

RÉSZLETES SZAKMAI ZÁRÓJELENTÉS:

A kutatási project célja az energetikai folyamatokat (táplálékfelvétel – testsúly – testösszetétel – hőszabályozás) befolyásoló peptidok hatásainak és a hatások korfüggő változásainak vizsgálata volt, azzal a feltételezéssel, hogy a változások legalábbis részben segíthetnek megérteni a középkorúakra jellemző elhízást és az időskori testsúlyvesztést/sarcopeniát. Az elhízásról és a sarcopeniáról egyaránt elmondható, hogy nagyon nagy klinikai jelentőségük miatt szükség lenne a kialakulás folyamatának jobb megértésére.

A vizsgálatokat lassította, hogy az első év után a programban résztvevő kutatók változtak: ketten (Hummel Z, Szelényi Z) előre nem tervezett nyugdíjba mentek (1 év után), egy másik résztvevő (Pétervári E) másfél évig szülői szabadságon, ill. GYED-en volt, egy a program második évében munkahelyet változtatott (Kanizsai P), egy pedig (Pákai E) férjét kísérve 2007 óta fizetés nélküli szabadságra (külföldi munkavállalásra) távozott. A létszám csökkenése és a következményesen nagyobb oktatási terhelés miatt a már megfelelő korú állatok felhasználása sem történt folyamatosan, a tervezett vizsgálatok csúsztak. Így a határidő módosítását kellett kérnem. A program 4. évében egy új kutató (Soós Sz) és tudományos diákkörös hallgatók kapcsolódtak be a munkába. Ennek megfelelően vizsgálataink nem pontosan az előzetes tervek menetrendje szerint történtek, de jelentős eredményeink vannak, és még folynak elkezdett vizsgálatok. Eredményeink egy részének közzlése már folyamatban van, más része rövidesen benyújtásra kerül. Kérem, hogy legyen lehetőség a minősítési eljárásban későbbi módosításra a következő két év közleményeinek figyelembevételével.

AZ EREDMÉNYEK ISMERTETÉSE

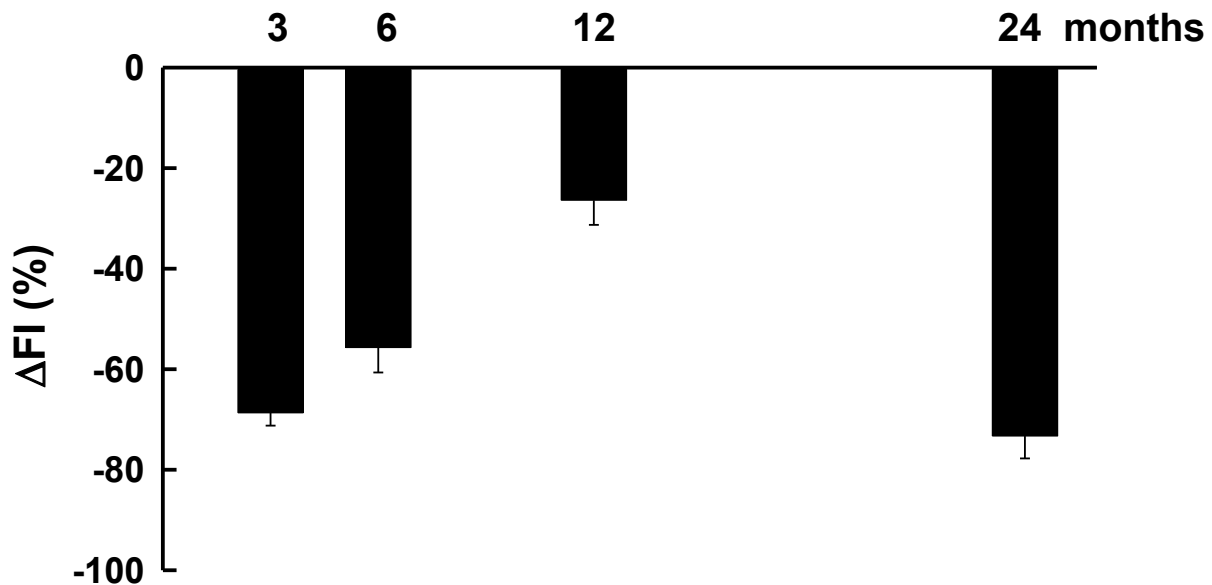
A melanocortin rendszer vizsgálata

Először a melanocortin rendszer endogén agonistájának, az alpha-MSH-nak a pontos hatásait kívántuk tisztázni hím Wistar patkányokban. Automatizált táplálékfelvétel mérő (Feed-Scale) rendszerben vizsgálva, ez a peptid agykamrába (ICV) adva dózisfüggően gátolta mind a spontán, mind pedig a 24-órás éhezés által indukált (refeeding) táplálékfelvételt (= anorexigén hatás). Más vizsgálatokban, akut kísérletekben (indirekt kalorimetriás Oxymax rendszerben) általában változó mértékű anyagcsere és testhőmérséklet emelő hatását figyeltük meg, azaz a peptid katabolikus hatásának nevezhető.

A testhőmérsékletre gyakorolt hatások azonban magukban hordoztak egy ellentmondást: az anyagcsere emelkedését általában a farokbőr hőmérsékletének emelkedése (azaz a hőleadás fokozódása) – soha nem a csökkenése – kísérte, azaz hőszabályozási szempontból a peptid hatása nem bizonyult koordináltnak. Az anyagcsere fokozódással a maghőmérséklet függvényében majdnem szimultán vazodilatáció megakadályozta a testhőmérséklet további emelkedését: a maghőmérséklet emelkedése és a kiindulási hőmérséklet között negatív korrelációt találtunk. A jelenség lényeges, mert magyarázatot adhat az alpha-MSH 30 éve ismert, de máig nem tisztázott antipyreticus hatására. Valóban: az LPS-láz 120. percében ICV adott alpha-MSH azonnali masszív bőr-vazodilatációt és a láz csökkenését eredményezte.

Az anorexigén hatás erősen függött az életkortól: juvenilis (növendék) állatokban (6-9 hét), amelyekben a zsírtömeg még minimális, alig volt hatás a refeeding-re. Kifejezett hatást a nagyobb retroperitonealis és epididymalis zsírtömeeggel rendelkező „fiatal felnőtt” csoportban (3-4 hónap) láttunk, majd a középkorú, nagyon magas zsírtömegű csoportokban (6, ill. 12 hónap) az anorexigén hatás jelentősen mérséklődött, végül azonban maximálisra fokozódott a még mindig nagyon magas zsírtartalommal rendelkező 18 és 24 hónapos állatokban (24 hónaposakban már egy keveset csökkent testsúly és a zsírtartalom, viszont szignifikánsan

csökkent a mintaként vizsgált m. tibialis ant. izom mérete). A 24-órás éhezést követő **refeeding gátlása az egyes korcsoportokban eltérő**. A gyors testsúly-gyarapodású növendék csoportban (21,9% gátlás) az anorexigén hatás feltehetően nem tudja jelentősen módosítani az erős orexigén tónust, fiatal felnőttekben azonban igen (68,7%). Középkorúakban fokozatosan csökken az anorexigén hatás (55,7%, majd 26,4%) miközben még valamelyest nő az állatok testsúlya és jelentősen nő a zsírtartalma, míg a két öreg csoportban drámaian fokozódik az anorexigén hatás (94,7% és 74,3%), jóllehet a zsírtartalom még mindig magas (24 hónaposakban már elkezdi csökkenni, a testsúllyal és izomtömeggel együtt).



Székely et al., Front. Biosci. (in press)

Az alpha-MSH 7 napos ICV infúziója (biotelemetriás MiniMitter rendszerben) további összefüggéseket tárt fel. A 6-9 hetes és a 3-4 hónapos állatokban a táplálékfelvétel az infúzió első napjaiban esett vissza, a testsúly csökkenése is mérsékelt volt (főleg a juvenilis csoportban, ahol a normálisan még növekszik a testsúly és ennek mérsékelt lassulását láttuk). A 12 hónaposakban nem volt szignifikáns a csökkenés egyik paraméterben sem, míg 24 hónaposakban erőteljes anorexiát és jelentős súlycsökkenést láttunk. **Az anorexigén és metabolikus hatások azonban nem változtak párhuzamosan.** A legfiatalabb csoportban az infúzió nem befolyásolta sem a testhőmérsékletet, sem az anyagcsere indikátoraként elemzett szívfrekvenciát. A 3-4 hónapos csoportban a nappali (inaktív fázis) hőmérsékleti minimumok emelkedtek, de nem a szívfrekvencia. A 12 hónaposakban a cirkadián ingadozások mindkét fázisában jelentősen emelkedett a maghőmérséklet is és a szívfrekvencia is, míg a 24 hónaposakban csak az inaktív fázisban nőtt értékelhetően a két paraméter (az éjszakai szívfrekvencia mérsékelt az infúzió első 3 napján is). Tehát míg az anorexigén hatás a 12 hónaposokban volt a legkisebb, a metabolikus hatás épp ebben a csoportban volt legkifejezettebb.

A test zsírtartalmának növekedése középkorúakban elvileg hozzájárulhatott leptin-rezisztencia kialakulásához, s mivel a leptin az egyik legjelentősebb regulátora a melanocortin aktivitásnak, megvizsgáltuk a leptin-infúzió hatásainak változásait különféle kalóriatartalmú tápokon nevelt 6 hónapos állatokban (normally fed = NF6; calorie restricted = CR6; high fat fed = HF6) összehasonlítva az alpha-MSH infúzió hatásaival hasonló állatokon. (A HF6 csoport bizonyos értelemben az öreg állatoknak megfelelő csoportnak tekinthető.)

A 2-hónapos állatokhoz (NF2) képest a jelentősen magasabb zsírtartalmú NF6 csoportban a leptin infúzió anorexigén hatása kissé kifejezettebb volt, lényegesen kisebb volt azonban a HF6 csoportban és teljesen hiányzott a CR6 csoportban. Míg az elhízott HF6 állatok rezisztenciája érhetőnek tűnt, a CR6 csoporté nem – ez a rezisztencia virtuálisnak bizonyult: a sovány NF2 és a CR6 állatok fokozott orexigén-érzékenységet a leptin nem tudta jól antagonizálni (NPY adása a normálnál szignifikánsan nagyobb táplálékfelvételt indukált a CR csoportban, míg hatástalan volt a HF állatokban). A metabolikus hatások (a testhőmérséklet és szívfrekvencia emelése) is a CR6 állatokban voltak a legkifejezettebbek, jelentősek voltak még a kis zsírtartalmú NF2 csoportban, de a zsírtartalom növekedésével (NF6<HF6) egyre gyengültek. Az elhízás (HF6) tehát valódi leptin-rezisztenciát hozott létre, míg sovány állatokon az anorexigén hatás hiánya virtuális leptin-rezisztenciát takar.

Hasonló vizsgálatok azonban alpha-MSH infúziójával más eredményre vezettek. Az infúzió NF6, CR6 és HF6 állatokban egyaránt csökkentette a táplálékfelvételt és a testsúlyt, a metabolikus hatások (a testhőmérséklet és szívfrekvencia növekedése) azonban csak a CR6 csoportban voltak kifejezettek, a többiben alig változtak. A test zsírtartalmának jelentős növekedése tehát (a leptinnel ellentétben) nem befolyásolta értékelhetően az alpha-MSH anorexigén hatását.

A középkorú (6-12 hónapos) és öreg (18-24 hónapos) állatok **táplálékfelvételre vonatkozó melanocortin érzékenységének különbségei tehát valószínűleg nem az állatok zsírtartalmával magyarázhatók, hanem azok kimondottan az életkorral kapcsolatos változások**: középkorúakban alacsony a melanocortin érzékenység, ami hízásra hajlamosít, legalább részben magyarázva a középkorúak elhízását. Öregekben viszont a nagyon magas érzékenység anorexiára hajlamosít. Megjegyzendő, hogy az anorexigén és metabolikus hatások nem párhuzamosan változnak az életkorral, viszont a 24-hónapos csoportban a masszív anorexigén hatás mellett kifejezettek a metabolikus hatások is. Az anorexia folyamatosan a szükségletnél alacsonyabb táplálékfelvételt jelent, azaz krónikus részleges éhezésnek felel meg (különösen folyamatosan magas anyagcsere mellett), s mint ilyen, a gluconeogenesis céljára fokozott fehérje-katabolizmust involvál, ami késői stádiumban az izomtömeg csökkenéséhez (sarcopenia) is hozzájárulhat a zsírtömeg mérséklődése mellett. A vizsgált izom tömegének csökkenését ebben a korcsoportban méréseink is igazolták.

Érdekes módon, a melanocortin antagonist HS024 centrális adása 3-4 hónapos patkányokban nemcsak hyperphagiát, hanem koordinált hőszabályozási választ (hipometabolizmus, vazodilatáció, hypothermia) is elindított. Az antagonist hatása tehát csak részben a melanocortinok anorexigén és egyes hőszabályozási hatásainak gátlása, feltehetően más módokon is befolyásolja az energetikai egyensúlyt. Az alpha-MSH hatásának kivédésére irányuló vizsgálatok és az életkorfüggő hatások vizsgálata még folyamatban van.

A corticotropin releasing hormon (CRH) hatásainak vizsgálata

Agykamrai injekció során a 0,3 – 1 – 3 microgram CRH 25 °C-os környezetben az alpha-MSH-hoz hasonlóan fokozta az anyagcserét és a testhőmérsékletet, valamint csökkentette a spontán táplálékfelvételt és a refeeding-et, azaz már kis dózisban is katabolikus hatású volt. A hőmérsékleti hatás az alpha-MSH-hoz hasonlóan inkoordinált volt: a hőmérséklet emelkedését a szimultán vazodilatáció limitálta. Az anyagadás előtti maghőmérséklet és a maghőmérséklet változása itt is negatív korrelációt mutatott, magas induló maghőmérséklet esetén a hatás inkább a maghőmérséklet csökkenését jelentette.

Míg 0,3 microgram CRH 3-hónapos állatokban a spontán táplálékfelvételt szignifikánsan csökkentette, 12-hónaposakban ez az anorexigén hatás elmaradt. Refeedinggel kapcsolatosan hasonlóak az eredmények. Előzetes adataink arra utalnak, hogy nagyobb dózis esetén is

mérséklődik a hatás, de 24-hónapos állatokban ismét kifejezettebb az anorexia. Ezen vizsgálatok befejezése után a CRH antipyreticus hatását is vizsgálni szándékozunk.

Az orexigén hatások változása az életkorral és testsúllyal

Az eredetileg tervezett ghrelin a témánk vonatkozásában valószínűleg kisebb jelentőségű, és alkalmazásával sok technikai jellegű problémánk volt. Ezért az orexigén anyagok közül inkább a legfontosabbnak tekintett NPY-t választottuk, mivel erről a peptidről sok tapasztalatot gyűjtöttünk – ezekkel egybevetve kétségtelen a peptid anabolikus jellege. Az NPY hőszabályozási hatásai sem koordináltak: jóllehet az anyagcserét csökkenti, de a hőleadást nem fokozza.

Az NPY agykamrai injekciója táplálékfelvételt indukál. Ez azonban különféle életkorokban eltérő jellegű és mértékű. A 2-hónapos patkányokban gyors a táplálékfelvétel és kb. 1 órán át tart. Sokkal gyorsabb és 40 percen át szignifikánsan nagyobb a 12-hónapos állatok táplálékfelvétele: összesen valamivel többet esznek és ezeknél is kb. 1 órán át tart a hatás. Ezzel szemben 24-hónapos állatokban lassabban indul a fogyasztás, mérsékeltebb, és az első 20 perc után tovább lassul a táplálékfelvétel, ami az első óra végén magasan szignifikánsan alacsonyabb, mint a 2-hónaposokban és még a 110. percben is szignifikánsan elmarad azoktól. Ez összhangban van azzal, hogy a középkorúakban fokozott, míg az öregekben csökkent az orexigén peptid hatásossága – elősegítve a középkorúak súlynyerését, obesitását és az időskori anorexiát.

Miként a leptin/melanocortin hatások elemzésénél említettük, az NPY hatásossága nem csupán az életkortól függ, hanem azonos korcsoporton belül a testösszetételtől is: a NF6-hoz képest a CR6 patkányokban fokozott NPY-választ láttunk, míg a HF6 állatokban az NPY teljesen hatástalan volt.

Az életkori eltérés azonban nem magyarázható csupán a testösszetétellel, mivel a 12 és 24 hónapos állatok kb. egyforma súlyúak voltak és a vizsgált zsírszöveti minták nagyságában sem volt jelentős különbség.

FONTOSABB KÖVETKEZTETÉSEK

Mind a katabolikus peptidekkel (alpha-MSH, CRH), mind az anabolikus NPY-nal nyert eredményeink alátámasztják azt a hipotézist, miszerint középkorúakban az energetikai folyamatokban involvált peptidek egyensúlya orexigén/anabolikus túlsúlyt mutat, míg idősokban az egyensúly fordított irányú eltolódása hozzájárulhat az anorexia/sarcopenia kialakulásához. A táplálkozási és a metabolikus hatások nem szükségszerűen párhuzamosan változnak az életkorral, de idősokban az orexigén tónus mellett a metabolikus hatások is erősek. További részletes vizsgálatok szükségesek.

KAPCSOLÓDÓ VIZSGÁLATOK, PERSPEKTÍVÁK

Mivel fentiek alapján a leptin nem kizárólagos modulátora az energetika peptiderg szabályozó rendszereinek, a perifériás afferenciáció szerepét is kívántuk vizsgálni. Ismert, hogy az afferens vagus sok információt szállít (CCK, ghrelin, glucose, stb.) a n. tractus solitarii felé, ahonnan többek között a hypothalamus magokat befolyásoló összeköttetések is származnak. Egyes adatok a CCK életkorral növekvő szerepéről számoltak be a jóllakottság-érzet kiváltásában. Korábbi adataink szerint a vagus capsaicinnel történő lokális deszenzitizálása kivédi a postprandialis hipermetabolizmus és hyperthermia bizonyos formáit, amelyekben katabolikus rendszerek aktiválása történik. Jelen vizsgálatunkban elemeztük hasonló capsaicin deszenzitizáció hatását az éhezési hipometabolizmus kialakulására (ami katabolikus rendszerek szuppresszióját, esetleg anabolikusok erősödését jelenti). Azt találtuk, hogy az

abdominalis vagus afferensek capsaicin-deszenzitizációja után patkányban az éhezésre kialakuló hipometabolizmus mérsékeltebb, ami fokozott testsúlyvesztést eredményez. Hasonló következtetést enged meg az az eredményünk is, hogy TRPV1 receptor knockout egerekben a cirkadián hőmérsékleti változások nappali (inaktív periódus) mélypontjai az éhezés során kevésbé csökkennek, mint wild-type egerekben, azaz a hipometabolizmus ilyenkor mérsékeltebb. Ennek alapján tervezzük ezeket a vizsgálatokat különböző korú TRPV1 hiányos állatokon (patkány, egér) is elvégezni, valamint orexigén és anorexigén peptidek hypothalamus-beli expressziójának (ill. receptoraik expressziójának) vizsgálatával az involvált peptideket kimutatni és perifériás ingerekre adott változásaik korfüggését keresni.

Eredményeink alapján tervezzük az előzőekhez hasonló módon más peptidek és antagonistáik hatásának vizsgálatát, a hatások korfüggésének elemzését. Tervezzük továbbá nem kalória-restrikcióval, hanem folyamatosan nagyobb fizikai aktivitással alacsony testsúlyon tartott állatokban vizsgálni az energetikai szabályozásokban fontos peptidek szerepét, szintén az életkor függvényében – ez az energetikai szabályozási változások késleltetésének és a sarcopenia megelőzésének a lehetőségét veti fel.