УДК 616-056.52+677.3

Ю.І. Губський[1], Л.М. Вороніна[2], А.Л.Загайко[2]

ЗМІНИ ВМІСТУ АНАНДАМІДУ В ГІПОТАЛАМУСІ ХОМ'ЯЧКІВ ПРИ ХРОНІЧНОМУ СОЦІАЛЬНОМУ СТРЕСІ ТА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ МЕТАБОЛІЧНОМУ СИНДРОМІ

[1]Кафедра біоорганічної, біологічної та фармацевтичної хімії Національного медичного університету ім. О.О. Богомольця;

[2]Кафедра біохімії Національного фармацевтичного університету

Ключові слова: *метаболічний синдром, хронічний соціальний стрес, лептин, анандамід, хом'ячки.*

Ключевые слова: *метаболический синдром, хронический социальный стресс, анандамид, хомячки.*

Key words: *a metabolic syndrome, chronic social stress, anandamide, hamsters.*

Вивчено вміст анандаміду в гіпоталамусі сирійських хом'ячків з експериментальним метаболічним синдромом та хронічним емоційним стресом. Показано, що як експериментальний метаболічний синдром, так і хронічний соціальний стрес супроводжуються зростанням вмісту ендогенного ліганду каннабіноїдних рецепторів - анандаміду, який бере участь в регуляції харчової поведінки, як орексигенний фактор. Продовження гіперфагії при зростанні ваги тіла за умов використаних моделей може бути пов'язане з розвитком лептинорезистентності та припиненням гальмування лептином деградації орексигенного ендоканнабіноїда анандаміду.

Изучено содержание анандамида в гипоталамусе сирийских хомячков с экспериментальным метаболическим синдромом и хроническим эмоциональ-ным стрессом. Показано, что как при экспериментальном метаболическом синдроме, так и при хроническом социальном стрессе в гипоталамусе наблюдается возрастание содержания эндогенного лиганда каннабиноидных рецепторов - анандамида, который принимает участие в регуляции пищевого поведения, как орексигенный фактор. Таким образом, продолжение гаперфагии при возрастании массы тела в условиях использованных моделей может быть связано с развитием лептинорезистентности и прекращением торможения лептином деградации орексигенного ендоканнабиноида анандамида.

Anandamide content in a hypothalamus of syrian hamsters with an experimental metabolic syndrome and chronic emotional stress were investigated. It has been shown, that both at an experimental metabolic syndrome, and at a chronic social stress in a hypothalamus ascending the content of an endogenic cannabinoid receptors ligand - anandamide - is observed which shares in a regulation of a feeding behavior, as orexigenic factor. Thus, the continuation hyperphagia at increasing body mass in requirements of used models can be linked to leptin-resistance development and arrest of inhibition by leptin of orexigenic endocannabinoid anandamide degradation.

До теперішнього часу точні механізми, що беруть ють участь у координації споживання енергії, вивчені недостатньо. Найважливішим регулятором харчової поведінки є гіпоталамус [1,12]. Відомо, що між депо жиру в організмі і центральною нервовою системою існує сигнальний взаємозв'язок, завдяки якому кількість жирів, що мобілізується за добу, пропорційна загальним запасам жиру в організмі [5,2]. Серед факторів, що здійснюють такий зв'язок - гормон пептидної природи лептин, що секретується білою жировою тканиною пропорційно до маси жиру та через лімбічну частину і стовбур мозку знижує потребу в їжі [3,4,11]. Проте установлено, що в більшості випадків при ожирінні рівень лептину підвищений [11]. Тому на сьогоднішній день за аналогією з інсулінорезистентністю сформульоване поняття лептинорезистентості, що нерідко сполучається з інсулінорезистентністю.

Важливим в ефектах лептину є його вплив на систему ендоканнабіноїдів - важливих регуляторів харчової поведінки - в гіпоталамусі. Ендоканнабіноїди належать до ендогенних ліпідних молекул, що діють на ті ж рецептори, що активуються активним компонентом маріхуани (cannabis). Найкраще вивчені анандамід і 2-арахідоноїлгліцерол (2-АГ), шляхи синтезу яких установлені. Ендоканнабіноїди утворюються з фосфоліпідів-попередників, що знаходяться в мембранах клітин, "за вимогою". Система дуже швидко активується і також швидко інактивується [7,11,12]. У цілому, ендоканнабіноїдна система бере участь у багатьох різних фізіологічних функціях, багато з яких стосуються систем відновлення після стресу і підтримки гомеостатичної рівноваги. Серед інших функцій, ендоканнабіноїдна система включається до нейропротекції, регуляції рухової активності і засобу керування деякими фазами обробної пам'яті. Крім того, ендоканнабіноїдна система включається до модуляції імунної і запальної відповідей. Вона також впливає на роботу серцево-судинної системи й органів дихання, керуючи частотою серцебиття, кров'яним тиском і бронхіальними функціями. Крім того, ендоканнабіноїди активують важливі антипроліферативні механізми в пухлинних клітинах [12]. Однак, дані щодо змін вмісту ендоканнабіноїдів при екстремальних станах, отримані різними дослідниками, дуже суперечливі [7,11,12].

МЕТОЮ даного **ДОСЛІДЖЕННЯ** було вивчення молекулярних механізмів порушень харчової поведінки, які ведуть до розвитку ожиріння та метаболічного синдрому та пошук шляхів корекції цих порушень.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

У роботі були використані 164 сирійські хом'ячки різної статі, віком 1 рік та вихідною масою 100-160 г. Дослідні тварини були поділені на 3 групи: інтактні тварини, тварини, яких впродовж 5 тижнів утримували на дієті, що містить 29% жиру (переважно насичені ліпіди) [7] з додаванням фруктози, та тварини, у яких щоденно протягом 5 тижнів викликали соціальний стрес скупчення [3]. Тварин брали в дослід через 5 тижнів з моменту початку експерименту. Тварин декапітували під хлоралозо-уретановим наркозом. Дослідження проводилися відповідно до національних "Загальних етичних принципів експериментів на тваринах" (Україна, 2001), які узгоджуються з положеннями "Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей" (Страсбург, 1985). Вміст анандаміду в гіпота-

© В.ᴗ ᶜ ЧЕΦΩΞΜΝ ´. ¸. ᵘ ΣΥΣΡΚΡΔ ⁱ . ´.ʳ ΔΗΔΝΕΣ, 2008

ламусі визначали методом рідиннофазної хромато-масспектрометрії при атмосферному тиску та температурі 40^0 С на колонках Phenomenex (5 мм, 150 4,5 мм) зі зворотною фазою; m/z=348 [8]. Статистичну обробку отриманих результатів проводили з використанням критерію Манна-Уітні.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Як відомо, вплив адипокінів на формування харчової поведінки здійснюється за участю ендоканнабіноїдної системи, однак зміни у її функціонуванні, які ведуть до зростання апетиту та ожиріння, залишаються нез'ясованими. Розуміння взаємозв'язку між порушеннями синтезу та секреції адипокінів та функціонуванням ендоканнабіноїдної системи, та молекулярних механізмів цих порушень за умов дії на організм несприятливих факторів надасть змогу сформувати стратегії корекції харчової поведінки людини з метою профілактики та лікування ожиріння і МС.

Як відомо, лептин знижує рівень важливих орексигенних регуляторів -ендоканнабіноїдів (анандаміду і 2-арахідонілгліцеролу) у гіпоталамусі, що свідчить про участь ендоканнабіноїдної системи в зворотній регуляції апетиту лептином. Цей ефект пов'язують з активацією під дією лептину ферментів, що здійснюють деградацію ендоканнабіноїдів, зокрема, гідролази амідів жирних кислот [11]. Показано, що лептин індукує даний фермент.

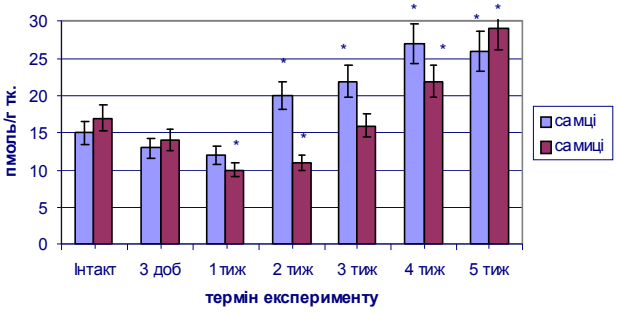
Тому за зниження вмісту лептину в сироватці крові в перші терміни експериментального метаболічного синдрому за умов використаної нами моделі закономірно спостерігається підвищене вживання їжі, яке веде до зростання ваги тіла. Разом з тим, підвищення рівня лептину, що відбувається на більш пізніх етапах розвитку експериментального метаболічного синдрому, мало б призвести до зниження вмісту ендоканнабіноїдів в мозку і, отже, до зменшення споживання їжі.

Це, в свою чергу, призвело б до гальмування приросту ваги тіла, або навіть до її зменшення.

Проте, згідно з нашими даними [10], цього не відбувається, ймовірно, внаслідок розвитку резистентності до лептину. Для перевірки цього припущення ми визначили вміст головного ендоканабіноїда центральної нервової системи - анандаміду - в гіпоталамусі дослідних тварин.

В цілому, ендоканабіноїдна система бере участь у багатьох фізіологічних процесах, багато з яких стосуються систем відновлення після стресу і підтримки гомеостатичної рівноваги.

Рис. 1. ***Зміни вмісту анандаміду в гіпоталамусі сирійських хом'ячків при розвитку експериментального метаболічного синдрому, пмоль/г, n=6.***



* - *зміни достовірні, p⩽0,05 до контрольних тварин*

Отже, дослідження активності ендоканабіноїдної системи при метаболічному синдромі може не тільки допомогти зрозуміти механізми розвитку цієї патології, а прокласти шляхи до її корекції. Нами показано, що експериментальний метаболічний синдром супроводжується двофазними змінами вмісту в гіпоталамусі анандаміду (*рис. 4.7)*.

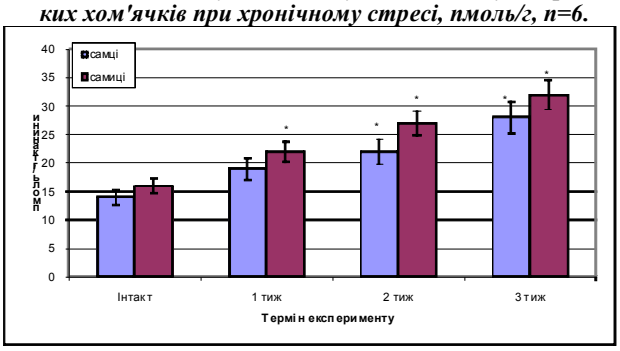
В перші терміни розвитку метаболічного синдрому рівень анандаміду знижується, ймовірно, через активацію розпаду під впливом лептину. Проте в подальшому рівень дослідженого ендоканнабіноїда зростає, що є ознакою розвитку лептинорезистентності, яка формується, коли підвищення вмісту лептину супроводжується тривалою гіпертриацилгліцеролемією (*див. табл. 4.3, 5.2*).

Відомо [11], що саме за таких умов лептин перестає впливати на рівні гіпоталамуса через розвиток резистентності до нього.

Саме ці зміни, ймовірно, лежать в основі порушення харчової поведінки за умов розвитку метаболічного синдрому, який виникає на тлі гіперфагії та зростання ваги тіла, що, разом з дисліпідемією, яка розвивається за цих умов, можна розглядати, як показник проатерогенності МС.

Хронічний стрес спричиняв зростання вмісту анандаміду в гіпоталамусі хом'ячків самців на 2 тиждень експерименту, а у самиць - вже на 1 тиждень (*рис. 2*).

Рис. 2. ***Зміни вмісту анандаміду в гіпоталамусі сирійських хом'ячків при хронічному стресі, пмоль/г, n=6.***



* - *зміни достовірні, p⩽0,05 до контрольних тварин*

Ці дані аналогічні з отриманими на моделі експериментального МС, та також можуть бути підтвердженням розвитку гіперфагії та зростання ваги тіла тварин при хронічному стресі.

Таким чином, продовження гіперфагії при зростанні ваги тіла за умов використаних в нашому експерименті моделей може бути пов'язане з розвитком лептинорезистентності та припиненням гальмування лептином деградації орексигенного ендоканнабіноїда анандаміду.

ВИСНОВКИ

1. Як при експериментальному метаболічному синдромі, так і при хронічному соціальному стресі в гіпоталамусі спостерігається зростання вмісту ендогенного ліганду каннабіноїдних рецепторів - анандаміду, який бере участь в регуляції харчової поведінки, як орексигенний фактор.

2. Продовження гіперфагії при зростанні маси тіла за умов викори-станих моделей може бути пов'язане з розвитком лептинорезистентності та припиненням гальмування лептином деградації орексигенного

© В.◡ᶜ ЧЕΦΩΞΜΝ ´. ¸. ᵘ ΣΥΣΡΚΡΔ ⁱ. ´.ʳ ΔΗΔΝΕΣ, 2008

ендоканнабіноїда анандаміду.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Мельниченко Г.А.* Ожирение в практике эндокринолога.\\ РМЖ. - 2001. - т.2, №9. - С. 82-87

2. Метаболический сердечно-сосудистый синдром/ *В. А. Алмазов, Я. В. Благосклонная, Е. В. Шляхто, Е. И.* Красильникова. - СПб.:Изд-во СПбГМУ, 1999.-208 с.

3. *Семагин В.Н., Зухарь А.В., Куликов М.А*. Тип нервной системы, стрессустойчивость и репродуктивная функция. - М.: Наука, 1988. - 135 с.

4. Синдром инсулинорезистентности / *В. А. Алмазов, Я. В. Благосклонная, Е. В. Шляхто и др. //* Артериальная гипертензия. - 1997. - Т. 3, № 1. - С.7-17.

5. *Kahn B. B., Flier J. S.* Obesity and insulin resistance//J. Clin. Invest. - 2000. - V. 106, № 4. - P. 473-481

6. *Kannel WB, Cuppels LA, Ramaswami R, Stokes J, Kreger BE, Higgis* M. Regional obesity and risk of cardiovascular disease; the Framingham study.// J Clin Epidemiol. - 1991. - v.44, №2. - P. 183-90.

7. High fat fed hamster, a unique animal model for treatment of diabetic dyslipidemia with peroxisome proliferator activated receptor alpha selective agonists / P. *R. Wang, Q. Guo, M. Ippolito et al.* // Eur. J. Pharmacol. - 2001. - Vol. 427. - P. 285-293.

8. *Maccarone M., Fride E., Bisogno T. et al.* Up-regulation of the endocannabinoid system in the uterus of leptin knockout (ob/ob) mice and implication for fertility// Molecular Human Reproduction. - 2004. - v.11, №1. - P. 21-28

9. *Mohamed-Ali V, Pinkney JH, Coppack SW.* Adipose tissue as an endocrine and I paracrine organ// Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord. - 1998. -v. 22. - P. 1145-1158.

10. *А.Л. Загайко, Л.М. Вороніна, К.В. Стрельченко.* Метаболічний синдром: механізми розвитку та перспективи антиоксидантної трерапії. - Х.: Вид-во НФаУ:Золоті сторінки, 2007. - 216 с.

11.*Takanashi M, Funahashi T, Shimomura I et al*. Plasma leptin levels and boby fat disribution// Horm Metab Res. - 1996. - v.28. - P. 751-752

12.*Wang L., Liu J., Harvey-White J., et. al.* Endocannabinoid signaling via cannabinoid receptor1 is involved in ethanol preference and its age-dependent decline in mice// PNAS. - 2003. - Vol.100, №3. - P.1393 - 1398.

Сведения об авторах:

Губский Юрий Иванович, доктор медицинских наук, профессор, чл.-корр. АМН Украины, зав. кафедрой биоорганической, биологической и фармацевтической химии Национального медицинского университета им. А.А. Богомольца.

Воронина Лариса Николаевна, доктор биологических наук, профессор, зав. кафедрой биологической химии Национального фармацевтического университета.

Адрес сл.: 61002, г. Харьков, ул. Пушкинская, 53. Тел. (057)7063099

Загайко Андрей Леонидович, кандидат биологических наук, доцент кафедры биологической химии Национального фармацевтического университета.

Адрес сл.: 61002, г. Харьков, ул. Пушкинская, 53. Тел. (057)7063099

© В.ᴗ ᶜ ЧЕΦΩΞΜΝ ´. ¸. ᵘ ΣΥΣΡΚΡΔ ⁱ . ´.ʳ ΔΗΔΝΕΣ, 2008