

МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ БЕЛОЙ ЖИРОВОЙ ТКАНИ РАЗНОЙ ЛОКАЛИЗАЦИИ У КРЫС ПРИ ВЫСОКОЖИРОВОЙ ДИЕТЕ

Якимович И.Ю.¹, Бородин Д.А.¹, Подрезов И.К.¹, Иванов В.В.¹, Васильев В.Н.^{1,2}, Котловский М.Ю.³, Борисова Л.В.¹, Мильто И.В.^{1,2}

¹ ГБОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Томск, Россия (634050, Томск, Московский тракт, 2), e-mail: iness2501@yandex.ru;

² ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский политехнический университет», Томск, Россия (634050, Томск, пр. Ленина, 30), e-mail: vas11@yandex.ru;

³ ГБОУ ВПО «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Красноярск, Россия (660022, Красноярск, ул. Партизана Железняка, 1) e-mail: misha11443@rambler.ru

Увеличение массы жировой ткани (преобладание висцерального жирового депо) и гипертрофия адипоцитов могут являться определяющими факторами риска развития метаболических нарушений. В работе исследовано влияние высокожировой диеты (доля жира в общей калорийности корма составила 32%) на морфометрические параметры мезентериальной, эпидидимальной, забрюшинной и подкожной жировой ткани у крыс. Установлено, что высокожировая диета приводит к увеличению удельной массы белой жировой ткани во всех изученных локализациях, но главным образом в подкожной. Увеличение удельной массы висцеральных жировых депо сопряжено с преобладанием адипоцитов крупных размеров. В подкожной жировой клетчатке у животных, находящихся на высокожировой диете, преобладают адипоциты малых размеров по сравнению с жировой тканью другой локализации. У крыс, находившихся на стандартной диете, преобладают удельная масса и средний размер адипоцитов эпидидимальной жировой ткани.

Ключевые слова: жировая ткань, адипоциты, высокожировая диета

WHITE ADIPOSE TISSUE MORPHOMETRIC CHARACTERISTICS IN HI-FAT DIET RATS

Yakimovich I.Y.¹, Borodin D.A.¹, Podrezov I.K.¹, Ivanov V.V.¹, Vasilyev V.N.^{1,2}, Kotlovsky M.Y.³, Borisova L.V.¹, Milto I.V.^{1,2}

¹ Siberian State Medical University (634050, Tomsk, Moskovsky trakt, 2), e-mail: iness2501@yandex.ru;

² National Research Tomsk Polytechnic University (634050, Tomsk, Lenin Avenue, 30), e-mail: vas11@yandex.ru;

³ Krasnoyarsk State Medical University (660022, Krasnoyarsk, street Partizana Zheleznyaka, 1), e-mail: misha11443@rambler.ru

White adipose tissue (WAT) weight gain, visceral fat depot predominance and adipocyte hypertrophy may be considered key metabolic disorder risk factors. In this paper we outline morphometric characteristics of mesenteric, epididymal, retroperitoneal and subcutaneous WAT in rats fed on hi-fat diet (32% energy from fat). We determine that hi-fat diet results in WAT weight gain in all adipose tissue depots but mainly in subcutaneous site. Visceral fat depot relatively high weight is associated with big-size adipocytes predominance. Small-size adipocytes prevail in subcutaneous WAT in hi-fat diet rats. Medium-size adipocytes and specific weight of epididymal WAT prevail in rats fed on standard rodent diet.

Keywords: adipose tissue, adipocytes, hi-fat diet

Распространенность ожирения носит характер эпидемии в развитых странах. По данным ВОЗ 2014 г. более 1,9 млрд взрослых людей в возрасте 18 лет и старше имеют избыточный вес, из них свыше 600 млн страдают ожирением.

Жировая ткань не только сосредотачивает основной запас энергетических субстратов организма, но и обладает эндокринной активностью. Выделяют два основных жировых депо: подкожное и висцеральное. В зависимости от топографического расположения жировая ткань имеет морфологические и физиологические особенности. При избыточной массе тела

характер ее распределения влияет на развитие метаболических нарушений. Количество висцеральной жировой ткани является одним из важных прогностических факторов развития заболеваний, ассоциированных с ожирением [1].

Цель работы

Изучить морфометрические параметры мезентериальной (МЖТ), эпидидимальной (ЭЖТ), забрюшинной (ЗЖТ) и подкожной (ПЖТ) белой жировой ткани крыс при высокожировой диете.

Материал и методы

Исследования проводили на 10 белых крысах-самцах Wistar. Содержание и все манипуляции, которым подвергались животные во время карантина и исследования, соответствовали правилам лабораторной практики, утвержденным Приказом министра здравоохранения и социального развития от 23 августа 2010 г. № 708н «Об утверждении правил лабораторной практики», а также с соблюдением Конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей, принятой Европейским союзом в 1986 г., и Директивы 86/609 ЕЭС, основанной на тексте соглашения «Dr. Robert Hubrecht, Current EU Legislation Controlling Animal Experiments».

Животные были разделены на 2 группы: 1-я (5 крыс) получала стандартный корм (доля жира в общей калорийности корма составила 11%) для лабораторных крыс — «ПроКорм» (ЗАО «БиоПро», г. Новосибирск) и воду *ad libitum*. Животные 2-й группы (5 крыс) в течение 18 недель находились на высокожировой диете (доля жира в общей калорийности корма составила 32%) и принимали воду *ad libitum*.

Животных выводили из эксперимента CO₂-асфиксией.

Определялась масса тела крыс, методом диссекции [2] выделялась и взвешивалась на аналитических весах жировая ткань (мезентериальная, эпидидимальная, забрюшинная, подкожная), рассчитывалась ее удельная масса (масса жировой ткани на 100 г массы тела крысы). Для морфометрического исследования кусочки жировой ткани фиксировались в 10%-ном нейтральном забуференном формалине (Biovitrum, Россия), обезвоживались в изопропиловом спирте (Biovitrum, Россия) и заливались в парафин (Histomix, Россия) по методике Ю.А. Криволапова. На микротоме МЗП-01 (Техном, Россия) изготавливались срезы толщиной 5–7 мкм, которые монтировались на предметные стекла и окрашивались гематоксилином и эозином. Полученные микропрепараты просматривались в проходящем свете на микроскопе Биомед-3М (Россия), совмещенном с компьютером. Оцифрованные фотографии подвергались морфометрической обработке с использованием компьютерной программы ImageJ 1.46. Для каждой группы животных определялся средний размер 500

жировых клеток, оценивалось распределение клеток по размеру (% клеток малого (< 50 мкм), большого (50–100 мкм), крупного (100>мкм) размера).

Статистическую обработку данных проводили с использованием программного пакета SPSS 20.0 с использованием методов непараметрической статистики. Полученные результаты выражены в виде медианы (Me), верхнего и нижнего квартилей (Q1–Q3). Различия считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Ожирение у грызунов рассматривают как увеличение массы тела за счет жировых депо по сравнению с контрольной группой. Критерии оценки ожирения у животных включают такие показатели, как прирост массы тела, индекс массы тела и масса жировой ткани, при этом более чувствительным показателем является измерение общей массы жировой ткани [2].

В результате эксперимента установлено, что высокожировая диета у крыс приводит к увеличению массы тела животных на 25% ($p < 0,01$) (табл. 1), что обусловлено ростом массы жировых депо, о чем свидетельствует повышение удельной массы жировой ткани в 3 раза ($p < 0,01$). При этом удельная масса мезентериальной жировой ткани возрастала в 2,1 раза ($p < 0,01$), эпидидимальной — в 1,6 раза ($p < 0,01$), забрюшинной — в 3,5 раза ($p < 0,01$), подкожной жировой ткани — в 5,5 раза ($p < 0,01$) соответственно по сравнению с группой крыс, получавших стандартную диету.

Таблица 1

Масса тела и удельная масса мезентериальной, эпидидимальной, забрюшинной, подкожной жировой ткани крыс при стандартной и высокожировой диете, Me (Q₁–Q₃)

Показатели Me (Q ₁ –Q ₃)	Экспериментальные группы	
	1.Стандартная диета (n=5)	2.Высокожировая диета (n=5)
Масса тела, г	460 (440–480)	577 (555–610) *
удельная масса жировой ткани, г	4,22(4,01–4,31)	12,64(10,87–13,67)*
удельная масса МЖТ, г	1,07 (1,06–1,11)	2,26 (2,08–2,26)*
удельная масса ЭЖТ, г	1,36(1,21–1,38)	2,19(1,97–2,57)*
удельная масса ЗЖТ, г	0,98(0,978–1,05)	3,39(2,98–3,58)*
удельная масса ПЖТ, г	0,88 (0,85–0,91)	4,89 (3,59–5,16)*

Примечание: n – число животных в группе; * — $p_{2-1} < 0,01$

Известно, что у грызунов эпидидимальная жировая ткань доминирует (имеет большую массу) по сравнению с висцеральной жировой тканью других локализаций [6]. Это хорошо соотносится с полученными нами данными: у крыс, находившихся на стандартном питании, преобладала удельная масса эпидидимальной жировой ткани. При высокожировой диете увеличение жировых депо произошло за счет роста удельной массы подкожной и забрюшинной жировой ткани. Ранее показано, что подкожное жировое депо выступает как

одно из основных резервуаров накопления жира и может являться защитным механизмом других тканей от липотоксичности [7].

Висцеральная жировая ткань у грызунов представлена мезентериальной (располагается по ходу кишечника), забрюшинной (располагается за почками) и эпидидимальной (располагается вдоль семенников) [2]. Жировые депо морфологически и биохимически отличаются. Мезентериальная жировая ткань наиболее метаболически активна: ей присущи высокая мобильность липидов, плотность сосудистой сети и интенсивный кровоток, преобладают адипоциты малого размера. Эпидидимальная жировая ткань имеет менее интенсивный метаболизм глюкозы и липидов, в ней преобладают адипоциты большого размера. Забрюшинная жировая ткань представлена адипоцитами среднего и большого размера. Подкожная жировая ткань (подкожное депо паховой области) имеет низкую интенсивность метаболизма глюкозы и липидов, адипоциты малого размера [2, 6].

Размер адипоцитов определяет метаболическую активность жировой ткани. Адипоциты гетерогенны по размеру в пределах одного жирового депо и могут быть разделены на малые (диаметром до 50 мкм), большие (диаметр от 50 до 100 мкм), крупные (диаметр более 100 мкм) [4]. Средний размер адипоцитов мезентериальной жировой ткани в группе животных, находившихся на высокожировой диете, был больше на 63% ($p < 0,005$), эпидидимальной — на 19% ($p < 0,01$), забрюшинной на 14% ($p < 0,01$) и подкожной — на 13% ($p < 0,05$) по сравнению с группой крыс, получавших стандартную диету (табл. 2).

Таблица 2

Средний размер адипоцитов мезентериальной, эпидидимальной, забрюшинной и подкожной жировой ткани крыс при стандартной и высокожировой диете, Ме ($Q_1 - Q_3$)

Показатели Ме ($Q_1 - Q_3$)	Экспериментальные группы	
	1. Стандартная диета (n=5)	2. Высокожировая диета (n=5)
Средний размер адипоцитов МЖТ, мкм	42 (37–47)	68,7 (60,7–78)*
Средний размер адипоцитов ЭЖТ, мкм	122,8 (111,1–136,5)	146,6 (130,1–162,4)**
Средний размер адипоцитов ЗЖТ, мкм	97,9 (89,4–106,5)	111,8 (102,5–122,8)**
Средний размер адипоцитов ПЖТ, мкм	47,8 (43,1–54,3)	54,1 (48,3–61,4)*

Примечание: n – число животных в группе; * — $p_{2-1} < 0,005$; ** — $p_{2-1} < 0,01$

Изменение среднего размера адипоцитов может быть обусловлено двумя процессами: гипертрофией и гиперплазией клеток [3].

У животных, получавших стандартное питание, в мезентериальной жировой ткани преобладали клетки малого размера (до 50 мкм), в эпидидимальной — клетки крупных размеров (более 100 мкм), в забрюшинной — клетки большого размера (50–100 мкм), в подкожной — малого и большого размеров.

Высокожировая диета приводила к преобладанию в мезентериальной жировой ткани клеток большого размера (50–100 мкм), эпидидимальной и забрюшинной жировой ткани — клеток крупных размеров (более 100 мкм), в подкожной жировой ткани — малого и большого размеров (рис. 1, 2, 3,4).

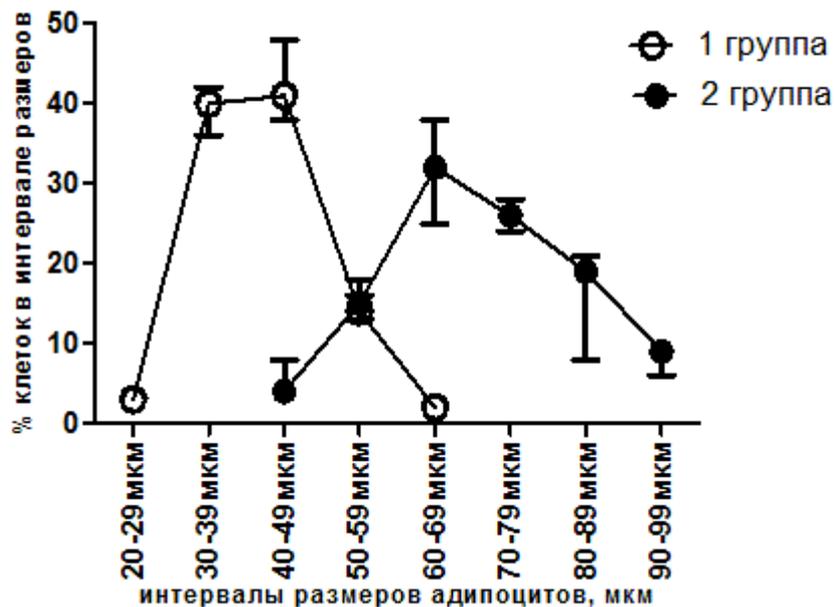


Рис. 1. Распределение адипоцитов мезентериальной жировой ткани крыс по размеру: 1 — стандартная диета (n=5); 2 — высокожировая диета (n=5)

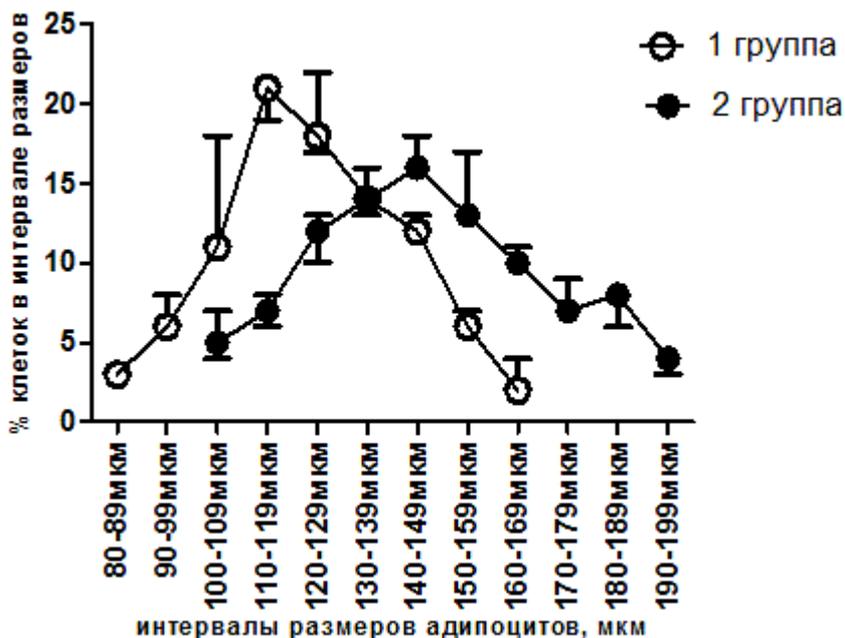


Рис. 2. Распределение адипоцитов эпидидимальной жировой ткани крыс по размеру: 1 — стандартная диета (n=5); 2 — высокожировая диета (n=5)

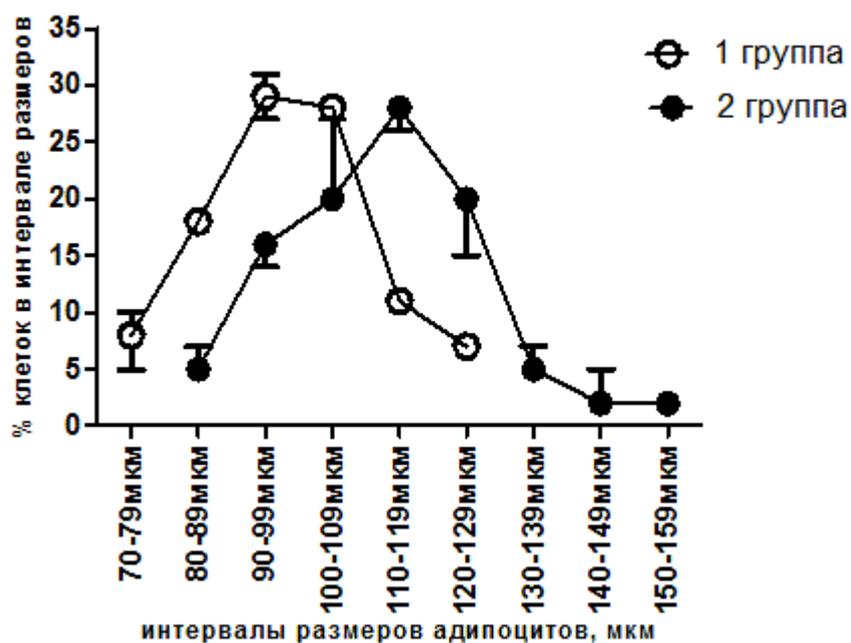


Рис. 3. Распределение адипоцитов забрюшинной жировой ткани крыс по размеру: 1 — стандартная диета (n=5); 2 — высокожировая диета (n=5)

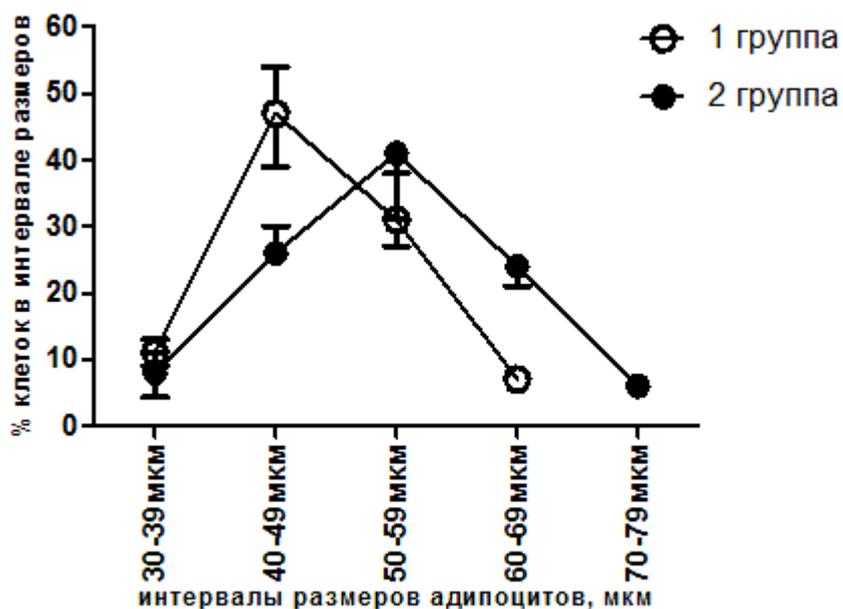


Рис. 4. Распределение адипоцитов подкожной жировой ткани крыс по размеру: 1 — стандартная диета (n=5); 2 — высокожировая диета (n=5)

Таким образом, увеличение удельной массы висцеральных жировых депо при высокожировой диете обусловлено гипертрофией жировых клеток, а подкожной жировой ткани — возможно, за счет гиперплазии (количество клеток ведь не считали).

Изменение массы жировой ткани у крыс с возрастом происходит за счет преимущественно гипертрофии клеток мезентериальной и эпидидимальной жировой ткани, в то время как забрюшинной и подкожной жировой ткани — за счет гиперплазии [3].

Увеличение размера клеток более 80–100 мкм приводит к снижению поглощения глюкозы, триацилглицеролов и чувствительности к инсулину [9]. Известно, что гипертрофированные клетки являются главным источником провоспалительных цитокинов и имеют ограниченную способность синтезировать адипонектин, являющийся мощным противовоспалительным адипокином и эндогенным сенситизатором инсулина [5]. В гипертрофированной жировой ткани снижается кровоток, инициирующий локальную гипоксию, и усиливается инфильтрация макрофагами, цитокины которых ингибируют адипогенез [8].

Обнаруженное нами менее выраженное увеличение среднего размера адипоцитов подкожной жировой ткани у животных, находившихся на высокожировой диете, по сравнению с жировой тканью висцеральных депо обусловлено преобладанием клеток малых размеров.

Таким образом, нарастание массы подкожной жировой ткани при высокожировой диете происходит за счет увеличения клеток малых размеров, которые согласно современным исследованиям защищают от накопления жира мышцы и печень и препятствуют развитию инсулинорезистентности [5].

Выводы

У крыс, находившихся на стандартной диете, преобладают удельная масса и средний размер адипоцитов эпидидимальной жировой ткани.

Высокожировая диета приводит к увеличению удельной массы всех видов жировой ткани с преобладанием подкожной. Увеличение удельной массы висцеральных жировых депо сопряжено с преобладанием адипоцитов крупных размеров.

В подкожной жировой ткани у крыс при высокожировой диете преобладают адипоциты малых размеров по сравнению с жировой тканью другой локализации.

Список литературы

1. Бутрова А.С. Висцеральное ожирение – ключевое звено метаболического синдрома / А.С. Бутрова, Ф.Х. Дзгоева // Ожирение и метаболизм. – 2004. – № 1. – С. 10–16.
2. Никонов А.А. Методический подход к изучению ожирения в эксперименте / А.А. Никоноров, А.А. Тиньков, Л.М. Железнов, В.В. Иванов – Оренбург: ОАО «ИПК Южный Урал», 2013. – 240 с.

3. DiGirolamo M. Qualitative regional differences in adipose tissue growth and cellularity in male Wistar rats fed ad libitum / M. DiGirolamo, J.B. Fine, K. Tagra, R. Rossmanth// *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* . – 1998. – Vol. 274. – P. 1460–1467.
4. Günter Müller Take-over: multiple mechanisms of inter-adipocyte communication / Müller Günter // *Journal of Molecular Cell Biology* – 2011. – Vol. 3. – № 2. – P. 81–90.
5. Lundgren M. No in vitro effects of fatty acids on glucose uptake, lipolysis or insulin signaling in rat adipocytes/ M Lundgren, JW Eriksson// *Horm Metab Res*. – 2004. — 36(4). — P.203-209. DOI: 10.1055/s-2004-814446
6. Sackmann-Sala Lucila. Heterogeneity Among White Adipose Tissue Depots in Male C57BL/6J Mice/ Lucila Sackmann-Sala, Darlene E. Berryman, Rachel D. Munn et al // *Obesity*/ – 2012. — Vol. 20. Issue 1. — P. 101–111.
7. Sopasakis VR. High local concentrations and effects on differentiation implicate interleukin-6 as a paracrine regulator / VR Sopasakis, M Sandqvist, B Gustafson et al. // *Obesity reviews*. – 2004. – Vol. 12. – № 3. – P. 454–60.
8. Spalding KL. Dynamics of fat cell turnover in humans/ KL Spalding, E Arner, PO Westermark et al.// *Nature*. — 2008. – 453(7196). P.783-7. DOI: 10.1038/nature06902.
9. Varlamov O Single-cell analysis of insulin-regulated fatty acid uptake in adipocytes / O Varlamov R Somwar, A Cornea et al. // *Am J Physiol Endocrinol Metab*. — 2010. — Vol. 299. — № 3. — P. 486–496. DOI: 10.1152/ajpendo.00330.2010

Рецензенты:

Бушов Ю.В., д.б.н., профессор, заведующий кафедрой физиологии человека и животных, Томский государственный университет, г. Томск;

Ковалев И.В., д.м.н., профессор, профессор кафедры биофизики и функциональной диагностики, Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск.