

Вплив альфа-кетоглютарату на толерантність до глюкози та накопичення вісцерального жиру у мишей на тлі висококалорійної кафетерійної їжі

Ватащук М.В.^{*}, Дем'янчук О.І., Байляк М.М.

ДВНЗ «Прикарпатський національний університет імені Василя Стефаника», Івано-Франківськ, Україна

^{*}Е-mail: vataschuk2016@ukr.net

Ключові слова:

- висококалорійна кафетерійна їжа
- альфа-кетоглютарат
- миші

Анотація

Висококалорійна їжа є однією з причин ожиріння – хронічного метаболічного порушення, яке збільшує ризик розвитку інсуліно-резистентності та цукрового діабету другого типу. У цій роботі ми моделювали експериментальне ожиріння у мишей лінії C57BL/6J за споживання висококалорійної кафетерійної їжі з високим вмістом вуглеводів та жирів (45% енергії від жирів) протягом 12 тижнів. Також було досліджено здатність альфа-кетоглютарату (АКГ), ключового інтермедіату циклу Кребса, покращувати толерантність до глюкози та коригувати ожиріння у мишей на тлі висококалорійної їжі. Виявлено, що кафетерійна їжа викликає ожиріння у мишей, підвищує концентрацію глюкози у крові та вміст вісцерального жиру у тілі. Споживання АКГ, який додавався у формі 1%-го розчину до питної води протягом чотирьох останніх тижнів експерименту, чинить коригувальну дію на тлі висококалорійної дієти: нормалізує масу тіла, знижує вміст вісцерального жиру та повертає до контрольного рівня вміст глюкози у крові мишей. Обговорюються потенційні механізми дії АКГ як міметика калорійного обмеження.

Вступ

Ожиріння – хронічне метаболічне порушення, визнане нещодавно самостійною хворобою та оголошене ВООЗ неінфекційною епідемією [1]. Серед головних причин ожиріння найчастіше називають надмірне споживання висококалорійної їжі та малорухливий спосіб життя. В останні роки показано, що жирова тканина є неоднорідною і виконує не лише метаболічні, а й ендокринні функції, синтезуючи велику кількість біологічно активних речовин. Небезпеку при ожирінні становить вісцеральна (або абдомінальна) жирова тканина, у якій при надмірному розростанні порушується профіль секреції адипокінів, що сприяє появі несприятливих метаболічних ускладнень, таких як дисліпідемія, підвищення рівня глюкози у крові та інсулінорезистентність [2]. З зв'язку з цим активно розробляються підходи до запобігання та корекції ожиріння та пов'язаних з ним метаболічних порушень. Серед дієтологічних способів подолання ожиріння найбільш перспективним вважається зменшення кількості спожитих калорій. Окрім калорійного обмеження, активно вивчаються речовини, які потенційно можуть імітувати його дію [3]. Однією з таких речовин може бути проміжний метаболіт циклу Кребса – альфа-кетоглютарат (АКГ). У попередніх роботах нами виявлено, що споживання їжі з додаванням АКГ призводить до зниження рівня запасних ліпідів у плодової мушки [4]. Тому в цьому дослідженні вивчалась здатність харчового

АКГ покращувати толерантність до глюкози та коригувати масу тіла мишей у мишей за споживання висококалорійної їжі на основі кафетерійних продуктів.

Матеріали та методи

У роботі використовували мишей лінії C57BL/6J. Тварин розводили та утримували у стандартних умовах віварію, при допустимих коливаннях температури $22 \pm 2^\circ\text{C}$, вологості повітря 50-60% з 12-годинним циклом світло/темрява, в клітках, що відповідають стандартам утримання лабораторних тварин. Мишей годували збалансованим кормом для лабораторних тварин ("Vita Україна) наступного складу: вміст жиру – 4,8%, білка – 21,8%, клітковини – 3,9%. У віці 8 місяців мишей (самки) розділяли на 2 групи: контрольну (5 мишей) та дослідну (10 мишей). Контрольна група мишей продовжувала споживати базовий корм, а дослідній групі додатково додавали (в окремому посуді) кафетерійні продукти. Кафетерійна дієта містила типові продукти раціону людини: печиво, шоколад, твердий сир, шинка, ковбаса, солодкий і солоний арахіс, кукурудзяні палички, цукерки-батончики, чіпси, сухарики). Кафетерійна дієта мала тижневе меню і включала три висококалорійні продукти на день загальною калорійністю 4,1-4,4 ккал/г їжі, при цьому 43-55% калорій від загального обсягу калорій припадало на жири [5, 6]. При споживанні дієти миші мали необмежений доступ до питної води. На 8-му тижні висококалорійної дієти мишей розділяли на дві підгрупи: перша – зберігала попередній харчовий режим (кафетерійна їжа та питна вода), а іншій – до води додавали 1%-ий розчин натрієвої солі АКГ (концентрацію взято з [7]). На цих дієтах миші заходилися ще 4 тижні (загалом 12 тижнів). Протягом експерименту фіксували зміну маси тіла мишей.

По завершенню експерименту проводили тест на толерантність до глюкози. Концентрацію глюкози визначали глюкозооксидазним методом з використанням діагностичного набору фірми "Реагент"(Дніпро, Україна). Зразки крові отримували при пункції хвостової вени. Для проведення цього тесту мишам не давали корм протягом 15-16 год, зберігаючи доступ до води. Зранку мишей зважували і визначали концентрацію глюкози у крові (0 хв). Потім мишей гаважили 20%-ним розчином глюкози (2 мг на 1 г маси тіла) – глюкозне навантаження [8]. Концентрацію глюкози у крові мишей визначали через 15,30, 60 та 120 хв після глюкозного навантаження. Декапітацію мишей під дією легкої анестезії вуглекислим газом, швидко відбирали зразки тканин, які зважували та заморожували в рідкому азоті. Статистичну обробку даних здійснювали у GraphPad Prism (версія 8.02), використовуючи непарний t-тест із корекцією Велча.

Експерименти проводили, дотримуючись Загальних принципів роботи на тваринах, затверджених І Національним конгресом по біоетиці (Київ, Україна, 2001) і погоджених з положеннями Європейської конвенції по захисту хребетних тварин, які використовуються в експериментальних та інших наукових цілях (Страсбург, Франція, 1986).

Результати та обговорення

Маса тіла мишей на базовому раціоні практично не змінювалась протягом експерименту, тоді кафетерійна їжа зумовлювала збільшення маси тіла: на 8-ий тиждень експерименту дослідна група мишей мала масу тіла на 15% більшу, ніж контрольна. На 8-му тижні до раціону мишей додавали АКГ. Споживання АКГ не лише запобігало подальшому збільшенню маси тіла, але й знижувало масу тіла у дослідних мишей на висококалорійній їжі до контрольного рівня на 12-ий тиждень експерименту. Маса печінки була однаковою у мишей всіх трьох груп, тоді як маса вісцерального жиру була найвищою у групи, яка споживала висококалорійну кафетерійну дієту (1201 ± 260 мг/миша). Миші контрольної групи та групи, яка споживала кафетерійну дієту з додаванням АКГ, не відрізнялися за вмістом вісцерального жиру (253 ± 29 проти 439 ± 220 мг/миша). Індекс ожиріння (відсотковий вміст вісцерального жиру у тілі мишей) показав розвиток ожиріння у мишей, які споживали кафетерійну їжу (мали вміст жиру приблизно 4%), тоді як у контрольної групи та групи на кафетерійній дієті з додаванням АКГ індекс ожиріння знаходився у межах норми.

Результати глюкозотолерантного тесту представлені на рисунку 1. Ми отримали криві, які демонструють типову динаміку глюкози у крові мишей після глюкозного навантаження, хоча і дуже суттєвого зростання рівня глюкози після навантаження не спостерігали. Низький пік в концентрації глюкози у крові у може бути зумовлений оральним способом внесення глюкози, оскільки є публікації, що цей

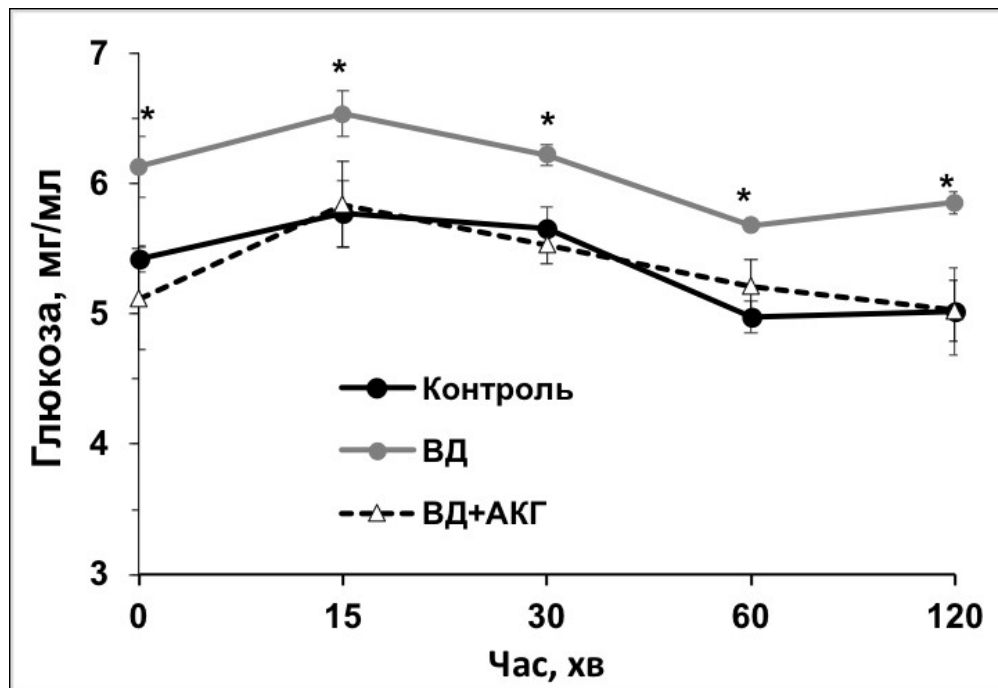


Рис. 1.: Динаміка концентрації глюкози у крові після глюкозного навантаження у мишей C57BL/6J, які 12 тижнів утримувалися на висококалорійній дієті (ВД) без та з додаванням протягом останніх 4 тижнів до питної води 1%-го АКГ (ВД+АКГ). *Значення достовірно відрізняється від відповідного значення контрольної групи. $P < 0.05$, $n = 5$.

метод спричиняє не таку сильну зміну концентрації глюкози у крові як інтраперитоніальна ін'єкція [8]. Концентрація глюкози у крові мишей, яких годували висококалорійною дієтою, була на 13% вищою, ніж у контрольної групи, і залишалася вищою за значення у контролі протягом глюкозотолерантного тесту. Концентрація глюкози у контрольних мишей та мишей, яких годували висококалорійною їжею з додаванням АКГ, була подібною та демонструвала подібну динаміку у крові після глюкозного навантаження.

Таким чином, кафетерійна їжа призводить до розвитку метаболічних порушень у мишей. Водночас, АКГ чинить коригувальну дію на тлі висококалорійної дієти. Нещодавно показано, що додавання АКГ до висококалорійної жирної їжі мишей може стимулювати адипогенез бурої жирової тканини, яка забезпечує більші енергозатрати і відповідно меншу акумуляцію запасних жирів, порівняно з білою жировою тканиною [7].

Можемо припустити, що цей механізм може бути відповідальним за коригувальну дію АКГ (сприяти розщепленню вісцерального жиру) у наших експериментах. Також відомо, що АКГ може інгібувати АТФ-синтазу [8] та активувати АМФ-залежну протеїнкіназу, яка стимулює окисний метаболізм [9, 10]. Всі ці механізми можуть сприяти тому, що АКГ запобігатиме акумулюванню запасних жирів у тілі мишей. Нормалізація рівня глюкози теж може бути наслідком впливу АКГ на вісцеральний жир, адже власне з збільшенням секреції вільних жирних кислот вісцеральним жиром пов'язують розвиток інсулінорезистентності.

Висновки

З отриманих результатів випливає те, що їжа на основі кафетерійних продуктів викликає розвиток ожиріння у мишей, збільшення вмісту вісцерального жиру та підвищення рівня глюкози у крові. Водночас, споживання АКГ на тлі висококалорійної дієти чинить коригувальну дію – нормалізує масу тіла, знижує вміст вісцерального жиру та повертає до контрольного рівня вміст глюкози. Таким чином АКГ може діяти як міметик калорійного обмеження на тлі висококалорійної кафетерійної їжі

Подяка

Дослідження було підтримано грантом від Національного фонду досліджень України (№ проекту 2020.02/0118).

Література

- [1] WHO Global Health Observatory Data Repository. World Heal Organ [Internet]. 2015; Available from: <http://apps.who.int/gho/data/view.mai>
- [2] Gutiérrez-Cuevas J, Santos A, Armendariz-Borunda J. Pathophysiological Molecular Mechanisms of Obesity: A Link between MAFLD and NASH with Cardiovascular Diseases. *International Journal of Molecular Sciences* [Internet]. 2021 Oct 27;22(21):11629. Available from: <https://doi.org/10.3390/ijms222111629>
- [3] Mercken EM, Carboneau BA, Krzysik-Walker SM, de Cabo R. Of mice and men: The benefits of caloric restriction, exercise, and mimetics. *Ageing Research Reviews* [Internet]. 2012 Jul;11(3):390–398. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.arr.2011.11.005>
- [4] Bayliak MM, Lylyk MP, Shmihel HV, Sorochynska OM, Semchyshyn OI, Storey JM, et al. Dietary alpha-ketoglutarate promotes higher protein and lower triacylglyceride levels and induces oxidative stress in larvae and young adults but not in middle-aged *Drosophila melanogaster*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology* [Internet]. 2017 Feb;204:28–39. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2016.11.005>
- [5] Lang P, Hasselwander S, Li H, Xia N. Effects of different diets used in diet-induced obesity models on insulin resistance and vascular dysfunction in C57BL/6 mice. *Scientific Reports* [Internet]. 2019 Dec;9(1). Available from: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-55987-x>
- [6] Sampey BP, Vanhoose AM, Winfield HM, Freerman AJ, Muehlbauer MJ, Fueger PT, et al. Cafeteria Diet Is a Robust Model of Human Metabolic Syndrome With Liver and Adipose Inflammation: Comparison to High-Fat Diet. *Obesity* [Internet]. 2011 Jun;19(6):1109–1117. Available from: <https://doi.org/10.1038/oby.2011.18>
- [7] Tian Q, Zhao J, Yang Q, Wang B, Deavila JM, Zhu M-J, et al. Dietary alpha-ketoglutarate promotes beige adipogenesis and prevents obesity in middle-aged mice. *Aging Cell* [Internet]. 2019 Nov 6;19(1). Available from: <https://doi.org/10.1111/accel.13059>
- [8] Bowe JE, Franklin ZJ, Hauge-Evans AC, King AJ, Persaud SJ, Jones PM. METABOLIC PHENOTYPING GUIDELINES: Assessing glucose homeostasis in rodent models. *Journal of Endocrinology* [Internet]. 2014 Jul 23;222(3):G13–G25. Available from: <https://doi.org/10.1530/JOE-14-0182>
- [9] Su Y, Wang T, Wu N, Li D, Fan X, Xu Z, et al. Alpha-ketoglutarate extends *Drosophila* lifespan by inhibiting mTOR and activating AMPK. *Aging* [Internet]. 2019 Jun 26;11(12):4183–4197. Available from: <https://doi.org/10.18632/aging.102045>
- [10] Chin RM, Fu X, Pai MY, Vergnes L, Hwang H, Deng G, et al. The metabolite α -ketoglutarate extends lifespan by inhibiting ATP synthase and TOR. *Nature* [Internet]. 2014 May 14;510(7505):397–401. Available from: <https://doi.org/10.1038/nature13264>