

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Экстракт *Caempferia parviflora* увеличивает потребление энергии за счет активации BAT у мышей

Сусуму Ёсино¹, Минджи Ким², Риё Аваи¹, Хирошигэ Кувахара¹, Юкио Канозэ и Тэруо Кавада^{2,4}¹ Исследовательский центр Maruzen Pharmaceuticals Co., Ltd., Фукуяма, Хирошима 729-3102, Япония² Лаборатория молекулярной функции пищевых продуктов, Отдел пищевой науки и биотехнологии, Высшая школа сельско-охотничьих наук Киотского университета, Удзи, Киото 611-0011, Япония³ Лаборатория химии питания, факультет домоводства, Женский университет Кобе, Сумасу, Кобе, Хирошима 654-8585, Япония⁴ Исследовательский отдел физиологии человека Химии, C-PIER, Киотский университет, Киото 606-8501, Япония

Ключевые

слова: АМФ, *Caempferia parviflora*, потребление кислорода, UCP1.

Корреспондент

Сусуму Ёсино, Исследовательский центр, Maruzen Pharmaceuticals Co., Ltd., Фукуяма, Хирошима 729-3102, Япония.
Тел: +81-847-52-5501; Факс: +81-847-52-5935;
Электронная почта: s-yoshino@maruzenpcy.co.jp

Информация о финансировании

Информация о финансировании не представлена.

Получено: 4 февраля 2014 г.; Пересмотрено: 10 июня 2014; Принято: 12 июня 2014 г.

Пищевая наука и питание 2014; 2(6): 634-637

doi: 10.1002/fsn3.144

Абстрактный

Caempferia parviflora (KP) относится к семейству имбирных и известна в Таиланде как тайский женьшень, Krachai Dam или Black Ginger. Ранее сообщалось, что экстракт *C. parviflora* (KPE) оказывает ряд физиологических эффектов; тем не менее, эффекты KPE против ожирения и его механизмы еще предстоит выявить. В этом исследовании мы провели эксперименты по кормлению KPE (низкая доза: 0,5% KPE, высокая доза: 1,0% KPE) на мышей, чтобы изучить эффекты против ожирения. Как для 0,5% KPE, так и для 1,0% KPE 7-недельное кормление KPE, содержащееся в диете с высоким содержанием жиров (HFD), значительно снижало прирост массы тела, накопление внутрибрюшного жира и уровни триглицеридов и лептина в плазме. В то же время введение KPE увеличивало потребление кислорода мышцей, которых кормили HFD. Мы также обнаружили, что кормление 1,0% KPE значительно увеличивало экспрессию адипонектина (UCP1) в бурой жировой ткани (BAT). Более того, введение KPE повышало уровень секрета норадреналина мочой. Эти результаты показывают, что KPE способствует энергетическому метаболизму за счет активации BAT в обеих дозах и повышает регуляцию белка UCP1 в высокой дозе. Несмотря на то, что остаются многие нерешенные проблемы, настоящее исследование показало, что KPE подавляет ожирение, вызванное HFD, за счет увеличения энергетического метаболизма.

Введение

Ожирение представляет собой серьезную всемирную эпидемию, требующую проведения различных исследований. В связи с ожирением, однако, в настоящее время большинство методов снижения веса включают лечебную физкультуру и диету. Таким образом, поиск пищевых продуктов, которые могут уменьшить ожирение, имеет большие перспективы.

Caempferia parviflora (KP) относится к семейству имбирных и известна в Таиланде как Thai ginseng, Krachai Dam или Black Ginger. Ранее было показано, что экстракт *C. parviflora* (KPE) обладает рядом физиологических эффектов, включая антиоксидантное, противовоспалительное, противоаллергическое, противоопухолевое, кардиопротекторное и антибактериальное действие (Rujjanawate et al. 2005; Tewtra kul and Subhadhirasakul 2008; Kusirisin et al., 2009; Тепаринан и др., 2010). Тем не менее, есть несколько отчетов, документирующих эффекты KPE против ожирения. Таким образом, мы исследовали влияние KPE на ожирение у мышей. То

корневища КП из Таиланда тщательно промывали в воде, сушили и измельчали. Порошок корневища экстрагировали 50% этанолом, выпаривали в вакууме и лиофилизировали с получением сухого экстракта, который в дальнейшем обозначается как KPE.

Самцов мышей C57BL/6j кормили диетой с высоким содержанием жиров (HFD; 60 ккал % жира), содержащей KPE (0,5 или 1,0%) в течение 7 недель. В этом исследовании введение как 0,5% KPE, так и 1,0% KPE значительно подавляло увеличение массы тела и внутрибрюшного жира (рис. 1А и В), а также снижало уровни триглицеридов и лептина в сыворотке (таблица S1). Известно, что уровни лептина коррелируют с весом и количеством висцерального жира у мышей и людей (Shimizu et al., 1997; Ahren, 1999); результаты настоящего исследования согласуются с этими предыдущими отчетами (рис. 1 и таблица S1). В этих экспериментах не было различий в общем потреблении калорий в течение периода исследования (рис. S1), что позволяет предположить, что причина потери веса и интраабдоминального

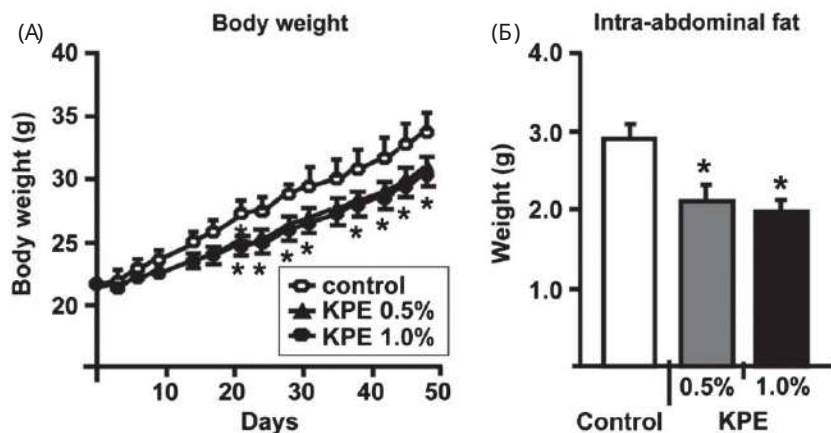


Рисунок 1. КРЕ подавляет увеличение массы тела и образование внутрибрюшного жира у мышей C57BL/6j. Временные изменения массы тела (А) и количества внутрибрюшного жира (В) у мышей C57BL/6j с лечением КРЕ (0,5% и 1,0%) и без него в течение 7 недель при кормлении HFD. Эти процедуры экспериментов на животных были одобрены Комитетом по уходу и использованию животных Maruzen Pharmaceuticals Co., Ltd. (FD-A0012). Каждая полоса представляет собой среднее SE (n = 8). * P < 0,05 по сравнению с контрольной группой, не получавшей лечения. КРЕ, экстракт *K. parviflora*; HFD, диета с высоким содержанием жиров.

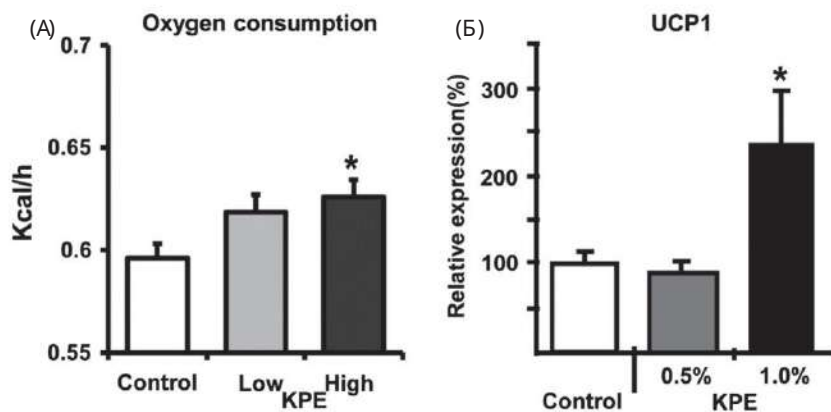


Рисунок 2. КРЕ увеличивает потребление кислорода и уровни экспрессии UCP1 БАТ у мышей C57BL/6j. (А) Потребление кислорода мышцами C57BL/6j, которым перорально вводили КРЕ (0, 0,035 или 0,105 мг / г массы тела). Потребление кислорода измеряли каждые 8 минут в течение 24 часов с использованием nepřимой калориметрической системы (Oxymax; Columbus Instruments, Колумбус, Огайо). Каждая полоса представляет собой среднее SE (n = 8). * P < 0,05 по сравнению с контрольной группой, не получавшей лечения. (В) Уровни экспрессии UCP1 в митохондриях БАТ у мышей C57BL/6j с обработкой КРЕ (0,5% и 1,0%) и без нее в течение 7 недель при кормлении HFD. Митохондрии БАТ выделяли и очищали, как сообщалось ранее, и общее содержание белка в митохондриях БАТ измеряли с помощью набора для анализа белка DC (Bio-Rad, CA). Уровни экспрессии UCP1 в митохондриальной фракции измеряли вестерн-блоттингом. Митохондриальный экстракт из БАТ подвергли SDS-PAGE. Уровни экспрессии UCP1 в необработанной контрольной группе были установлены за 100%, а относительные уровни экспрессии UCP1 были представлены как кратность индукции по сравнению с необработанной контрольной группой. Каждая полоса представляет собой среднее значение SE (n = 8). * P < 0,05 по сравнению с контрольной группой, не получавшей лечения. UCP1, разобщающий белок 1; БЖТ, бурая жировая ткань; КРЕ, экстракт *K. parviflora*.

жира было увеличение потребления энергии. Чтобы изучить эту возможность, мы исследовали изменения потребления кислорода с использованием предыдущего метода (Goto et al. 2012) после перорального введения КФЭ (низкая доза; 0,035 мг / г, высокая доза; 0,105 мг / г) (рис. 2А). Потребление кислорода после введения было значительно выше у мышей, получавших КФЭ. Этот результат указывает на то, что КРЕ увеличивает потребление кислорода, таким образом, это один из механизмов, способствующих его эффекту против ожирения.

У грызунов бурая жировая ткань (БЖТ) является важным органом для расходования энергии посредством термогенеза (Lowell et al., 1993). Считается, что разобщающий белок-1 (UCP1) играет важную роль в термогенезе при БАТ (Rothwell and Stock 1979; Feldmann et al. 2009; Lee et al. 2012). UCP1 вырабатывает тепло, пропуская белки через внутреннюю мембрану митохондрий, тем самым разобщая окислительное фосфорилирование без продукции АТФ. Удаление UCP1 вызывает чувствительность к холоду и ожирение.

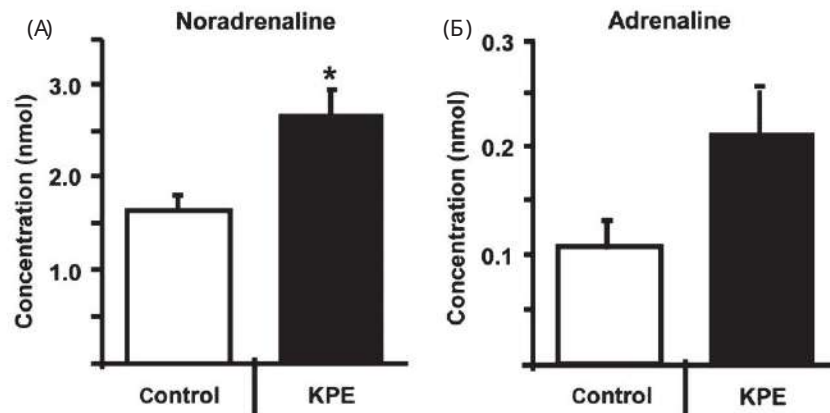


Рисунок 3. КРЕ увеличивает секрецию норадреналина в моче у мышей C57BL/6J. Мочевая секреция норадреналина (А) и адреналина (В) в C57BL/6J мышцах обработкой 0,5% КРЕ (n = 8) и без обработки КРЕ (n = 6) в течение 2 недель при кормлении HFD. Мочевой адреналин и норадреналин уровни измеряли анализом ВЭЖХ. Эти процедуры были одобрены Институтом иональным комитетом по уходу за животными и их использованию Женской организацией Кобе. Университет, факультет домоводства (A316). Каждая полоса представляется со средним значением SE *P <0,05 по сравнению с необработанной контрольной группой. КРЕ, К. экстракт гарвифлоры.

у мышцей. Таким образом, UCP1 в BAT не только для термогенеза (Rothwell, Stock, 1979; Lowell et al., 1993; Feldmann et al., 2009; Lee et al., 2012). Предыдущие исследования показали, что БЖТ помогает улучшить метаболизм глюкозы и что это имеет решающее значение для нормального функционирования головного мозга а лептин, гормон, подавляющий аппетит, вырабатывается в белой жировой ткани (WAT) (Okamoto-Ogura et al., 2011). Это говорит о том, что НДТ является чрезвычайно важным органом механизмов борьбы с ожирением. Недавно было сообщено, что помимо человеческих плодов и новорожденных, BAT также существует у взрослых людей (Cypess et al., 2013; Saito 2013), и что BAT-подобные клетки (бежевые клетки, также известные как «ЯРКИЕ» клетки), которые образуются в WAT также существуют (Wu et al. 2012; Lidell et al. 2013). Как НДТ присутствует как у людей, так и у грызунов, это многообещающее в качестве мишени для снижения ожирения посредством термогенеза. Поэтому мы исследовали влияние введения КРЕ на экспрессию UCP1 в BAT, используя ранее используемые методы (Кэннон и Линдберг, 1979; Кавада и другие. 1991) для изучения возможных механизмов воздействия на ожирение. В настоящее время исследования, хотя мы обнаружили, что введение 0,5% КРЕ в течение 7 недель не дало эффекта на уровни экспрессии UCP1 в BAT, 1,0% КРЕ значительно повышал эти уровни (рис. 2Б). Эти результаты показывают, что КРЕ способствует энергетическому метаболизму за счет активации BAT с дозозависимым повышением экспрессии UCP1.

Экспрессия UCP1 регулируется симпатическим нервом. активностью (Мори и др., 1984; Фельдманн и др., 2009). Мы предположили, что КРЕ активирует симпатические нервы. Чтобы проверить эту гипотезу, мы измерили концентрацию адреналина и норадреналина в моче, используя ранее используемый метод (Davidson and Fitzpatrick 1985), которые секретируются при активации симпатического нерва. В этом исследовании,

2-недельное введение 0,5% КРЕ значительно повышала секрецию норадреналина в моче у C57BL/6J мыши (рис. 3А). Результаты настоящего эксперимента позволяют предположить, что кормление КРЕ способствует секреции норадреналина, тем самым увеличивая расход триглицеридов и приводя к снижению уровня триглицеридов в сыворотке крови. Известно, что адреналин и норадреналин вызывают повышение циклического уровня аденозинмонофосфата (цАМФ) в адипоцитах, и что cAMP регулирует экспрессию UCP1 посредством PKA (Cannon and Lindberg 1979). Эти результаты свидетельствуют о том, что КРЕ употребление имеет эффект против ожирения.

В настоящее время исследования как 0,5% КРЕ, так и 1,0% КРЕ кормление с снижением прибавки массы тела, внутрибрюшной жир накопление и уровни триглицеридов и лептина в плазме. Кроме того, КРЕ способствовал секреции норадреналина. Более того, введение 1,0% КРЕ значительно увеличило уровни экспрессии UCP1 в BAT, тогда как 0,5% КРЕ кормление никак не повлияло. Эти результаты свидетельствуют о том, что при низкой дозе (КРЕ 0,5%) КРЕ способствует потреблению энергии путем активации BAT без повышения экспрессии UCP1 за счет повышения уровня цАМФ в клетках через усиление секреции норадреналина. В высшей дозе (КРЕ 1,0%), КРЕ способствует энергопотреблению за счет активации BAT с повышающей регуляцией белка UCP1. Хотя ряд аспектов требует уточнения, такие как идентификация активных компонентов в КРЕ и механизмы, ответственные за увеличение симпатического нерва активности, настоящее исследование продемонстрировало, что КРЕ является потенциально полезным пищевым продуктом для поддержания и уменьшения ожирения.

Конфликт интересов

Ни один не заявлен.

С. Йошино и соавт.

KPE увеличивает энергопотребление за счет активации BAT

использованная литература

Ahren, B. 1999. Лептин и инсулин в плазме у мышей C57BL/6J на диете с

высоким содержанием жиров: связь с последующими изменениями массы тела. *Акта Физиол. Сканд.* 165: 233-240.

Кэннон Б. и О. Линдберг. 1979. Митохондри из бурой жировой ткани: выделение и свойства. *Методы Энзимол.* 55:65-78.

Cypess, AM, AP White, C. Vernochet, TJ Schulz, R. Xue, CA Sass, et al. 2013.

Анатомическая локализация, профилирование экспрессии генов и функциональная характеристика бурого жира у взрослых человека. *Нац. Мед.* 19: 635-639.

Дэвидсон, Д. Ф. и Дж. Фицпатрик. 1985. Простой, оптимизированный

и экспресс-анализ на свободные катехоламины в моче с помощью ВЭЖХ с электрохимическим обнаружением. *Анна. клин. Биохим.* 22: 297-303.

Фельдманн, Х. М., В. Голубова, Б. Кэннон и Дж.

Недергер. 2009. Аблиция UCP1 вызывает ожирение и отменяет индуцированный диетой термогенез у мышей, освобожденных от теплового стресса, живущих при термонейтральности. *Клеточный метаб.* 9: 203-209.

Гото Т., А. Тераминами, Дж. Юли, К. Охьяма, К. Фунакоси, Ю.И. Ким и др. 2012.

Тилирозид, гликозидный флавоноид, улучшает метаболические нарушения, вызванные ожирением, путем активации и передачи сигналов адипонектина с последующим усилением окисления жирных кислот в печени и скелетных мышцах у мышей с ожирением и диабетом. *Дж. Нутр. Биохим.* 23:768-776.

Кавада Т., С. Сакабе, Н. Аоки, Т. Ваганабэ, К. Хигетта, К.

Иваи и др. 1991. Прием подсластителей и острых ингредиентов увеличивает содержание термогена в бурой жировой ткани крысы. *Дж. Агр. Пищевая хим.* 39: 651-654.

Кусирисин В., С. Шичайратанакон, П. Лерттракарнн, Н.

Lailerd, M. Suttajit, C. Jaikang, et al. 2009. Антиоксидантная активность, содержание полифенолов и антилипазонное действие некоторых тайских лекарственных растений, традиционно используемых у больных сахарным диабетом. *Мед. хим.* 5:139-147.

Ли, Дж. Ю. Н. Такахаши, М. Ясубути, Ю.И. Ким, Х.

Хашизаки, М. Дж. Ким и др. 2012. Трийодтиронин индуцирует экспрессию UCP-1 и митохондриальный термогенез в адипоцитах человека. *Являясь. Дж. Физиол. Клеточная физиол.* 302: C463-C472.

Лиделл МЭ., М. Дж. Бетц, О. Далгвист Лейнгард, М. Хеглин, Л.

Эландер, М. Славик и др. 2013. Доказательства существования двух типов бурой жировой ткани у человека. *Нац. Мед.* 19: 631-634.

Лоуэлл, Б. Б., В. С. Сузулик, А. Хаманн, Дж. А. Ловиттс, Дж.

Химмс-Хаген, Б. Бойер и др. 1993. Развитие ожирения у трансгенных мышей после генетической абляции бурой жировой ткани. *Природа* 366: 740-742.

Мори Г., Ф. Буйо, М. Комб-Джордж и Д. Рикье.

1984. Норадреналин контролирует концентрацию разобщающий белок бурой жировой ткани. *ФЭБС лат.* 166: 393-396.

Окамац-Огура Ю. Дж. Нио-Кобаяши, Т. Иванага, А. Терао, К. Кимура и М. Сайто.

2011. Возможное участие разобщающего белка 1 в контроле аппетита с помощью лептина. *Эксп. биол. Мед.* 236: 1274-1281.

Ротвелл, штат Нью-Джерси, и М. Дж. Сток. 1979. Роль бурой жировой ткани в термогенезе, вызванном диетой. *Природа* 281:31-35.

Руджанавате К., Д. Канджя Напати, Д. Аморилендисион и С.

Поджанарун. 2005. Эффект против язву желудка *Caempferia parviflora*. *Дж. Этнофармакол.* 102:120-122.

Сайто, М. 2013. Бурая жировая ткань как регулятор расхода энергии и жировых отложений у человека. *Диабет метаб. Дж.* 37:22-29.

Симидзу Х., Ю. Шимомура, Р. Хаяси, К. Отани, Н. Саито, Н. Футахатари и др. 1997.

Концентрация лептина в сыворотке связана с общим жиром в организме, но не с распределением абдоминального жира. *Международ. Дж. Обес. Относ. Метаб. Беспорядок.* 21: 536-541.

Тепаринан П., П. Савасди и М. Рэндалл. 2010. Возможные механизмы

вазореакции 5,7-диметоксифлавона из *Caempferia parviflora* в аорте крысы. *Фитотер. Рез.* 24:1520-1525.

Тевтракул С. и С. Субхадхирасакул. 2008. Эффекты

соединения из *Caempferia parviflora* на продукцию оксида азота, простагландина E2 и фактора некроза опухоли альфа в клетках макрофагов RAW264.7. *Дж. Этнофармакол.* 120:81-84.

Ву, Дж., П. Бостром, Л. М. Спаркс, Л. Йе, Дж. Х. Чой, А. Х.

Джанг и др. 2012. Бежевые адипоциты представляют собой особый тип термогенных жировых клеток у мыши и человека. *Ячейка* 150: 366-376.

Вспомогательная информация

Дополнительную вспомогательную информацию можно найти в онлайн-версии этой статьи:

Таблица S1. Параметры плазмы, оцененные у мышей C57BL/6J. Образцы крови собирали у мышей C57BL/6J с (0,5% или 1,0% KPE) и без (HFD) обработки KPE в течение 7 недель. Измеряли уровень глюкозы, триглицеридов, свободных жирных кислот, инсулина и лептина в крови. Значения являлись средними значениями \pm SE (n = 8) * P < 0,05 по сравнению с контролем HFD группы.

Рисунок S1. Общее потребление калорий мышцами C57BL/6J на HFD. Общее потребление калорий мышцами C57BL/6J с (0,5% или 1,0% KPE) и без (контроль; HFD) в течение 7 недель. Значения средние \pm SE (n = 8).

Рисунок S2. Вестерн-блот анализ UCP1 в BAT. Два микрограмма митохондриально-экстракта из BAT контрольных мышей C57BL/6J или мышей, получивших KPE (0,5% и 1,0%) в течение 7 недель при кормлении HFD, подвергали SDS-PAGE. UCP1 был иммунодетектирован с использованием UCP1-специфического антитела. Относительный контроль; те же митохондриальные белки в BAT мышей, получивших стандартную диету.