

mgr Bartłomiej Rospond

**POSZUKIWANIE NEUROBIOLOGICZNEGO
MECHANIZMU UZALEŻNIENIA OD POKARMU
- WPŁYW CUKRÓW I TŁUSZCZÓW NA EKSPRESJĘ
RECEPTORÓW DOPAMINOWYCH D₂ W
GRZBIETOWYM PRAŻKOWIU U SZCZURÓW**

STRESZCZENIE PRACY DOKTORSKIEJ

Otyłość określa się, jako patologiczne nagromadzenie tkanki tłuszczowej w organizmie przekraczające jego fizjologiczne potrzeby i możliwości adaptacyjne, co może doprowadzić do niekorzystnych skutków dla zdrowia. Statystyki WHO, jak również liczne badania kliniczne wskazują jak powszechnym problemem jest otyłość, która obecnie uważana jest za jedno z zagrożeń cywilizacyjnych rozwiniętych społeczeństw oraz częstą przyczynę zgonów, określa się ją mianem epidemii XXI. Stąd zasadnym wydaje się podjęcie badań mających na celu wyjaśnienie mechanizmów powstawania otyłości.

Przełomem w terapii leczenia otyłości było zakwalifikowanie tego schorzenia, jako choroby psychicznej. Zdaniem naukowców przyczyna nadmiernej konsumpcji pokarmu może tkwić w nieprawidłowym funkcjonowaniu układu nagrody oraz jego głównego neuroprzekaźnika – dopaminy (DA). Zauważono również, że u osób otyłych, spodziewana nagroda związana z oczekiwaniem na pokarm ma dużo większe znaczenie niż nagroda związana z konsumpcją pokarmu, co prowadzi do rozwoju zaburzeń kompulsywnych („binge eating”). Wyżej wymienione zmiany neurochemiczne i behawioralne są charakterystyczne dla uzależnienia od substancji psychoaktywnych, w tym kokainy.

Przedmiotem niniejszej pracy doktorskiej było ukazanie zmian obwodowych oraz ośrodkowych (wybrane markery układu DA-ergicznego) u szczurów rasy Wistar, karmionych okresowo (2 godziny dziennie) lub bez ograniczeń przez 5 tygodni pokarmem wysokotłuszczowym lub wysokocukrowym. Analizie poddano wybrane markery otyłości m.in. poziom glukozy, cholesterolu, triglicerydów i hormonów (grelina i leptyna) oraz wykonano oznaczenie stopnia stłuszczenia wątroby. Do oceny zmian w ośrodkowym układzie nerwowym wykorzystano analizy transkryptu, poziomu białka oraz wiązania receptorów D₂ w grzbietowym prądkowiu, głównej strukturze związanej z rozwojem zachowań kompulsywnych. Kolejnym etapem badań były analogicznie oznaczenia na poziomie

molekularnym i neurochemicznym w układzie DA-ergicznym u zwierząt otrzymującymi narkotyki (kokainę) w modelu jej dożylnego samopodawania.

Po 5. tygodniach eksperymentu wykazano większe spożycia karmy oraz większy przyrost masy ciała zwierząt u szczurów spożywających pokarm wysokotłuszczowy w przeciwieństwie do zwierząt karmionych pokarmem wysokocukrowym lub standardowym.

Jak oczekiwano, u zwierząt pobierających karmę wysokotłuszczową stale lub okresowo wykazano wzrost poziomu cholesterolu (od początku do zakończenia trwania eksperymentu) oraz triglicerydów (między 2.-5. tygodniem eksperymentu). Co ciekawe, u tych szczurów stwierdzono podwyższone stężenie glukozy we krwi w 4. i 5. tygodniu eksperymentu. Powyższe zmiany metaboliczne znalazły odzwierciedlenie w poziomie stłuszczenia wątroby (oznaczenie po pięciu tygodniach doświadczenia), przy czym najwyższy poziom jej stłuszczenia zaobserwowano u szczurów z dostępem *ad libitum* do karmy tłuszczowej.

U zwierząt karmionych pokarmem wysokocukrowym istotne zmiany w stężeniu cholesterolu i triglicerydów stwierdzone między 3., a 5. tygodniem doświadczenia. Najwyższe stężenia glukozy w surowicy krwi szczurów zaobserwowano po 1-tygodniowej ekspozycji na pokarm wysokocukrowy. U tych zwierząt nie stwierdzono zmian w poziomie stłuszczenia wątroby.

W grupie z dostępem *ad libitum* do karmy wysokotłuszczowej stwierdzono wzrost poziomu leptyny oraz poziomu transkrypty receptora leptynowego. Natomiast poziom leptyny w grupie zwierząt otrzymującej pokarm wysokocukrowy nie różnił się w odniesieniu do grupy kontrolnej, choć u szczurów z ciągłym dostępem do tej karmy odnotowano spadek ekspresji mRNA genu dla receptora leptynowego. Zatem można przypuszczać, iż rodzaj

karmy i schemat jej podawania wpływa na stężenie leptyny oraz poziom transkryptu receptora dla wymienionego hormonu.

Codzienny 2-godzinny dostęp do karmy wysokotłuszczowej spowodował podwyższenie stężenia greliny we krwi u szczurów. Natomiast w grupie otrzymującej pokarm o dużej zawartości cukru wzrost stężenia greliny dotyczył zarówno zwierząt spożywających ciągle jak i okresowo ten rodzaj karmy. Co ciekawe, pomimo zmian w poziomie greliny niezależnych od rodzaju stosowanej karmy, przeprowadzone analizy molekularne wykazały wzrost ekspresji genu receptora grelinowego w grzbietowym prążkowie w grupie zwierząt spożywających pokarm wysokotłuszczowy oraz brak takich zmian podczas konsumpcji pokarmu wysokocukrowego. Warto nadmienić, iż w niniejszej pracy oceniano poziom transkryptu receptora grelinowego w prążkowie, w związku z czym ciężko jest odnieść uzyskane wyniki do zmian stężenia greliny w surowicy krwi.

Bardzo istotnym punktem projektu była weryfikacja hipotezy, czy różny rodzaj karmy (wysokotłuszczowa/wysokocukrowa) oraz dostępu do pokarmu (nielimitowany vs 2 godziny codziennie) wpływają na gęstość receptorów D_2 w grzbietowym prążkowie. Jak wykazano w badaniach klinicznych, u ludzi otyłych dochodzi do zaburzenia funkcjonowania układu DA-ergicznego, co objawia się m.in. spadkiem gęstości receptorów D_2 w grzbietowym prążkowie. Własne badania wykazały brak zmian zarówno na poziomie transkryptu, białka i wiązania receptorów D_2 w grupie zwierząt konsumującej pokarm wysokotłuszczowy, co wskazuje na brak zaburzeń strukturalnych i funkcjonalnych w analizowanym markerze układu DA-ergicznego.

W odróżnieniu od karmy o wysokiej zawartości tłuszczu, u szczurów ze stałym dostępem do karmy wysokocukrowej wykazano wzrost gęstości receptorów D_2 , który został potwierdzony dwoma metodami (analizą radioizotopową i Western Blot). W powyższej

grupie zwierząt stwierdzono również spadek powinowactwa do receptorów D₂ oraz ekspresji ich mRNA w grzbietowym prążkowie. U szczurów z okresowym dostępem do karmy o wysokiej zawartości cukru wykazano wzrost poziomu białka receptorów D₂ oraz znaczące zmniejszenie powinowactwa radioliganda do tych receptorów.

Obserwowane powyżej zmiany na poziomie receptorów D₂ nie znalazły odbicia u szczurów poddanych procedurze dożylnego samopodawania kokainy. U takich szczurów pobierających aktywnie kokainę stwierdzono spadek gęstości receptorów D₂ w grzbietowym prążkowie. A zatem, na podstawie uzyskanych własnych wyników można raczej wykluczyć – sugerowane przez niektórych autorów - podobieństwo zaburzeń układu DA-ergicznego pod wpływem naturalnej (modyfikowany pokarm) i sztucznej (kokaina) nagrody.

Podsumowując, na podstawie uzyskanych wyników można stwierdzić, iż różny rodzaj pokarmu oraz sposobu karmienia (ciągły vs okresowy) wywołuje odmienne zmiany w obwodowych markerach otyłości, ale również, zmiany w układzie DA-ergicznym mózgu. Neurobiologiczna odpowiedź wywołana poprzez konsumpcję pokarmu (naturalna nagroda) wydają się być inną, niż ta spowodowana przez zażywanie narkotyków (sztuczna nagroda).

Zrealizowany projekt badawczy przyczynił się do zgłębienia wiedzy na temat powstawania otyłości w szczególności w aspekcie zmian neurobiologicznych. Uzyskane wyniki mogą przyczynić się do polepszenia terapii otyłości oraz propagowania zdrowych nawyków żywieniowych u ludzi.