Важно, что физические нагрузки обеспечивали частичную нормализацию соотношения липидных фракций, несмотря на то что выполнялись они на фоне продолжающейся жировой диеты.

В группе СД2 физические нагрузки носили не только количественный, но в некоторых случаях качественный характер. Эффекты физических нагрузок, применяемых в разное время суток, на метаболические процессы в печени и мышечной ткани значительно различаются.

Заключение. Физические нагрузки могут выступать средством профилактики не только непосредственно метаболических нарушений (ожирение и инсулинорезистентность), но и сопутствующих осложнений со стороны печени и в дальнейшем сердечно-сосудистой системы.

Ключевые слова: печень, скелетные мышцы, беговая нагрузка, сахарный диабет, ожирение

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования. Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 19-15-00118, https://rscf.ru/project/19-15-00118-p

✉ *Капилевич Леонид Владимирович,* kapil@yandex.ru

Соответствие принципам этики. Исследование одобрено комиссией по биоэтике Биологического института НИ ТГУ (протокол № 32 от 02.12.2019).

Для цитирования: Милованова К.Г., Захарова А.Н., Орлова А.А., Коллантай О.В., Шувалов И.Ю., Попов С.А., Медведев М.А., Ковалев И.В., Якимович И.Ю., Чибалин А.В., Капилевич Л.В. Эффекты принудительных беговых нагрузок на показатели липидного и углеводного обмена у мышей с моделью сахарного диабета типа 2. *Бюллетень сибирской медицины.* 2024;23(4):82–94. https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-4-82-94.

Effects of forced treadmill exercise on lipid and carbohydrate metabolism parameters in a mouse model of type 2 diabetes mellitus

Milovanova K.G.[1], Zakharova A.N.[1], Orlova A.A.[1], Kollantay O.V.[1], Shuvalov I.Yu.[1], Popov S.A.[1], Medvedev M.A.[2], Kovalev I.V.[2], Yakimovich I.Yu.[2], Kapilevich L.V.[1, 2, 3]

[1]*National Research Tomsk State University*
36, Lenina Av., Tomsk, 634050, Russian Federation

[2]*Siberian State Medical University*
2, Moscow Tract, Tomsk, 634050, Russian Federation

[3]*National Research Tomsk Polytechnic University*
30, Lenina Av., Tomsk, 634050, Russian Federation

ABSTRACT

Aim. To study the effect of forced treadmill exercise on lipid and carbohydrate metabolism parameters in liver and skeletal muscle tissues of mice with a model of type 2 diabetes mellitus, taking into account age and biological rhythm characteristics.

Materials and methods. To create a model of type 2 diabetes mellitus (T2DM), a high-fat diet was used. Physical activity in the form of forced treadmill exercise was carried out for 4 weeks. Parameters of lipid and carbohydrate metabolism in muscle and liver tissues were determined by Western blotting.

Results. A decrease in glycogen content in the muscles in T2DM was associated with activation of its breakdown rather than with its reduced synthesis. Significant and multidirectional changes were recorded in the content of glycogen phosphorylase in the liver and skeletal muscle tissues. These changes were significantly influenced by both the nature of diet and physical activity. The development of T2DM in mice was accompanied by a decrease in high-density lipoprotein (HDL) content in the liver along with an increase in low-density lipoprotein (LDL) and very-low-density lipoprotein (VLDL) levels. It is worth noting that physical activity provided partial normalization of the ratio of lipid fractions, despite the fact that the exercises were performed in the context of a high-fat diet.

In the T2DM group, metabolic changes caused by both T2DM modeling and physical exercises were not only quantitative, but in some cases also qualitative. The effects of physical exercises performed at different times of the day on metabolic processes in the liver and muscle tissues varied significantly.

Conclusion. Physical activity can help prevent not only metabolic disorders (obesity and insulin resistance), but also associated complications on the part of the liver and cardiovascular system.

Keywords: liver, skeletal muscles, treadmill running, diabetes mellitus, obesity

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Source of financing. The study was funded by the Russian Science Foundation grant No.19-15-00118, https://rscf.ru/project/19-15-00118-p

Conformity with the principles of ethics. The study was approved by the Bioethics Committee at the Biological Institute of National Research Tomsk State University (Protocol No. 32 of 02.12.2019).

For citation: Milovanova K.G., Zakharova A.N., Orlova A.A., Kollantay O.V., Shuvalov I.Yu., Popov S.A., Medvedev M.A., Kovalev I.V., Yakimovich I.Yu., Kapilevich L.V. Effects of forced treadmill exercise on lipid and carbohydrate metabolism parameters in a mouse model of type 2 diabetes mellitus. *Bulletin of Siberian Medicine.* 2024;23(4):82–94. https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-4-82-94.

ВВЕДЕНИЕ

Сахарный диабет типа 2 (СД2) – серьезное метаболическое заболевание, характеризующееся инсулинорезистентностью и снижением выработки инсулина, что приводит к аномальному повышению уровня глюкозы в крови. Сообщалось, что СД2 может вызывать окислительный стресс и воспалительные реакции, а также стимулировать различные осложнения, включая повреждение печени [1, 2].

Жировая болезнь печени, связанная с метаболической дисфункцией, и сахарный диабет являются двумя распространенными метаболическими нарушениями, которые часто сосуществуют и синергически способствуют прогрессированию друг друга [3]. В этой связи задействовано несколько патофизиологических путей, включая резистентность к инсулину, воспаление и липотоксичность, что дает основу для понимания сложных взаимосвязей между этими состояниями [4]. Дислипидемия оказывает существенное влияние на риск развития диабета и микро- и макрососудистых осложнений, а диабет существенно способствует повышению риска прогрессирования фиброза печени и развитию гепатоцеллюлярной карциномы. Более того, обе патологии оказывают синергетический эффект на сердечно-сосудистые события и смертность [5].

Печень помогает поддерживать нормальную концентрацию глюкозы в крови как натощак, так и после приема пищи. Потеря инсулина оказывает влияние на печень, приводя к гликогенолизу и увеличению продукции глюкозы печенью. Аномалии хранения триглицеридов и липолиз в инсулин-чувствительных тканях, таких как печень, являются ранними проявлениями состояний, характеризующихся резистентностью к инсулину, и выявляются раньше, чем гипергликемия натощак [2].

Одной из моделей формирования диабета является содержание животных на высокожировой диете. Питание с высоким содержанием жиров может привести к ожирению, гиперинсулинемии и измененному гомеостазу глюкозы из-за недостаточной компенсации со стороны островков Лангерганса. Поскольку ожирение в этом случае вызвано манипуляциями с питанием, а не с цитотоксическими веществами, считается, что такие модели более сходны с заболеванием у человека [6–8].

Физические нагрузки разной интенсивности приводят к запуску большого количества биохимических, молекулярных, генетических и эпигенетических механизмов, лежащих в основе адаптационных реакций организма на физиологический стресс [9]. В частности, показано, что физические нагрузки оказывают положительное воздействие при метаболических нарушениях [10]. Эксперименты с животными доказали, что физическая нагрузка повышает чувствительность к инсулину и улучшает толерантность к глюкозе, вызванную диетой с высоким содержанием жира, не только у самих животных, но и у их потомков [10]. Также показано, что циркадные ритмы влияют на эффект от физических упражнений. Поглощение глюкозы мышцами и толерантность к инсулину также имеет циркадный характер, и эффекты физических тренировок связаны с циркадной ритмичностью данных показателей [11].

В связи со всем изложенным цель нашего исследования – изучить влияние принудительных физических нагрузок на показатели липидного и углеводного обмена в тканях печени и скелетных мышц у мышей с моделью СД2 с учетом возрастных и биоритмологических особенностей.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве объекта исследования использовали мышей-самцов линии C57bl/6. Мыши были получены из вивария НИИ фармакологии и регенеративной медицины им. Е.Д. Гольдберга Томского национального исследовательского медицинского центра РАН. Режим содержания животных: день 12 ч, ночь 12 ч, начало светового дня 6.00 ч, свободный доступ к пище и воде, температура в помещении 24 °C.

Исследование проведено в соответствии с принципами Базельской декларации и одобрено комиссией по биоэтике Биологического института НИ ТГУ (протокол № 32 от 2 декабря 2019 г.).

В эксперименте использовались две группы мышей: молодые (112 мышей, возраст на момент начала эксперимента – 4 нед) и возрастные (112 мышей, возраст на момент начала эксперимента – 32 нед). Эксперимент длился 16 нед. До 12-й нед мышей делили на две подгруппы: на жировой диете

(56 мышей), получавшие стандартный рацион (56 мышей).

Для формирования модели СД2 использовалась высокожировая диета в течение 12 нед, разработанная специально для данного эксперимента. Состав и энергетическая ценность корма подробно описаны в нашей предыдущей работе [12].

Начиная с 12-й нед каждая группа животных была разделена на две подгруппы: подвергавшиеся (основная – 21 животное) и не подвергавшиеся (контроль – 7 животных) форсированным беговым нагрузкам.

Разные подгруппы мышей основной группы подвергались беговой нагрузке в разное время суток. Группа А – подвергавшиеся беговой нагрузке в светлое время суток (8.00–10.00 ч) – 7 животных. Группа Б – подвергавшиеся беговой нагрузке в темное время суток (19.00–21.00 ч) – 7 животных. Группа С – время форсированной беговой нагрузки чередовалось (посменный режим тренировок): 1-я и 3-я нед в темное время суток (19.00–21.00 ч), 2-я и 4-я нед – в дневное время (8.00–10.00 ч) – 7 животных.

Для нормализации физической нагрузки использовали беговую дорожку для мышей BMELAB SID-TM10 [13]. Форсированные беговые нагрузки проводились в течение 4 нед 6 раз/нед, продолжительность нагрузки постепенно увеличивалась в течение первых 6 сут с 10 до 60 мин (увеличение на 10 мин/сут) и более не менялась в течение последующих 3 нед. Каждую неделю меняли угол подъема беговой дорожки (от 0 до 10°) и скорость ее вращения (от 15 до 18 м/мин). Раз в неделю нагрузку не выполняли (на 7-е сут). Массу тела каждого животного измеряли с помощью лабораторных весов. Измерения проводились 11 раз в течение 16 нед.

Забой подопытных животных проводили декапитацией через 24 ч после последней нагрузки. С обеих задних конечностей выделялись *m. gastrocnemius*, мышечная ткань очищалась от соединительной и жировой ткани. Из брюшной полости извлекалась печень, очищалась от окружающих тканей.

Гомогенизация мышечной и печеночной тканей проводилась следующим образом: перед лизированием ткань сначала нарезали скальпелем на стеклянной пластине, удерживаемой на льду, на маленькие кусочки размером около 1 мм. Затем их переносили в холодный 1X RIPA Buffer (137 мМ NaCl, 2,7 мМ KCl, 1 мМ $MgCl_2$, 0,5 мМ Na_3VO_4, 1% Triton X-100, 10%-й глицерол, 20 мМ Трис pH 7,8, 1 мкг/мл Leupeptin, 0,2 мМ PMSF, 10 мМ NaF, 1 мМ EDTA, 1 мМ DTT, 5 мМ Na pyrophosphate, Benzamidine 100 мМ 1 мМ 0,5 мл 1 мл) в пробирки с герметичными крышками и утолщенными стенками.

Использовали 50 мл буфера на 20 мг влажной мышечной ткани. Во время обработки материал хранился на льду. Затем в пробирки помещали металлические шарики диаметром 5 мм (Qiagen, Германия). Пробирки ставили в вихревой лабораторный миксер Digital Vortex-Genie 2 (Scientific Industries, Inc., США) на 15 мин при 4 °С. После чего оставляли на мини-ротор-шейкере (MP-1, Biosan, Латвия) в холодильнике на 1 ч. Затем центрифугировали при 13000 об/мин в течение 5 мин при 4 °С, после чего переносили прозрачный супернатант в новые пробирки с четкой маркировкой. Брали 30 мкл для определения концентрации тотального белка в пробе (методом Бредфорда).

В гомогенате тканей определялись следующие показатели. Мышечная ткань – гликоген, лактат, гликоген-синтаза (GYS1), фосфорилаза гликогена (PYGM). Ткань печени – гликогенсинтаза печени (GYS2), гликогенфосфорилаза печени (PYGL), липопротеины высокой плотности (HDL), липопротеины низкой плотности (LDL), липопротеины очень низкой плотности (VLDL), аланинаминотрансфераза (ALT), аспартатаминтрасфераза (AST).

Анализы проводились с помощью готовых наборов с использованием микропланшетного фотометра Anthos 2010 с программным обеспечением (Biochrom Ltd., Великобритания). Пробоподготовка, выполнение колориметрического анализа и расчеты полученных данных проводились согласно протоколу производителя. Получение гомогената ткани проводилось по схеме для образца весом менее 100 мг. Определение концентрации тотального белка в пробе проводилось модифицированным методом Бредфорда.

Электрофорез ПААГ проводили в денатурирующих условиях и согласно методу, описанному ранее (Laemmli, 1970), с 5%-м концентрирующим и 7%-м разделяющим гелями с использованием системы для проведения электрофореза (ячейка для электрофореза (Mini-PROTEAN Tetra, США), источник тока (PowerPacBasic, США)). Количество тотального белка, наносимого в каждую лунку, 7,5 мкг. С помощью системы для проведения блоттинга (Trans-Blot Turbo, США) белки переносили из геля на PVDF-мембрану (BioRad, США) с последующим блокированием 5%-м обезжиренным молоком (BioRad, США) в TBSt 1X (TBS с добавлением 0,1%-го tween 20) в течение 1 ч при комнатной температуре. Искомые белки определяли инкубацией при 4 °С в 5%-м сухом молоке в TBSt в течение ночи в разведении 1 : 1 000 с кроличьими поликлональными антителами против цитратсинтетазы (кат. № ab96600, abcam, Великобритания) и коктейлем с антителами Total OXPHOS

Rodent WB (кат. № ab110413, abcam, Великобритания), содержащим пять мышиных антител, по одному против субъединиц NDUFB8, SDHB, UQCRC2, MTCO1, ATP5A. Затем образец инкубировали с HRP-конъюгированным вторичным антителами (против мышиных антител кат. № 1706516, против кроличьих антител кат. № 1706515, BioRad, США) в течение 1 ч при комнатной температуре в 3%-м сухом молоке в TBSt. Комплексы «антиген – антитело» визуализировали с использованием набора ECL (SuperSigna West Dura, Thermo Scientific, США) и документирующей системы (ChemiDoc-It 2, UVP, Великобритания). Денситометрический анализ проводили с использованием программного обеспечения ImageJ.

Иммуноблоттинг. Белки переносили из геля на PVDF-мембрану (BioRad, США) в буфере для переноса (25 мМ трис – 192 мМ глицин (pH 8.3), 20%-й этанол) в течение 1,5 ч при силе тока 400 мА. Для проверки качества переноса белков на мембрану окрашивали красителем Ponceau S. Краситель обратимо связывался с белками, окрашивая их в красный цвет. Для подготовки мембраны к иммунохимическому окрашиванию ее промывали несколько раз в растворе TBS (50 мМ Трис; pH 7,4; 150 мМ NaCl). Далее проводили блокирование 5%-м сухим обезжиренным молоком (Valio, Финляндия), приготовленном на PBST (PBS с добавлением 0,1%-го tween 20). Блокировали в течение 1 ч при комнатной температуре и при постоянном перемешивании. Затем мембрану переносили в раствор TBST (50 мМ Трис; pH 7,4; 150 мМ NaCl; 0,1%-й tween 20), содержащий 5%-й БСА и первичные антитела (соотношение 1 : 1 000 по объему), и оставляли на 14–17 ч при 4 °C и постоянном перемешивании. Далее мембрану трехкратно промывали по 15 мин раствором TBST и после этого инкубировали при комнатной температуре при постоянном перемешивании в отдельной посуде 1 ч в 10 мл раствора TBST, содержащего 5%-е сухое обезжиренное молоко и вторичные антитела в соотношении 1 : 5 000, конъюгированные с пероксидазой из хрена. Затем мембрану промывали 3 раза раствором TBST в течение 15 мин.

Полосы образовавшихся комплексов белков с первичными и вторичными антителами на мембране визуализировали, используя метод усиленной хемилюминесценции (ECL), с помощью набора хемилюминесценции (SuperSigna West Dura, Thermo Scientific, США), проявляя мембраны на документирующей системе (ChemiDoc-It 2, UVP, Великобритания). Денситометрический анализ проводили с использованием программного обеспечения ImageJ.

Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета GraphPad Prism (академическая лицензия № 1531155, действует до 21.12.2024). Уровень значимости при проверке гипотезы принадлежности двух выборок к одной генеральной совокупности оценивали по критерию Краскела – Уоллиса, тесту ANOVA. Все данные имели ненормальное распределение признака. Для сравнения групп использовался двусторонний дисперсионный анализ с критерием множественного сравнения Тьюки и поправкой Холма – Сидака. Данные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха $Me\ (Q_1; Q_3)$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В предыдущей публикации [14] мы описали динамику массы тела мышей в процессе эксперимента. Уже начиная с 4-й нед, наблюдалось статистически значимое увеличение массы тела мышей, получавших жировую диету ($p < 0,05$). На 12-й нед различия между группой, находящейся на высокожировой диете, и группой, питающейся стандартным кормом, увеличились.

Начиная с 12-й нед, обе группы были разделены на четыре подгруппы, в которых воздействие физической нагрузки оказывалось в разное время суток (утром, вечером и попеременно утром и вечером). На 16-й нед (заключительной) эксперимента мы наблюдали, что в группах мышей на высокожировой диете, и мышей, которые питались нормальным кормом, показатели разницы по массе тела остались статистически значимы ($p < 0,05$).

У группы с жировым типом питания статистически значимые различия ($p < 0,05$) по массе тела с контрольной группой наблюдались у всех трех подгрупп, на которых оказывалось влияние физической нагрузки. Самой эффективной оказалась нагрузка с попеременным воздействием физической нагрузки. В данной группе масса тела ниже в 1,2 раза, чем в контрольной группе.

В первой части работы мы исследовали содержание гликогена, лактата, а также ферментов углеводного обмена в тканях скелетных мышц и печени. Содержание гликогена в мышцах у молодых животных, получавших жировую диету, снижалось на 20%. Физические нагрузки приводили к возрастанию содержания гликогена в мышечной ткани у мышей, получавших стандартную диету, и не влияли на данный показатель в группе животных, получавших жировую диету (табл. 1).

У возрастных животных содержание гликогена в мышечной ткани было ниже, чем у молодых, на 12%. Питание жировой диетой приводило к снижению данного показателя на 17%.

Таблица 1

Показатели углеводного обмена в тканях скелетных мышц и печени мышей, нг/мл, *Me* (Q_1; Q_3), *n* = 6

Диета	Возраст	Нагрузки	Скелетные мышцы				Печень	
			GYS1	PYGM	Гликоген	Лактат	GYS2	PYGL
Стандартная	Молодые	Контроль	2172,36 (2137,53; 2364,49)	2,2 (1,6; 2,9)	1,5 (1,47; 1,53)	5,7 (5; 6,35)	4385,71 (4257,14; 4814,29)	18,7 (16,5; 22)
		Утро	2590,34 (2335,28; 2638,65) $p_3 \leq 0,05$	1,6 (1,2; 1,8) $p_3 \leq 0,05$	1,78 (1,78; 1,78) $p_3 \leq 0,05$	5 (4,6; 5,2) $p_3 \leq 0,05$	4700 (4528,57; 4957,14) $p_3 \leq 0,05$	18,7 (15,95; 20,35)
		Вечер	2519,55 (2281,35; 2755,51) $p_4 \leq 0,05$	2 (1,8; 2,4) $p_6 \leq 0,05$	1,72 (1,69; 1,75) $p_4 \leq 0,05$	5,4 (5,1; 5,7)	4750 (4657,14; 4839,29) $p_4 \leq 0,05$	19,8 (18,84; 21,86)
		Shift	2574,61 (2518,43; 2668,99) $p_5 \leq 0,05$	1,4 (0,8; 1,9) $p_5 \leq 0,05$ $p_8 \leq 0,05$	1,78 (1,72; 1,83) $p_5 \leq 0,05$	5 (4,4; 5,6) $p_5 \leq 0,05$ $p_8 \leq 0,05$	4778,57 (4585,71; 4978,57) $p_5 \leq 0,05$	24,2 (23,1; 24,75) $p_5 \leq 0,05$ $p_7 \leq 0,05$ $p_8 \leq 0,05$
	Возрастные	Контроль	2184,72 (2063,37; 2270,11) =	1,2 (1,2; 1,6) $p_2 \leq 0,001$	1,33 (1,28; 1,5) $p_2 \leq 0,05$	4,4 (4; 4,8) $p_2 \leq 0,05$	5185,71 (5071,43; 5328,57) $p_2 \leq 0,05$	17,33 (15,81; 19,94) $p_2 \leq 0,05$
		Утро	2652,13 (2595,96; 2747,08) $p_3 \leq 0,05$	2,4 (2,2; 3) $p_2 \leq 0,01$ $p_3 \leq 0,001$	1,72 (1,31; 2,11) $p_3 \leq 0,05$	2 (1,9; 2,1) $p_2 \leq 0,001$ $p_3 \leq 0,001$	5457,14 (4857,14; 5671,43) $p_2 \leq 0,05$	19,25 (19,25; 19,8) $p_2 \leq 0,05$ $p_3 \leq 0,05$
		Вечер	2356,63 (2291,46; 2449,89) $p_2 \leq 0,05$ $p_4 \leq 0,05$	2,2 (2; 2,4) $p_4 \leq 0,05$	1,28 (1,19; 1,36) $p_2 \leq 0,05$ $p_6 \leq 0,05$	3 (2,8; 3,2) $p_2 \leq 0,05$ $p_4 \leq 0,05$ $p_6 \leq 0,05$	4900 (4757,14; 4914,29) $p_6 \leq 0,05$	17,6 (17,6; 19,8) $p_2 \leq 0,05$ $p_6 \leq 0,05$
		Shift	3155,51 (2974,04; 3194,27) $p_2 \leq 0,05$ $p_5 \leq 0,05$ $p_7 \leq 0,05$ $p_8 \leq 0,05$	2,8 (2,4; 3,2) $p_2 \leq 0,05$ $p_5 \leq 0,05$ $p_7 \leq 0,05$ $p_8 \leq 0,05$	1,78 (1,67; 2,03) $p_5 \leq 0,05$ $p_8 \leq 0,05$	2 (1,6; 2,8) $p_2 \leq 0,001$ $p_5 \leq 0,05$ $p_8 \leq 0,05$ $p_8 \leq 0,05$	5392,86 (5178,57; 5842,86) $p_2 \leq 0,05$ $p_8 \leq 0,05$	29,7 (29,15; 30,25) $p_2 \leq 0,05$ $p_5 \leq 0,01$ $p_7 \leq 0,01$ $p_8 \leq 0,01$
Жировая	Молодые	Контроль	2122,92 (2073,48; 2227,42)	4 (4; 5) $p_1 \leq 0,05$	1,22 (1,17; 1,28) $p_1 \leq 0,05$	5,2 (4,9; 5,53) $p_1 \leq 0,05$	4228,57 (3928,57; 4414,29)	22 (18,7; 23,24) $p_1 \leq 0,05$
		Утро	3100,45 (2761,12; 3165,62) $p_1 \leq 0,05$ $p_3 \leq 0,05$	2 (1,8; 2,8) $p_1 \leq 0,05$ $p_3 \leq 0,001$	1 (0,94; 1,06) $p_1 \leq 0,05$ $p_3 \leq 0,05$	3,2 (2,8; 3,7) $p_1 \leq 0,05$ $p_3 \leq 0,001$	4442,86 (4242,86; 4771,43) $p_1 \leq 0,05$	16,5 (16,5; 17,05) $p_1 \leq 0,05$ $p_3 \leq 0,05$
		Вечер	2963,37 (1947,64; 3173,48) $p_4 \leq 0,05$	2,6 (1,3; 2,2) $p_1 \leq 0,05$ $p_4 \leq 0,05$ $p_6 \leq 0,05$	1,22 (1,11; 1,33) $p_1 \leq 0,05$	4,2 (3,7; 4,7) $p_1 \leq 0,05$ $p_4 \leq 0,05$ $p_6 \leq 0,05$	4464,29 (3925; 4589,29) $p_4 \leq 0,05$	16,5 (15,4; 16,91) $p_1 \leq 0,05$ $p_4 \leq 0,05$
		Shift	2644,27 (2606,07; 2670,11) $p_7 \leq 0,05$ $p_8 \leq 0,05$	1,8 (0,9; 2,7) $p_5 \leq 0,05$	1,11 (1,06; 1,17) $p_1 \leq 0,05$	2,8 (1,8; 3,8) $p_1 \leq 0,05$ $p_5 \leq 0,05$ $p_7 \leq 0,05$ $p_8 \leq 0,05$	4892,86 (4696,43; 5221,43) $p_5 \leq 0,05$ $p_7 \leq 0,05$ $p_8 \leq 0,05$	17,6 (17,05; 19,25) $p_1 \leq 0,05$ $p_5 \leq 0,05$
	Возрастные	Контроль	2365,62 (2181,35; 2431,91)	2,8 (2,6; 3) $p_1 \leq 0,05$ $p_2 \leq 0,05$	1,0 (0,74; 1,28) $p_1 \leq 0,05$	4,4 (4,1; 4,8) $p_2 \leq 0,05$	5145,71 (5117,14; 5321,43) $p_2 \leq 0,05$	15,75 (14,06; 16,58) $p_1 \leq 0,05$ $p_2 \leq 0,05$
		Утро	2489,21 (2448,76; 2709,44) $p_2 \leq 0,05$	2,8 (2,2; 2,8) $p_2 \leq 0,05$	1,22 (0,89; 1,22) $p_1 \leq 0,05$	4,6 (3,9; 5,2) $p_1 \leq 0,05$ $p_2 \leq 0,05$	4985,71 (4707,14; 5250) $p_1 \leq 0,05$ $p_2 \leq 0,05$	15,4 (14,16; 15,95) $p_1 \leq 0,05$
		Вечер	2442,02 (2398,2; 2515,06)	2,6 (2,5; 2,7) $p_1 \leq 0,05$ $p_2 \leq 0,05$ $p_4 \leq 0,05$ $p_6 \leq 0,05$	1,27 (1,17; 2,5)	5 (4,2; 5,3) $p_1 \leq 0,05$ $p_2 \leq 0,05$ $p_4 \leq 0,05$	4814,29 (4575; 5042,86) $p_2 \leq 0,05$	15,68 (13,61; 17,15) $p_1 \leq 0,05$

Окончание табл. 1

Диета	Возраст	Нагрузки	Скелетные мышцы				Печень	
			GYS1	PYGM	Гликоген	Лактат	GYS2	PYGL
Жировая	Возрастные	Shift	2668,99 (2636,4; 2691,46) $p_1 \le 0,05$	2,2 (2,1; 2,3) $p_1 \le 0,05$ $p_2 \le 0,05$ $p_5 \le 0,05$ $p_7 \le 0,05$ $p_8 \le 0,05$	1,26 (1,04; 1,47) $p_1 \le 0,05$ $p_5 \le 0,05$	2,4 (2,4; 3,4) $p_1 \le 0,05$ $p_2 \le 0,05$ $p_5 \le 0,01$ $p_7 \le 0,001$ $p_8 \le 0,001$	4771,43 (4621,43; 4957,14) $p_1 \le 0,05$ $p_5 \le 0,05$	19,8 (18,7; 23,65) $p_1 \le 0,05$ $p_5 \le 0,05$ $p_7 \le 0,05$ $p_8 \le 0,05$

Примечание. Здесь и в табл. 2: p_1 – достоверность различий между группами, получавшими стандартную и жировую диету; p_2 – достоверность различий между группами молодых и возрастных мышей; p_3 – достоверность различий между группами контроля и получавших нагрузку в утренние часы; p_4 – достоверность различий между группами контроля и получавших нагрузку в вечерние часы; p_5 – достоверность различий между группами контроля и получавших нагрузку в переменном режиме (shift); p_6 – достоверность различий между группами, получавшими нагрузку в утренние и вечерние часы; p_7 – достоверность различий между группами, получавшими нагрузку в вечерние часы и в переменном режиме (shift).

В обеих группах физическая нагрузка, предъявляемая утром или в переменном режиме, способствовала возрастанию содержания гликогена, тогда как предъявляемая в вечернее время не влияла на данный показатель (см. табл. 1).

Содержание лактата в мышцах у молодых животных, получавших жировую диету, снижалось на 9%. Регулярные физические нагрузки приводили к снижению содержания лактата в мышечной ткани у обеих групп молодых мышей. В группе животных, получавших жировую диету, снижение было выражено в большей степени и при переменном режиме нагрузки достигало 50% (см. табл. 1). У возрастных животных содержание лактата в мышечной ткани было ниже, чем у молодых, на 25%, в то же время питание жировой диетой не влияло на содержание лактата. В группе животных, получавших стандартную диету, регулярные физические нагрузки приводили к снижению содержания лактата в мышцах в 1,5–2 раза (более выражен был эффект нагрузок, предъявляемых утром или в переменном режиме). У возрастных мышей, получавших жировую диету, физическая нагрузка в переменном режиме способствовала снижению содержания лактата вдвое, тогда как предъявляемая в утреннее или вечернее время не влияла на данный показатель (см. табл. 1).

Изменение содержания гликогенсинтазы в тканях мышц и печени в целом носило сходный характер (см. табл. 1). У молодых животных, получавших жировую диету, содержание данного фермента не изменялось ни в ткани мышц, ни в ткани печени. В то же время физические нагрузки приводили к существенному увеличению содержания фермента в обеих тканях, причем наибольший эффект имели нагрузки, предъявляемые в переменном режиме. У возрастных животных жировая диета также не оказывала влияние на содержание гликогенсинтазы, однако эффекты физических нагрузок различались.

В группе животных, получавших стандартную диету, содержание фермента существенно увеличивалось как в мышечной, так и в печеночной ткани. В то же время у возрастных животных, получавших стандартную диету, содержание гликогенсинтазы увеличивалось в мышечной ткани, но снижалось в ткани печени. В обоих случаях наибольший эффект оказывали нагрузки, применяемые в переменном режиме.

Изменение содержания гликогенфосфорилазы в тканях мышц и печени, напротив, имело целый ряд существенных различий (см. табл. 1). У молодых животных, получавших стандартную диету, физические нагрузки приводили к существенному увеличению содержания фермента в печени и к снижению в мышечной ткани, причем наибольший эффект имели нагрузки, предъявляемые в переменном режиме. У молодых животных, получавших жировую диету, содержание данного фермента вдвое возрастало в мышечной ткани и всего на 10% в ткани печени. В то же время физические нагрузки приводили к существенному увеличению содержания фермента в мышцах, тогда как в печени его содержание, напротив, снижалось. У возрастных животных жировая диета не оказывала влияние на содержание гликогенфосфорилазы в мышцах, тогда как в печени наблюдалось снижение на 12%. Регулярные физические нагрузки приводили к увеличению содержания фермента в обоих типах тканей, однако в группе животных, получавших стандартную диету, эффект физических нагрузок был выражен в большей степени. Здесь также наибольший эффект оказывали нагрузки, применяемые в переменном режиме.

Во второй части работы мы исследовали содержание липопротеинов высокой, низкой и очень низкой плотности в ткани печени у мышей, а также содержание аминотрансфераз ALT, AST (табл. 2).

Таблица 2

Показатели липидного обмена и содержание аминотрансфераз в ткани печени мышей, нг/мл, *Me* (Q_1; Q_3), $n = 6$

Диета	Возраст	Нагрузки	HDL	LDL	VLDL	ALT	AST
Стандартная	Молодые	Контроль	2053 (1771,7; 2420)	1390,8 (1367,8; 1436,8)	6338,4 (5294,2; 7581)	101,6 (85,6; 108,4)	308,8 (306; 332,4)
		Утро	1800 (1540; 1020) $p_3 \le 0,05$	1282,8 (1282,8; 1340,2) $p_3 \le 0,05$	4330,8 (3691,2; 4893,2) $p_3 \le 0,05$	126,2 (114,7; 140,7) $p_3 \le 0,05$	378 (377,2; 398,2) $p_3 \le 0,05$
		Вечер	1673,8 (1554,3; 1877,9) $p_4 \le 0,05$ $p_6 \le 0,05$	1308,1 (1276,15; 1352,9)	5956 (4698,6; 6926,6) $p_6 \le 0,05$	118 (103,5; 128,4) $p_4 \le 0,05$	323,4 (296,6; 369,4) $p_6 \le 0,05$
		Shift	968,8 (937,6; 1234,4) $p_5 \le 0,05$ $p_7 \le 0,05$ $p_8 \le 0,05$	1298,9 (1273; 1344,85) $p_5 \le 0,05$ $p_8 \le 0,05$	4691,2 (4180,2; 5250) $p_5 \le 0,05$ $p_8 \le 0,05$	154,8 (128,4; 172,4) $p_5 \le 0,05$ $p_7 \le 0,05$ $p_8 \le 0,05$	392,8 (342,8; 397,2) $p_5 \le 0,05$ $p_8 \le 0,05$
	Возрастные	Контроль	1674 (1586,8; 1739,2) $p_2 \le 0,001$	2057,4 (2051,7; 2235,6) $p_2 \le 0,001$	7544,2 (6672,8; 8099,4) $p_2 \le 0,05$	72 (59,2; 82,8) $p_2 \le 0,05$	188,8 (166,4; 192,8) $p_2 \le 0,001$
		Утро	1858,6 (1755,4; 1907,5) $p_3 \le 0,05$	1155,1 (1054,55; 1272,95) $p_2 \le 0,05$ $p_3 \le 0,05$	5985,2 (4930; 6014,7) $p_2 \le 0,05$ $p_3 \le 0,05$	63,6 (60,6; 67,8) $p_2 \le 0,05$ $p_3 \le 0,05$	160 (134,4; 187,6) $p_2 \le 0,05$
		Вечер	1674 (1608,8; 1717,2) $p_6 \le 0,05$	1120,7 (1040,25; 1281,6) $p_2 \le 0,05$ $p_4 \le 0,05$	6058,8 (5573,6; 6110,2) $p_4 \le 0,05$	84,4 (169,1; 199,4) $p_2 \le 0,05$ $p_4 \le 0,05$ $p_6 \le 0,05$	168 (156,2; 180,4) $p_2 \le 0,05$ $p_4 \le 0,05$
		Shift	2120 (1932,4; 2140) $p_2 \le 0,01$ $p_5 \le 0,05$ $p_7 \le 0,05$ $p_8 \le 0,05$	1195,4 (1103,5; 1290,2) $p_5 \le 0,05$	4279,4 (3558,7; 4853,1) $p_2 \le 0,05$ $p_5 \le 0,05$ $p_7 \le 0,05$ $p_8 \le 0,05$	93,6 (83,4; 97,6) $p_2 \le 0,05$ $p_5 \le 0,05$ $p_7 \le 0,05$ $p_8 \le 0,05$	192,2 (182,5; 236,2) $p_5 \le 0,05$ $p_7 \le 0,05$ $p_8 \le 0,05$
Жировая	Молодые	Контроль	1630,6 (1540,3; 1699,1) $p_1 \le 0,05$	1602,2 (1567,8; 1648,2) $p_1 \le 0,05$	7029,6 (6956; 7382,4) $p_1 \le 0,05$	133,8 (123,3; 159,8) $p_1 \le 0,05$	324,4 (305,6; 347,2) $p_1 \le 0,05$
		Утро	1708,8 (1632,6; 1774) $p_1 \le 0,05$	1247,2 (1181,1; 1324,75) $p_3 \le 0,01$	5073,6 (5029,4; 6308,8) $p_1 \le 0,05$ $p_3 \le 0,001$	100,4 (94,1; 103,3) $p_3 \le 0,05$	243,2 (240,4; 257,2) $p_1 \le 0,05$ $p_3 \le 0,05$
		Вечер	1741,2 (1681,5; 1789) $p_4 \le 0,05$	1396,5 (1281,55; 1497,1) $p_4 \le 0,05$	6647 (6022; 6988,9) $p_1 \le 0,05$ $p_4 \le 0,05$ $p_6 \le 0,05$	119,2 (104,5; 129,9) $p_4 \le 0,05$ $p_6 \le 0,05$	316 (280,8; 332,4) $p_6 \le 0,05$
		Shift	1752 (1710,8; 1795,3) $p_1 \le 0,05$ $p_5 \le 0,05$	1206,9 (1181,05; 1224,15) $p_5 \le 0,05$ $p_8 \le 0,05$	4926,4 (4625; 6213,2) $p_5 \le 0,05$ $p_8 \le 0,05$	99,2 (94,8; 108,4) $p_1 \le 0,05$ $p_5 \le 0,05$ $p_8 \le 0,05$	231,2 (213,9; 243,1) $p_1 \le 0,05$ $p_5 \le 0,05$ $p_8 \le 0,05$
	Возрастные	Контроль	1439,2 (1409,2; 1550) $p_1 \le 0,05$ $p_2 \le 0,05$	2811,4 (2711,4; 3083,25) $p_1 \le 0,05$ $p_2 \le 0,05$	8088,4 (7639,8; 9051,6) $p_2 \le 0,05$	98,6 (92,9; 101,6) $p_1 \le 0,05$ $p_2 \le 0,05$	178,2 (156,3; 205,4) $p_2 \le 0,05$
		Утро	1695,6 (1489,2; 1695,6) $p_1 \le 0,05$ $p_3 \le 0,05$	2195,4 (2091,9; 2264,35) $p_1 \le 0,01$ $p_2 \le 0,05$ $p_3 \le 0,05$	6558,8 (6492,6; 6945,6) $p_2 \le 0,05$ $p_3 \le 0,05$	84,2 (69,8; 93,6) $p_1 \le 0,05$ $p_2 \le 0,05$ $p_3 \le 0,05$	175,6 (174,6; 176,6) $p_2 \le 0,05$
		Вечер	1674 (1625,1; 1695,7) $p_4 \le 0,05$	2172,4 (2155,2; 2287,3) $p_1 \le 0,05$ $p_2 \le 0,05$ $p_4 \le 0,05$	7257,4 (7005,9; 7393,4) $p_1 \le 0,05$ $p_4 \le 0,05$ $p_6 \le 0,05$	77,2 (73,8; 86) $p_1 \le 0,05$ $p_2 \le 0,05$ $p_4 \le 0,05$ $p_6 \le 0,05$	185 (164,5; 207,7) $p_2 \le 0,05$

Окончание табл. 2

Диета	Возраст	Нагрузки	HDL	LDL	VLDL	ALT	AST
		Shift	2000 (1934,8; 2040) $p_2 \le 0,05$ $p_5 \le 0,05$ $p_7 \le 0,05$ $p_8 \le 0,05$	2092 (2063,2; 2155,2) $p_1 \le 0,05$ $p_2 \le 0,05$ $p_5 \le 0,05$	5132,4 (4500; 5577,2) $p_1 \le 0,05$ $p_5 \le 0,05$ $p_7 \le 0,05$ $p_8 \le 0,05$	77,2 (77,2; 80) $p_1 \le 0,05$ $p_2 \le 0,05$ $p_5 \le 0,05$ $p_7 \le 0,05$	188,4 (181; 198,9) $p_2 \le 0,05$

У молодых мышей, получавших жировую диету, содержание HDL в печени снижалось на 20%, тогда как содержание LDL и VLDL возрастало на 15 и 10% соответственно. Физические нагрузки приводили к достоверному снижению всех трех показателей у мышей, получавших стандартную диету. У животных, получавших жировую диету, мы наблюдали некоторое увеличение содержания HDL в печени наряду с достоверным снижением LDL и VLDL под влиянием физических нагрузок (см. табл. 2). Во всех случаях наибольший эффект оказывали нагрузки, применяемые в утренние часы и в переменном режиме.

У возрастных мышей содержание HDL в печени несколько ниже, а содержание LDL и VLDL, напротив, несколько выше, чем у молодых животных. Эффекты физических нагрузок в группах возрастных животных были выражены в большей степени, чем у молодых мышей.

Содержание HDL в печени возрастало в 1,5 раза, а содержание LDL и VLDL снижалось, причем снижение VLDL было более существенным – в некоторых случаях – в 2 раза (см. табл. 2). Традиционно наиболее эффективными были нагрузки, применяемые в утренние часы и в переменном режиме.

У молодых мышей, получавших жировую диету, содержание ALT и AST в печени возрастало на 30 и 5% соответственно. Физические нагрузки приводили к существенному увеличению содержания обоих ферментов в печени у мышей, получавших стандартную диету. При применении нагрузок в переменном режиме прирост составлял 30–50%. В то же время у животных, получавших жировую диету, мы наблюдали снижение содержания данных ферментов в ткани печени в 1,5 раза. Здесь также наибольший эффект наблюдался при применении нагрузок в переменном режиме (см. табл. 2).

У возрастных мышей мы наблюдали значительное снижение содержания ALT и AST в печени. У животных, получавших жировую диету, несколько увеличивалось содержание ALT в печени. Физические нагрузки у мышей, получавших стандартную диету, приводили к разнонаправленным эффектам. Нагрузки, применяемые в утренние часы, способствовали снижению содержания обоих ферментов в ткани печени, тогда как нагрузки, применяемые в переменном режиме – напротив, к значительному увеличению (см. табл. 2). У возрастных животных, получавших жировую диету, физические нагрузки приводили к снижению содержания ALT и возрастанию содержания AST, наиболее были выражены эффекты нагрузок, применяемых в переменном режиме.

ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные результаты свидетельствуют, что использование высокожировой диеты у мышей приводит к увеличению массы тела и формированию ожирения (масса тела более чем на 25% выше, чем в контрольной группе). Принудительные физические нагрузки в виде ежедневного бега на тредмиле оказывают выраженный эффект на метаболизм у мышей с моделью СД2. Прежде всего, это проявляется в снижении массы тела животных и зависит от времени суток, в которое выполняется нагрузка.

Как мы уже упоминали выше, печень играет важную роль в регуляции углеводного и липидного обмена и, как следствие, становится мишенью патологических процессов при их нарушении, в первую очередь, при СД2 [15]. Мышцы содержат самый большой резервуар гликогена, депо которого тщательно регулируется и влияет на чувствительность к инсулину. В нашем исследовании мы зафиксировали снижение содержания гликогена в мышцах при развитии метаболических расстройств. Важно, что на фоне жировой диеты физические упражнения не способны восстановить депо гликогена, тогда как у животных, получавших стандартную диету, на фоне регулярной физической нагрузки запасы гликогена в мышцах существенно возрастают. По данным J. He, D.E. Kelley, снижение гликогена в мышцах коррелирует со снижением окислительной способности митохондрий и накоплением липидов в мышечной ткани, а также непосредственно связано с уровнем инсулинорезистентности [16]. Непропорциональность этих взаимосвязей может играть определенную роль в патогенезе внутриклеточных ме-

таболических расстройств при СД2. В то же время наблюдаемые изменения лактата после регулярных физических нагрузок, по всей вероятности, связаны с тренировочным эффектом на сердечно-сосудистую систему и слабо связаны с метаболическими перестройками в мышечной ткани.

Снижение содержания гликогена, по всей видимости, в большей степени связано с активацией процессов его распада, чем со снижением синтеза. Об этот свидетельствует тот факт, что содержание гликогенсинтазы как в мышцах, так и в печени не изменялось при формировании метаболических расстройств у мышей, зато увеличивалось при физических нагрузках, причем в большей степени у здоровых животных. Таким образом, данный фермент в большей степени действует при физических нагрузках, чем при патогенезе метаболических расстройств.

Зато значительные и разнонаправленные изменения фиксировались в содержании гликогенфосфорилазы в ткани печени и скелетных мышц. На эти изменения существенное влияние оказывали и характер питания, и физические нагрузки. По всей вероятности, данный фермент вовлекается как в механизмы развития патологических процессов, так и в механизмы адаптивных эффектов двигательной активности. Об этом свидетельствуют часто противоположно направленные изменения содержания гликогенфосфорилазы в мышечной и печеночной ткани при физических нагрузках.

Механизмы выявленных различий реакции углеводного обмена на физическую нагрузку у здоровых животных и животных с СД2 могут быть связаны с перестройкой механизмов экспрессии генов при метаболических нарушениях. Так, анализ путей дифференциально регулируемых генов при физической нагрузке выявил усиление регуляторов GLUT4 (SLC2A4RG, FL0T1, EXOC7, RAB13, RABGAP1 и CBLB), гликолиза (HK2, PFKFB1, PFKFB3, PFKM, FBP2 и LDHA) и медиаторов сигнала инсулина у больных диабетом лиц по сравнению со здоровыми [17]. Примечательно, что больные СД2 также продемонстрировали вызванную физической нагрузкой компенсаторную регуляцию генов, участвующих в биосинтезе и метаболизме аминокислот (PSPH, GATM, NOS1 и GLDC), которая реагировала на различия в аминокислотном профиле (последовательно более низкие уровни глицина, цистеина и аргинина в плазме).

Выше мы уже упоминали о тесной связи СД2 с нарушениями липидного обмена в печени. Данные расстройства синергически способствуют прогрессированию друг друга. В этой связи задействовано несколько патофизиологических путей, включая резистентность к инсулину, воспаление и липотоксичность [3]. Наши результаты хорошо соотносятся с данной точкой зрения – развитие экспериментального СД2 у мышей сопровождалось снижением содержания HDL в печени параллельно с возрастанием LDL и VLDL. Важно, что физические нагрузки обеспечивали частичную нормализацию соотношения липидных фракций, несмотря на то что выполнялись они на фоне продолжающейся жировой диеты. Таким образом, можно утверждать, что физическая активность способна частично нивелировать патологические эффекты жировой диеты даже без коррекции режима питания.

Механизм такого эффекта можно связать с усилением продукции противовоспалительных миокинов под влиянием физической нагрузки, которые способны обеспечить блокаду факторов хемотаксиса, таких как хемотрактантный белок-1 моноцитов и (или) блокаду провоспалительных медиаторов, таких как IL-1β, TNFα, висфатин и ингибитор активатора плазминогена-1 и (или) повышенный синтез адипокинов, таких как адипонектин и апелин [17].

Важным аспектом наших результатов являются выявленные многочисленные различия в возрастном аспекте – в группе возрастных мышей метаболические перестройки, вызванные как моделированием СД2, так и физическими нагрузками, носили не только количественный, но в некоторых случаях качественный характер. В целом просматривается вполне ожидаемая зависимость – в группе возрастных животных нарушения со стороны углеводного и липидного обмена были более выражены, а корригирующий эффект физических нагрузок в большинстве случаев был слабее [18]. Однако мы зафиксировали целый ряд исключений, отличающих возрастных животных от молодых: например снижение содержание гликогенсинтазы и возрастание гликогенфосфорилазы в ткани печени. Также качественные различия были выявлены со стороны аминотрансфераз печени.

Интерес представляет тот факт, что эффекты физических нагрузок на содержание липидных фракций в печени в группах возрастных животных были выражены в большей степени, чем у молодых мышей. В свете высказанной выше гипотезы о роли миокинов и адипокинов в этих процессах можно предположить, что данная особенность может быть связана с большим объемом жировой ткани у возрастных животных.

Объяснение выявленных различий может быть связано с особенностями транскрипции мышечных генов в ответ на физическую нагрузку. В работе U. Raue и соавт. выявлен 661 ген, экспрессия

которых различалась при выполнении нагрузки с отягощениями у молодых и пожилых людей [19].

Наибольший интерес вызывают результаты, свидетельствующие о существенном различии эффектов физических нагрузок, применяемых в разное время суток, на метаболические процессы в печени и мышечной ткани. Практически во всех случаях наименьшим эффектом обладали нагрузки, применяемые в вечерние часы, т. е. в период естественной активности грызунов. Эффекты в период низкой активности (утро) чаще всего были выше, но наибольшим эффектом обладали физические нагрузки, применяемые в переменном режиме (shift) – в течение недели утром и в течение недели вечером. Нужно отметить, что аналогичные закономерности мы описывали ранее и для эффектов физических нагрузок на массу тела и инсулинотолерантность [14].

В литературе мало работ, посвященных роли циркадных ритмов в эффектах физических нагрузок вообще, а относительно метаболических расстройств они вообще единичны. Поэтому сложившейся точки зрения о механизмах этого влияния пока нет. Ряд авторов связывают это с эффектом стресса, так как больший эффект присущ нагрузкам, выполняемым в непривычное время. Частично эта гипотеза соотносится с нашими данными по содержанию кортизола в сыворотке у мышей [20].

В то же время в работе [11] показано, что циркадную ритмичность в толерантности к инсулину наблюдали также в сигнальных путях, регулирующих инсулин- и индуцированное физической нагрузкой поглощение глюкозы в скелетных мышцах, включая AKT, 5’-аденозинмонофосфат-активируемую протеинкиназу (AMPK) и фосфорилирование семейства доменов TBC1 4. Базальное и стимулированное инсулином поглощение глюкозы скелетными мышцами и жировыми тканями *in vivo* также различалось в дневное и ночное время. Однако ритмичность поглощения глюкозы отличалась от ритма толерантности к инсулину в целом. Как чувствительность к инсулину, так и передача сигналов изолированных скелетных мышц достигли максимума в темный период. Эти результаты свидетельствуют, что механизмы циркадной ритмичности углеводного обмена не могут ограничиваться только фактором стресса.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные результаты позволяют сделать несколько важных выводов.

Снижение содержания гликогена в мышцах при СД2 в большей степени связано с активацией процессов его распада, чем со снижением синтеза. Об этот свидетельствует тот факт, что содержание гликогенсинтазы как в мышцах, так и в печени не изменялось при формировании метаболических расстройств у мышей, зато увеличивалось при физических нагрузках, причем в большей степени у здоровых животных.

Значительные и разнонаправленные изменения фиксировались в содержании гликогенфосфорилазы в ткани печени и скелетных мышц, на эти изменения существенное влияние оказывали и характер питания, и физические нагрузки. По всей вероятности, данный фермент вовлекается как в механизмы развития патологических процессов, так и в механизмы адаптивных эффектов двигательной активности.

Развитие экспериментального СД2 у мышей сопровождается снижением содержания HDL в печени параллельно с возрастанием LDL и VLDL. Важно, что физические нагрузки обеспечивали частичную нормализацию соотношения липидных фракций, несмотря на то что выполнялись они на фоне продолжающейся жировой диеты. Таким образом, можно утверждать, что физическая активность способна частично нивелировать патологические эффекты жировой диеты даже без коррекции режима питания.

В группе возрастных мышей метаболические перестройки, вызванные как моделированием СД2, так и физическими нагрузками, носили не только количественный, но в некоторых случаях качественный характер. В целом просматривается вполне ожидаемая зависимость – в группе возрастных животных нарушения со стороны углеводного и липидного обмена были более выражены, а корригирующий эффект физических нагрузок в большинстве случаев был слабее. Однако мы зафиксировали целый ряд исключений, отличающих возрастных животных от молодых.

Эффекты физических нагрузок, применяемых в разное время суток, на метаболические процессы в печени и мышечное ткани, значительно различаются. Практически во всех случаях наименьшем эффектом обладали нагрузки, применяемые в вечерние часы, т. е. в период естественной активности грызунов. Эффекты в период низкой активности (утро) чаще всего были выше, но наибольшим эффектом обладали физические нагрузки, применяемые в переменном режиме (shift) – в течение недели утром и в течение недели вечером.

Полученные результаты позволяют заключить, что физические нагрузки могут выступать средством профилактики не только непосредственно метаболических нарушений (ожирение и инсулинорезистентность), но и сопутствующих осложнений со стороны печени и в дальнейшем сердечно-сосудистой системы. За счет частичной нормализации параметров

углеводного, а также липидного обмена, физические нагрузки по все вероятности способны снизить риск как жировой патологии печени, так и сосудистых расстройств.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Ouyang G., Wang N., Tong J., Sun W., Yang J., Wu G. Alleviation of taurine on liver injury of type 2 diabetic rats by improving antioxidant and anti-inflammatory capacity. *Heliyon.* 2024;10(7):E28400. DOI: 10.1016/j.heliyon.2024.e28400.
2. Кляритская И.Л., Максимова Е.В. Поражение печени у пациентов с сахарным диабетом. *Крымский терапевтический журнал*. 2010;2(2):8–13.
3. Fujimaki S., Kuwabara T. Diabetes-induced dysfunction of mitochondria and stem cells in skeletal muscle and the nervous system. *Int. J. Mol. Sci*. 2017;18(10):2147. DOI: 10.3390/ijms18102147.
4. Højlund K. Metabolism and insulin signaling in common metabolic disorders and inherited insulin resistance. *Dan. Med. J.* 2014;61(7):B4890.
5. Barrera F., Uribe J., Olvares N., Huerta P., Cabrera D., Romero-Gómez M. The Janus of a disease: Diabetes and metabolic dysfunction-associated fatty liver disease. *Ann. Hepatol.* 2024;9(4):101501. DOI: 10.1016/j.aohep.2024.101501.
6. Капилевич Л.В., Захарова А.Н., Дьякова Е.Ю., Кироненко Т.А., Милованова К.Г., Калинникова Ю.Г., Чибалин А.В. Экспериментальная модель сахарного диабета II типа у мышей на основе диеты с избыточным содержанием жиров. *Бюллетень сибирской медицины*. 2019;18(3):53–61. DOI: 10.20538/1682-0363-2019-3-53-61.
7. Nagy C., Einwallner E. Study of In vivo glucose metabolism in high-fat diet-fed mice using oral glucose tolerance test (OGTT) and insulin tolerance test (ITT). *J. Vis. Exp*. 2018;7(131):1–12. DOI: 10.3791/56672.
8. Winzell M.S., Ahren B. The high-fat diet-fed mouse: a model for studying mechanisms and treatment of impaired glucose tolerance and type 2 diabetes. *Diabetes.* 2004;53(3):S215–S219. DOI: 10.2337/diabetes.53.suppl_3.s215.
9. Brinkmann C., Schwinger R.H., Brixius K. Physical activity and endothelial dysfunction in type 2 diabetic patients: the role of nitric oxide and oxidative stress. *Wien. Med. Wochenschr.* 2011;161(11-12):305–314. DOI: 10.1007/s10354-011-0868-8.
10. Karstoft K., Pedersen B.K. Exercise and type 2 diabetes: focus on metabolism and inflammation. *Immunol. Cell Biol.* 2016;94:146–150. DOI: 10.1038/icb.2015.101.
11. Basse A.L., Dalbram E., Larsson L., Gerhart-Hines Z., Zierath J.R. Treebak J.T. Skeletal muscle insulin sensitivity show circadian rhythmicity which is independent of exercise training status. *Front. Physiol.* 2018;9:1198. DOI: 10.3389/fphys.2018.01198.
12. Zakharova A.N., Kalinnikova Y., Negodenko E.S., Orlova A.A., Kapilevich L.V. Experimental simulation of cyclic training loads. *Teor. Prakt. Fizich. Kult.* 2020;10:26–27.
13. Zakharova A.N., Milovanova K.G., Orlova A.A., Dyakova E.Y., Kalinnikova J.G., Kollantay O.V. et al. Effects of treadmill running at different light cycles in mice with metabolic disorders. *Int. J. Mol. Sci*. 2023;24:15132. DOI: 10.3390/ijms242015132.
14. Мохорт Т.В. Дислипидемия и сахарный диабет: новые данные. *Медицинские новости*. 2021;9:9–55.
15. He J., Kelley D.E. Muscle glycogen content in type 2 diabetes mellitus. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab*. 2004;287(5):1002–1007. DOI: 10.1152/ajpendo.00015.2004.
16. Hansen J.S., Zhao X., Irmler M., Liu X., Hoene M., Scheler M. et al. Type 2 diabetes alters metabolic and transcriptional signatures of glucose and amino acid metabolism during exercise and recovery. *Diabetologia*. 2015;58(8):1845–1854. DOI: 10.1007/s00125-015-3584-x.
17. Varra F.N., Varras M., Varra V.K., Theodosis-Nobelos P. Molecular and pathophysiological relationship between obesity and chronic inflammation in the manifestation of metabolic dysfunctions and their inflammation-mediating treatment options (Review). *Mol. Med. Rep.* 2024;29(6):95. DOI: 10.3892/mmr.2024.13219.
18. Meneilly G.S. Pathophysiology of diabetes in the elderly. In: Diabetes in old age. *John Wiley & Sons.* 2001;155–164. DOI: 10.1002/0470842326.ch2.
19. Raue U., Trappe T.A., Estrem S.T., Qian H-R., Helvering L.M., Smith R.C. et al. Transcriptomic signature of resistance exercise adaptations: mixed muscle and fiber type specific profiles in young and old adults. *J. Appl. Physiol* 2012;112:1625–1636. DOI: 10.1152/japplphysiol.00435.2011.
20. Zakharova A.N., Milovanova K.G., Orlova A.A., Kollantay O.V., Shuvalov I.Yu., Kapilevich L.V. Influence of light stress on the metabolic effects of runing loads in mice with a model of diabetes mellitus type II. *Journal of Stress Physiology & Biochemistry.* 2023;19(3):152–159. URL: https://sciup.org/143180562

Вклад авторов

Милованова К.Г., Захарова А.Н. – существенный вклад в концепцию и дизайн работы, анализ и интерпретация данных исследования, написание текста статьи. Коллантай О.В., Орлова А.А., Шувалов И.Ю., Попов С.А. – существенный вклад в сбор, анализ данных для работы, обработка и интерпретация результатов. Ковалев И.В., Медведев М.А., Якимович И.Ю., Чибалин А.В. – существенный вклад в анализ данных, обработка и интерпретация результатов, редактирование текста. Капилевич Л.В. – научное руководство, концепция исследования, редактирование текста, окончательное утверждение версии для публикации.

Информация об авторах

Милованова Ксения Геннадьевна – канд. биол. наук, доцент кафедры спортивно-оздоровительного туризма, спортивной физиологии и медицины, НИ ТГУ, г. Томск, naffys@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-3038-3298

Захарова Анна Николаевна – канд. биол. наук, доцент кафедры спортивно-оздоровительного туризма, спортивной физиологии и медицины факультета физической культуры, НИ ТГУ, г. Томск, azakharova91@gmail.com, https://orcid.org/0000-0003-1102-2830

Орлова Анна Алексеевна – аспирант, кафедра спортивно-оздоровительного туризма, спортивной физиологии и медицины, НИ ТГУ, г. Томск, anna.orlova.96@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-9886-9454

Коллантай Олеся Вадимовна – аспирант, кафедра спортивно-оздоровительного туризма, спортивной физиологии и медицины, НИ ТГУ, г. Томск, olesya.tay@mail.ru, https://orcid.org/0009-0001-2445-0124

Шувалов Игорь – аспирант, кафедра спортивно-оздоровительного туризма, спортивной физиологии и медицины, НИ ТГУ, г. Томск, oleg-100500-lol@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-1096-807X

Попов Сергей Андреевич – аспирант, кафедра спортивно-оздоровительного туризма, спортивной физиологии и медицины, НИ ТГУ, г. Томск, sergeyup9@mail.ru, https://orcid.org/0009-0005-7820-4411

Медведев Михаил Андреевич – д-р мед. наук, профессор, академик РАН, профессор кафедры нормальной физиологии, СибГМУ, г. Томск, nphys@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0002-5443-0271

Ковалев Игорь Викторович – д-р мед. наук, профессор, кафедра биофизики и функциональной диагностики, СибГМУ, г. Томск, kovalew@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-9269-0170

Якимович Инесса Юрьевна – д-р мед. наук, доцент, зав. кафедрой гигиены, СибГМУ, г. Томск, yakimovich.ij@ssmu.ru, https://orcid.org/0000-0002-7485-5920

Чибалин Александр Валерьевич – канд. биол. наук, доцент кафедры спортивно-оздоровительного туризма, спортивной физиологии и медицины, НИ ТГУ, г. Томск, alexander.chibalin@ki.se https://orcid.org/0000-0002-6339-6271

Капилевич Леонид Владимирович – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой спортивно-оздоровительного туризма, спортивной физиологии и медицины факультета физической культуры, НИ ТГУ; ст. науч. сотрудник, ЦНИЛ, СибГМУ; профессор отделения физической культуры, НИ ТПУ, г. Томск, kapil@yandex.ru, http://orcid.org/0000-0002-2316-576X

(✉) **Капилевич Леонид Владимирович,** kapil@yandex.ru

Поступила в редакцию 25.07.2024;
одобрена после рецензирования 08.08.2024;
принята к публикации 12.09.2024