

ЗМІНИ АДИПОЦИТОКІНІВ ТА РІВНЯ ГРЕЛІНУ В ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ТВАРИН ІЗ МЕТАБОЛІЧНИМ СИНДРОМОМ

©І. Я. Дзюбановський, С. Р. Підручна, А. М. Продан, Н. А. Мельник

Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України

РЕЗЮМЕ. Метаболічний синдром – це комплекс патологічних станів, критеріями якого, згідно з National Cholesterol Education Program-Adult Treatment Panel III, є три або більше з таких порушень: абдомінальне ожиріння, гіперглікемія натще, гіпертригліцеридемія, гіпертензія, низький рівень холестерину. Важливу роль у розвитку і прогресуванні інсулінорезистентності та пов'язаних з нею метаболічних розладів відіграє жирова тканина абдомінальної ділянки.

Мета – вивчити рівень греліну, лептину та адипонектину в організмі піддослідних тварин при змодельованому метаболічному синдромі.

Матеріал і методи. Дослідження проводили на 20 білих щурах-самцях лінії Wistar масою 220–250 г (вік 9–10 тижнів). Тварин контрольної групи (n=10) годували звичайною контрольною дієтою. Щурів-самців основної групи (n=10) годували дієтою з високим вмістом жиру (понад 60 % енергії від жирів) впродовж 16 тижнів. У всіх тварин основної групи були наявні щонайменше 3 із 5 критеріїв МС. Вміст лептину та адипонектину визначали за допомогою імуноферментного аналізу з використанням наборів «Bio Vendor» (Leptin Mouse/Rat Elisa, Adiponectin HMW Mouse/Rat Elisa) (Чехія). Рівень греліну вимірювали методом імуноферментного аналізу (ІФА) за допомогою імуноферментного набору фірми «Diagnostic System Laboratories» (США).

Результати. При визначенні рівня адипонектину у досліджуваних нами щурів ми встановили статистично значиме зниження концентрації адипонектину у щурів із МС, порівняно із групою контролю – (4,07±0,67) мкг/мл проти (6,15±0,54) мкг/мл (p < 0,05). Аналізуючи рівні лептину у порівнюваних групах ми встановили статистично значиме підвищення концентрації лептину у плазмі крові щурів із МС (35,19 нг/г), порівняно із групою контролю (22,58 нг/г) (p < 0,05). При визначенні рівня греліну у досліджуваних тварин ми виявили статистично значиме підвищення рівня греліну у щурів із МС (3,09 нг/мл) порівняно із контролем (2,20 нг/мл) (p < 0,05).

Висновок. Отже, моделювання метаболічного синдрому у щурів приводить до статистично значимого зростання рівня греліну та до дисбалансу продукції гормонів жирової тканини – лептину та адипонектину (p < 0,05).

КЛЮЧОВІ СЛОВА: метаболічний синдром; лептин; адипонектин; грелін.

Вступ. Метаболічний синдром (МС) – це комплекс патологічних станів, критеріями якого, згідно з National Cholesterol Education Program-Adult Treatment Panel III, є три або більше з таких порушень: абдомінальне ожиріння, гіперглікемія натще, гіпертригліцеридемія, гіпертензія, низький рівень холестерину ЛПВЩ [1]. Найпоширеніша точка зору про роль інсулінорезистентності як механізму, що запускає весь каскад метаболічно пов'язаних порушень МС. Важливу роль у розвитку і прогресуванні інсулінорезистентності і пов'язаних з нею метаболічних розладів відіграє жирова тканина абдомінальної ділянки [2]. Жирова тканина секретує пептидний анорексигенний гормон лептин, який є центральним регулятором маси жиру в організмі, функція якого полягає в зниженні кількості споживаної їжі і збільшенні витрат енергії. Крім того, він може бути залучений в індукцію резистентності до інсуліну, можливо, через периферичні механізми дії [3]. Зниження концентрації лептину або порушення передачі його сигналів у клітину призводить до розвитку ожиріння і супроводжує розвиток метаболічного синдрому. До анорексигенних гормонів належить адипонектин, який за своєю природою є пептидом і теж продукується адипоцитами. Концентра-

ція адипонектину при ожирінні знижується, на відміну від лептину, концентрація якого в сироватці крові прямо пропорційна масі жирової тканини [4–6]. Лептин у нормі стимулює центр насичення і гальмує центр голоду в гіпоталамусі, підвищення його рівня забезпечує відчуття ситості під час їди. У людей із МС спостерігається гіперлептинемія, проте його ефекти знижені внаслідок резистентності.

Ефективність використання різних критеріїв для виявлення МС нерівнозначна, що зумовлює необхідність обговорення і проведення порівняльного аналізу існуючих критеріїв діагностики і потребує подальшого, більш поглибленого вивчення біохімічних показників за умов МС.

Значне поширення МС і його роль як предиктора насамперед серцево-судинних захворювань, визначає інтенсивність наукових пошуків у ключових ланках патогенезу, питаннях діагностики, профілактики і лікування цього симптомокомплексу. Згідно з сучасними уявленнями, розвиток інсулінорезистентності периферичних тканин є основою для формування МС, проте є дані про те, що ця патологія є поліорганним ураженням. У зв'язку з цим триває дискусія стосовно механізмів формування проявів МС. Слід зазначити, що в

Огляди літератури, **оригінальні дослідження**, погляд на проблему, випадок з практики, короткі повідомлення більшості досліджень розглянуто аспекти пріоритету одного конкретного фактора патогенезу щодо іншого. Інформація про відносний внесок і взаємодію різних механізмів формування як самого МС, так і його окремих компонентів у сучасній літературі обмежена. Багато авторів ініціюванням патогенезу МС вважають ожиріння з супутньою дисфункцією вісцеральної жирової тканини, яка полягає в порушенні секреції адипокінів (лептину, адипонектину тощо), гіперпродукції вільних жирних кислот, протизапальних цитокінів. Згідно з іншими даними, в основі патогенезу МС може бути вегетативна дисфункція. Зокрема, артеріальна гіпертензія у пацієнтів з МС розглядається як результат гіперактивності симпатичної нервової системи і ренін – ангіотензин – альдостеронової системи.

Проте на сьогодні до кінця не з'ясованим залишається питання ролі орексигенних та анорексигенних гормонів у патогенезі системних відхилень при МС.

Мета – вивчити рівні греліну, лептину та адипонектину в організмі піддослідних тварин при змодельованому МС.

Матеріал і методи дослідження. Дослідження проводили на 20 білих щурах-самцях лінії Wistar масою 220–250 г (вік 9–10 тижнів), яких утримували в стандартних умовах віварію (температура повітря: 22 ± 2 °С, вологість – 30–60 %, світлий/темний цикл: 12/12 год). Самців щурів контрольної групи ($n=10$) годували звичайною контрольною дієтою. Щурів-самців основної групи ($n=10$) годували дієтою з високим вмістом жиру (понад 60 % енергії від жирів) впродовж 16 тижнів [7], таким чином моделюючи в них розвиток ожиріння. У всіх тварин основної групи були наявні щонайменше 3 зі 5 критеріїв МС.

У кінці експерименту тварин умертвляли шляхом декапітації під тиопенталовим наркозом. У сироватці крові щурів визначали вміст адипонектину, у жировій тканині визначали вміст лептину за допомогою імуноферментного аналізу з використанням наборів «Bio Vendor» (Leptin Mouse/Rat Elisa, Adiponectin HMW Mouse/Rat Elisa) (Чехія). Рівень греліну вимірювали методом імуноферментного аналізу (ІФА) з допомогою імуноферментного набору фірми "Diagnostic System Laboratories" (США).

При проведенні експерименту дотримувалися вимог Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986) та Директиви Європейського Союзу 2010/10/63 ЕУ щодо експериментів на тваринах. Комісія з біоетики Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського (протокол № 12 від 4 листопада 2020 р.) не виявила пору-

шень морально-етичних норм під час цього дослідження.

Результати досліджень обробляли методом варіаційної статистики з використанням t-критерію Стьюдента.

Результати й обговорення. Ми встановили, що у щурів контрольної групи маса тіла складала $(236,14 \pm 2,34)$ г, а в щурів основної групи, яким моделювали ожиріння за допомогою висококалорійної дієти, маса тіла була вірогідно більшою у 3,25 рази, порівняно з тваринами контрольної групи ($(768,65 \pm 5,03)$ г; $p < 0,05$). Таким чином, у щурів досліджуваної групи спостерігалось достовірне збільшення маси тіла, порівняно з контролем.

Відомо, що одним із основних протизапальних адипокінів є адипонектин, активність і кількість якого знижується при вісцеральному ожирінні, на відміну від лептину, резистину, інтерлейкінів, TNF- α . Показано, що зниження експресії адипонектину корелює з інсулінорезистентністю [8].

При дослідженні рівня адипонектину у досліджуваних нами щурів ми встановили статистично значиме зниження концентрації адипонектину у щурів із МС порівняно із групою контролю – $(4,07 \pm 0,67)$ мкг/мл проти $(6,15 \pm 0,54)$ мкг/мл ($p < 0,05$) (рис. 1).

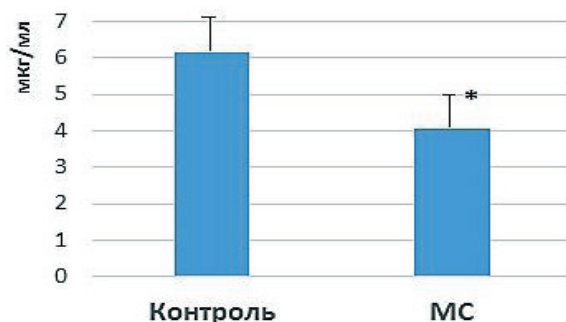


Рис. 1. Рівень адипонектину в крові щурів за умов змодельованого метаболічного синдрому

Адипонектин гальмує диференціацію преадипоцитів і проявляє протизапальну та антиатерогенну дію, пригнічує TLR-залежне вивільнення NF- κ B та інгібує продукцію TNF- α , С [9]. Кількість прозапальних цитокінів, які продукуються жировою тканиною, прямо пропорційна розміру адипоцитів і збільшується у міру прогресування ожиріння. На початковій стадії запального процесу в жировій тканині джерелом прозапальних цитокінів є гіпертрофовані адипоцити, в подальшому вони секретуються макрофагами, кількість яких в жировій тканині значно зростає в процесі розвитку ожиріння.

Під час аналізування рівня лептину у порівнювальних групах ми встановили статистично значиме підвищення концентрації лептину у плазмі кро-

Огляди літератури, **оригінальні дослідження**, погляд на проблему, випадок з практики, короткі повідомлення ві щурів із МС ((35,19) нг/г) порівняно із групою контролю ((22,58) нг/г) ($p < 0,05$). Лептин вважається протизапальним адипокином, продукція якого зростає пропорційно збільшенню маси білої жирової тканини. Лептинові рецептори експресуються практично усіма імунними клітинами. Також лептин сприяє продукції прозапальних цитокінів (ІЛ-6, ІЛ-12, ІЛ-18 та TNF- α), хемокинів (MCP1) та ліпідних медіаторів-простагландину E2 (PGE2), цистеїніл лейкотрієну (CysLTs) та лейкотрієну B4 (LTB4) – моноцитами периферійної крові та резидентними тканинними макрофагами у щурів та людей [10] (рис. 2).

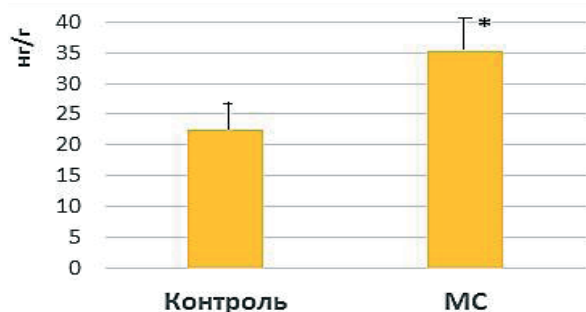


Рис. 2. Рівень лептину в крові щурів за умов змодельованого метаболічного синдрому

Герлін – це нейроендокринний гормон ШКТ (переважно дна шлунка), який стимулює голодну моторику шлунка, апетит та забезпечує позитивний енергетичний баланс, що супроводжується збільшенням ваги. Він є антагоністом лептину, регулює синтез і секрецію нейропептидів гіпоталамусу, які забезпечують регуляцію центрів голоду і насичення (нейропептид (NPY) та

агути-зв'язаний пептид (AgRP)), стимулюючи почуття голоду. У здорових людей без ожиріння рівень герліну максимально зростає натще (приблизно у 2 рази), може бути підвищеним протягом 20 хв. Після їжі і поступово знижується на 35–55%, досягаючи максимуму приблизно через годину після їжі (рис. 3).

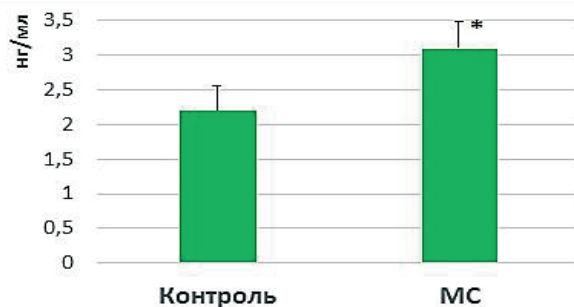


Рис. 3. Рівень греліну у крові щурів за умов змодельованого метаболічного синдрому.

При дослідженні рівня греліну у досліджуваних тварин ми встановили статистично значиме підвищення рівня греліну у щурів із МС ((3,09) нг/мл) порівняно із контролем ((2,20) нг/мл) ($p < 0,05$).

Висновок. Отже, моделювання метаболічного синдрому у щурів призводить до статистично значимого зростання рівня греліну та до дисбалансу продукції гормонів жирової тканини – лептину та адипонектину ($p < 0,05$).

Перспективи подальших досліджень. Наступним етапом є встановлення рівнів досліджуваних гормонів після різних типів баріатричних втручань для визначення найбільш патогенетично обґрунтованого методу.

ЛІТЕРАТУРА

- Eckel R. H. The metabolic syndrome / R. H. Eckel, S. M. Grundy, P. Z. Zimmet // *The Lancet*. – 2005. – No. 365 (9468). – P. 1415–1428.
- Wajchenberg B. L. Subcutaneous and visceral adipose tissue: their relation to the metabolic syndrome / B. L. Wajchenberg // *Endocrine reviews*. – 2000. – No. 21 (6). – P. 697–738.
- The role of leptin/adiponectin ratio in metabolic syndrome and diabetes / P. López-Jaramillo, D. Gómez-Arbeláez, J. López-López [et al.] // *Hormone molecular biology and clinical investigation*. – 2014. – No. 18 (1). – P. 37–45.
- Williams D. L. Leptin regulation of the anorexic response to glucagon-like peptide-1 receptor stimulation / D. L. Williams, D. G. Baskin, M. W. Schwartz // *Diabetes*. – 2006. – No. 55 (12). – P. 3387–3393. doi: 10.2337/db06-0558.
- Adiponectin in youth, relationship to visceral adiposity, insulin sensitivity, and beta-cell function / F. Bacha, R. Saad, N. Gungor, S. A. Arslanian // *Diabetes Care*. – 2004. – No. 27 (2). – P. 547–552.
- Adiponectin promotes adipocyte differentiation, insulin sensitivity, and lipid accumulation / Y. Fu, N. Luo,

- R. L. Klein, W. T. Garvey // *Journal of Lipid Research*. – 2005. – No. 46 (7). – P. 1369–1379. doi: 10.1194/jlr.M400373-JLR200.

- Modeling of metabolic syndrome of different genesis in experimental animals (guidelines). State Institution "Institute of Endocrine Pathology. V. Ya. Danilevsky of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine ". Kharkiv? 2019 – P. 10.

- Adipose Tissue Remodeling: Its Role in Energy Metabolism and Metabolic Disorders / Sung Sik Choe, Jin Young Huh, In Jae Hwang, Jong In Kim, Jae Bum Kim // *Frontiers in Endocrinology (Lausanne)*. – 2016. – No. 7. – P. 30. doi: 10.3389/fendo.2016.00030. eCollection 2016.

- Obesity, Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Adipocytokines Network in Promotion of Cancer / Rosa Divella, Antonio Mazzocca, Antonella Daniele, Carlo Sabbà, and Angelo Paradiso // *International Journal of Biological Sciences*. – 2019. – No. 15 (3). – P. 610–616. doi: 10.7150/ijbs.29599.

- Mancuso Peter. The role of adipokines in chronic inflammation / Peter Mancuso // *ImmunoTargets and Therapy*. – 2016. – No. 5. – P. 47–56. doi: 10.2147/ITT.S73223.

REFERENCES

1. Eckel, R.H., Grundy, S.M., & Zimmet, P.Z. (2005). The metabolic syndrome. *The Lancet*, 365(9468), 1415-1428.
2. Wajchenberg, B.L. (2000). Subcutaneous and visceral adipose tissue: their relation to the metabolic syndrome. *Endocrine Reviews*, 21(6), 697-738.
3. López-Jaramillo, P., Gómez-Arbeláez, D., López-López, J., López-López, C., Martínez-Ortega, J., Gómez-Rodríguez, A., & Triana-Cubillos, S. (2014). The role of leptin/adiponectin ratio in metabolic syndrome and diabetes. *Hormone Molecular Biology and Clinical Investigation*, 18(1), 37-45.
4. Williams, D.L., Baskin, D.G., Schwartz, M.W. (2006). Leptin regulation of the anorexic response to glucagon-like peptide-1 receptor stimulation. *Diabetes*. 55(12), 3387-3393. doi: 10.2337/db06-0558.
5. Bacha, F., Saad, R., Gungor, N., Arslanian, S.A. (2004). Adiponectin in youth, relationship to visceral adiposity, insulin sensitivity, and beta-cell function. *Diabetes Care*. 27(2), 547-552.
6. Fu, Y., Luo, N., Klein, R.L., Garvey, W.T. (2005). Adiponectin promotes adipocyte differentiation, insulin sensitivity, and lipid accumulation. *Journal of Lipid Research*. 46(7), 1369-1379. doi: 10.1194/jlr.M400373-JLR 200.
7. (2019). Modeling of metabolic syndrome of different genesis in experimental animals (guidelines). State Institution "Institute of Endocrine Pathology. V. Ya. Danilevsky of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine" & "Kharkiv.
8. Choe, S.S., Huh, J. Y., Hwang, I.J., Kim, J.I., & Kim, J.B. (2016). Adipose tissue remodeling: its role in energy metabolism and metabolic disorders. *Frontiers in Endocrinology*, 7, 30. doi: 10.3389/fendo.2016.00030. eCollection 2016.
9. Divella, R., Mazzocca, A., Daniele, A., Sabbà, C., & Paradiso, A. (2019). Obesity, nonalcoholic fatty liver disease and adipocytokines network in promotion of cancer. *International Journal of Biological Sciences*, 15(3), 610. doi: 10.7150/ijbs.29599.
10. Mancuso, P. (2016). The role of adipokines in chronic inflammation. *ImmunoTargets and Therapy*, 5, 47. doi: 10.2147/ITT.S73223.

CHANGES IN ADIPOPYTOKINES AND GRELIN LEVELS IN EXPERIMENTAL ANIMALS WITH METABOLIC SYNDROME

©I. Ya. Dziubanovsky, S. R. Pidruchna, A. M. Prodan, N. A. Melnyk

I. Horbachevsky Ternopil National Medical University

SUMMARY. Metabolic syndrome is a complex of pathological conditions, the criteria of which, according to the National Cholesterol Education Program-Adult Treatment Panel III, are three or more of the following disorders: abdominal obesity, fasting hyperglycemia, hypertriglyceridemia, hypertension, low cholesterol. Adipose tissue of the abdominal area plays an important role in the development and progression of insulin resistance and related metabolic disorders.

The aim – to study the level of ghrelin, leptin and adiponectin in the body of experimental animals with a simulated metabolic syndrome.

Material and Methods. The study was performed on 20 white male Wistar rats weighing 220–250 g (age 9–10 weeks). Animals in the control group (n=10) were fed a normal control diet. Male rats of the main group (n=10) were fed a diet high in fat (over 60 % energy from fat) for 16 weeks. All animals in the main group had at least 3 of the 5 MS criteria. The content of leptin and adiponectin was determined by enzyme-linked immunosorbent assay using Bio Vendor kits (Leptin Mouse / Rat Elisa, Adiponectin HMW Mouse / Rat Elisa) (Czech Republic). The level of gerlin was measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) using an enzyme-linked immunosorbent assay from Diagnostic System Laboratories (USA).

Results. When determining the level of adiponectin in our rats, we found a statistically significant decrease in the concentration of adiponectin in rats with MS, compared with the control group – (4.07±0.67) µg/ml vs. (6.15±0.54) µg/ml (p<0.05). Analyzing leptin levels in the compared groups, we found a statistically significant increase in the concentration of leptin in the plasma of rats with MS (35.19 ng/g), compared with the control group (22.58 ng/g) (p<0.05). When determining the level of ghrelin in the studied animals, we found a statistically significant increase in ghrelin levels in rats with MS (3.09 ng/ml) compared with the control (2.20 ng/ml) (p<0.05).

Conclusion. Thus, the simulation of metabolic syndrome in rats leads to a statistically significant increase in ghrelin levels and an imbalance in the production of adipose tissue hormones – leptin and adiponectin (p<0.05).

KEY WORDS: metabolic syndrome; leptin; adiponectin; ghrelin.

Отримано 21.10.2021

Електронна адреса для листування: prodan-andrii@ukr.net