

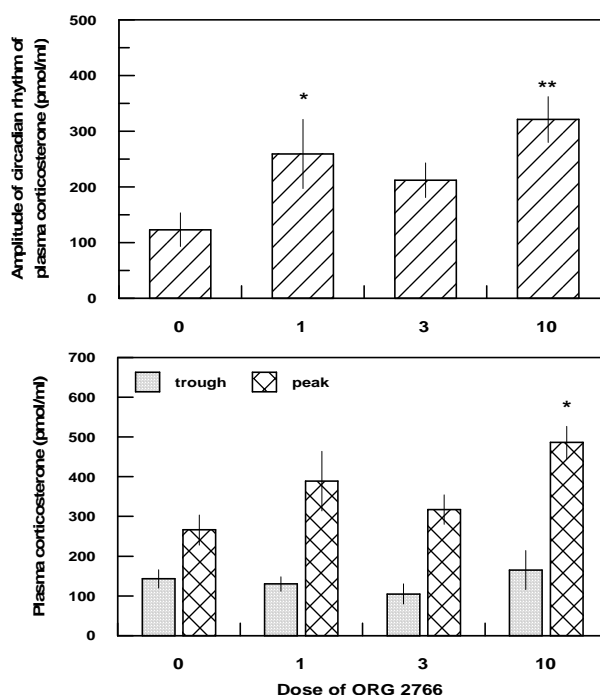
A) A neurodegeneráció és az agy öregedésének hormonális háttere

Az agy öregedése és a normális öregedési folyamattól eltérő patológiás neurodegeneráció (neurodegeneratív betegségek) kutatása szorosan összefügg a neuroendokrin szabályozási folyamatok „öregedésével”, melynek elindítója a reprodukciós hormonális rendszerek involúciója a klimaktérium alatt és azt követően. Az egyik jellegzetes hormonális változás az öregedés során az elnyújtott mellékvesekéreg hormonális stressz válasz és a glukokortikoid napi ritmus beszűkülése. Az irodalmi adatok végkicsengése abba az irányba mutat, hogy az öregedés során hiperkortikalizmussal kell számolni. Arra, hogy a hiperkortikalizmus oka miben rejlik, egyelőre nem tudunk választ adni. A gonád hormonok szerepe a neuronális involúcióban az öregedés során nyilvánvalónak tűnik. Elsősorban az ösztrogénekről tételezik fel, hogy markáns neuroprotektív hatással rendelkeznek.

Akárcsak az agy fejlődése szempontjából, ugyanúgy az agy öregedése során is számolni kell neurotrofikus (neuroprotektív) *versus* neurosztatikus (neurodestruktív) hormonális folyamatokkal. Kutatásaink arra utalnak, hogy a glukokortikoidok rendelkeznek neurosztatikus hatással az öregedés során. Ezen a kutatási területen kapott eredményeink a következők:

1. Kimutattuk, hogy a krónikus glukokortikoid túlsúly (kortikoszteron sc. implantálása) fokozza a szerotoninerg idegrostok degenerációját öreg patkányokban, míg a kolinerg rostok degenerációja nem fokozódik számottevően (3, 8). Az idegrostok (axonok) degenerációjának vizsgálata az öregedés során rutin módszerré vált, és ebben vezető szerepünk adódott a nemzetközi kutatásokban is. Részletes vizsgálatokat végeztünk félmajmokon is (*Tupaia belangeri*), nemzetközi kooperációban, az öregkori szerotoninerg rostdegenerációt illetően, és kimutattuk, hogy a hippocampusban az 5-HT rostsűrűség régió-specifikus módon csökken öregkorban (13).
2. Megtettük a kezdeti lépéseket az ösztrogének szerepének vizsgálatára a neuronok öregedése szempontjából. Számos kísérlet van még folyamatban ezen a területen. Az eddig megjelent közleményünkben, együttműködésben az Új-Delhi-i All India Institute of Medical Sciences Anatómiai Intézetével, részletesen leírtuk immuncitokémiai módszerrel az alfa és a béta típusú ösztrogén receptorok ($ER\alpha$ és $ER\beta$) jellegzetességeit az öreg nőtény patkányok hippocampusában (15). Meghatározzuk az ösztrogén α és β receptorok kolokalizációjának mértékét a hippocampális GABAerg neuronokban. Másrészt követjük az $ER\alpha$ és az acetilkolint szintetizáló kolinerg marker enzim (ChAT) kolokalizációjának mértékét az előagyi kolinerg neuronokban az öregedés során. Ezek a vizsgálatok közlésig további kísérleteket igényelnek.
3. A perinatális hormonális hatások is módosítják az agy öregedését. Kutatásainknak ez a másik tradicionális vonatkozása. Tovább vizsgáltuk az ACTH peptidek ilyen irányú hatását. Kimutattuk, hogy az ACTH4-9 analóggal fejlődésileg előkezelt öreg hím patkányokban a HPA napi ritmus nem sérül (szűkül be a hormonális ingadozás) olyan mértékben, mint a normális öregedés során (1. ábra). Ez tehát egy neuroendokrin eredetű protektív hatásnak fogható fel. Ugyanakkor egyelőre rejtélyes okból a mortalitás viszont nő a peptiddel előkezelt állatokban az öregedés során. Ez a jelenség felvetette a peptid immunaktív arculatát, amit tovább szeretnénk vizsgálni. Bizonyos mértékben tehát bekapcsolnánk az immun rendszer szerepét az agy öregedésének vizsgálata során.
4. A korai életkorban adott dexametazon (DEX) módosítja az immunrendszer működését, mérsékli a CXCR4 receptor sűrűséget a hipoxia/iszkémia által kiváltott agyi lézió területén újszülött patkányokban (10). A neuroimmun folyamatok vizsgálata a hipoxiás/iszkémiás agyszöveti károsodás során ígéretesnek bizonyult. Az újszülöttkorban adott DEX-nek

jelentős a neuroprotektív hatása, felmerült annak a lehetősége, hogy a DEX közvetlenül a hipoxiás sokknak kitett neuronokon kapcsolja ki az akut immunreaktivitás káros hatását.



1. ábra

Plazma kortikoszteron alap és csúcs értékek a napi ingadozás során 24 hónapos hím patkányokban különböző dózisú ACTH4-9 peptid analóg (ORG 2766) neonatális adása után (alsó ábra). A felső ábra a hormon koncentráció napi ingadozásának amplitúdóját mutatja. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ szemben a kontrollal (0 dózis)

B) A β -amyloid peptidek és a neurodegeneráció

A β -amyloid (Abéta) peptidek neurotoxicitásának vizsgálata mintegy 8 évre nyúlik vissza. E kutatási vonalat együttműködésben műveljük a Szegedi Orvosi Vegytani Intézettel (Prof. Penke Botond) és a Groningeni Egyetemmel (Prof. Paul GM Luiten).

1. Folytattuk az Abéta intracerebrális injekcióval végzett *in vivo* neurotoxicitás-patkánymodell továbbfejlesztését (6, 14). Az entorhinális kéregbe mindkét oldalra adott Abeta 1-42 többszörös injekciók deficitet okoznak a figyelmi reakciókban és a térbeli tanulásban. Ezen vizsgálatok során dolgoztuk ki a saját körülményeinkre adaptált „novel object recognition” tesztet, ami a figyelmi képességeket teszteli. Ismert, hogy az Alzheimer kórban legelőször a figyelem szűkül. Másrészt az is ismert, hogy az Alzheimer kór első fázisában nagyon gyakran az entorhinális kéreg károsodik. Az entorhinális kéreg léziójának pontos kiterjedését modern morfológiai megközelítéssel kvantifikáltuk. Mértük a neuron populációk kiesését NeuN immuncitokémiai analízissel és a mikroglia reaktivitás kiterjedését CD11b mikroglia markert felismerő immuncitokémiai módszerrel. Továbbá a gyrus dentatus molekuláris rétegének alrétegeit is analizáltuk, ahova az entorhinális kéregből eredő idegrostok projiciálnak. A kolenerg rostok láthatóvá tétele segítségével (ChAT immuncitokémia) mértük az alrétegek vastagságát. A gyrus dentatus molekuláris

rétégeinek külső és középső harmada zsugorodik az entorhinális kéregből jövő afferentáció sérülésének függvényében. A módszer közlése jelenleg van folyamatban (kézirat összeállítás alatt).

2. Jelenleg újabb Abéta indukált in vivo neurodegenerációs modellt dolgoztunk ki a peptid sokszoros és multilokális agyi injekciója révén. Ezt a modellt úgy tekintjük, mint amely közelebb áll az Alzheimer kór állatkísérletes modellezéséhez, mint a korábban alkalmazott modellek. Mind a kolinerg neocortikális beidegzés, mind a neocortex maga sérül. Jelentős deficit mutatkozik a figyelmi reakciókban. Pár tanulási tesztet is alkalmazunk: Morris térbeli útvesztő teszt, passzív elhárító tanulás. Az eredményekről a 2006-ban Madridban rendezendő ICAD kongresszuson számolunk be.

C) Foszfolipid-membrán patobiokémia és a neurodegeneráció

Az agy öregedésének neurokémiai vizsgálata egy további, az érdeklődés előterében lévő területtel bővült a támogatott periódus alatt. A többszörösen telítetlen zsírsavak (PUFA) szerepét vizsgáltuk együttműködésben az MTA Szegedi Biológiai Központ egyes kutatóival (2003-ig, Farkas Tibor akadémikus csoportja). Az n3-as típusú PUFA-kban gazdag és szegény tápok hatását vizsgáltuk mind a fejlődés mind az öregedés során az agy működésére: tanulás, viselkedés, agyi membrán zsírsav és foszfolipid összetétel, génreguláció.

1. Kimutattuk, hogy a dokozahexaénsavban (DHA) gazdag táp etetése a terhesség és a szoptatás alatt fokozza a kolinerg neuronok ellenállóképességét az excitotoxikus NMDA injekcióval szemben (1, 7).
2. Kimutattuk továbbá, hogy a tengeri halolajban (döntően DHA túlsúly) gazdag táp már 1 hónapos kezelés után is jelentősen fokozza a transztiretin genetikai expresszióját öreg patkányok hippocampusában (4, 12). A vizsgálatok során összehasonlítottuk a 1 hónapos és a 3 hónapos kezeléseket öregkorban szemben a fiatal állatokkal (12). Részletes magatartásélettani vizsgálatokat is végeztünk (12). Ezen vizsgálatok eredményei több közlemény számára jelentenek anyagot (közlemények összeállítás alatt).
3. A DHA-dús és a DHA-szegény táp etetése a patkány intrauterin fejlődése során meglepő és ígéretes új kutatási irányt indított el. Ezen irány, bár nem kapcsolódik szorosan a neurodegenerációhoz, és a jelen témához, a diabetes és a metabolikus szindróma kialakulásához ad fontos fejlődéstani szempontokat. Dr. G. van Dijk és munkacsoportjával az elhízás és a testsúly szabályozás neuroendokrin regulációját vizsgáljuk (18). Vizsgáljuk a fejlődés alatti kezeléseket az agy öregedésére is. Távlatilag érdekes lesz annak a vizsgálata, hogy a neurodegenerációt miképpen befolyásolja a kóros szénhidrát és zsírsanyagcsere. Ez a kérdés a vaszkuláris demencia egyik kulcskérdése. A vaszkuláris és az Alzheimer típusú demenciák kapcsolata igen szoros és meglehetősen jól ismert a klinikumban. Ezen kutatási területen (a zsírsavak által okozott magzati metabolikus bevésődés késői hatásai) néhány közlemény várható a 2006-os év során. Tekintettel arra, hogy a 2006-os évre, de elképzelhető, hogy a további évekre sem kapnak a fenti kutatások OTKA támogatást, logikusnak látszik az, hogy a 38388. sz. téma zárójelentésének értékelése terjedjen ki a 2006-os évben megjelenő olyan közleményekre is, melyek feltüntetik az OTKA támogatást. Ez a szempont különösen hangsúlyt kap akkor, ha az eddig megjelent közlemények OTKA hivatkozásai nem érik el a kívánt arányt az értékelés szerint.

D) Neuroprotektív kémiai transzmisszó a neuronok között

Az endogén neuroprotektív kémiai transzmisszióknak komoly jelentősége van a demencia farmakológiai kutatásaiban. Az 5-HT_{1A} és A₁ receptorok neuroprotektív hatásának vizsgálata több évre nyúlik vissza laboratóriumainkban. Korábban (1997) kimutattuk, hogy az 5-HT_{1A} posztszinaptikus szerotoninerg receptor mennyisége jelentősen csökken öregedés során patkányagyban, különös tekintettel az előagyi kolinerg neuronokra. A csökkenés függ az agyi régiótól is, azaz régió-szelektivitás mutatkozott.

1. Az elmúlt évben több, elsősorban farmakológiai kísérletek során mutattuk ki, hogy a krónikus 5-HT_{1A} agonista 8-OH-DPAT kezelés csökkenti az NMDA receptorok számát és egyben csökkenti az NMDA excitotoxicitás mértékét is a nucleus basalis magnocellularis kolinerg sejtjeinél (közlemény megjelenés alatt). Az acetil kolineszteráz gátló és nikotin receptor agonista galantaminnak is hasonló a hatása (16). Ebben az esetben, természetesen, nem beszélhetünk endogén neuroprotekciónról, de az eredmények ráirányítják a figyelmet a nikotin receptorokra is, mint az endogén neurotranszmisszió egyik mechanizmusára.
2. Vizsgáltuk az A₁ receptorok eloszlását az agy különböző régióiban az öregedés során és azt találtuk, autoradiográfias mérésekkel, hogy az A₁ denzitás jelentősen csökken számos agyterületben (11). E kutatások tehát a neurotranszmitter receptorok oldaláról közelítik meg az endogén neuroprotekciónak lehetőségeit.
3. Az elmúlt évben foglaltuk össze egy ugyancsak 5-HT_{1A} agonista vegyület a Repinotan (Bay x 3702) farmakológiai hatásait a CNS Drug Reviews folyóiratban (A.C.Berends, P.G.M.Luiten and C.Nyakas. A review of the neuroprotective properties of the 5-HT_{1A} receptor agonist repinotan HCl (BAY x 3702) in ischemic stroke. CNS Drug Reviews 11: 379-402, 2005). Ez a közlemény nem szerepel a Zárójelentés Közlemények rovatában. Ezt az összefoglalót az utóbbi évek jelentős állomásának tekintjük annak tárgyalásában, hogy az 5-HT_{1A} agonisták neuroprotektív hatása milyen lehetőséget ad a gyógyszerkutatásban. Azt is mutatja, hogy az általunk kifejlesztett in vivo demencia (neuroprotekción) modelleknek megvan a nemzetközi elismertsége.

E) Neuroprotekción és a preventív egészségügy

1. A rendszeres testmozgás és a megfelelő diéta neuroprotektív hatása joggal feltételezett, de még nem áll elegendő adat rendelkezésre ahhoz, hogy a preventív hatás mechanizmusát pontosan megértsük. Az utóbbi 2 évben végeztünk kísérleteket ebben a témakörben, melybe 2 PhD hallgató kapcsolódott be. Mivel az MTA-SE Agyélettani Kutatócsoport, mely a jelen OTKA témát kezeli, a SE TSK-n működik, kötelességének tekinti a mozgástudomány művelését. Ez a tudományág eddig nem nyert polgárjogot a magyar tudományos életben. Kimutattuk, hogy a rendszeres mozgás csökkenti az oxidatív stressz mértékét az agy néhány régiójában patkányokban (17). Vizsgáljuk azt is, hogy a rendszeres mozgás miképpen hat a excitotoxicitásra (NMDA által okozott agyszöveti károsodás) által létrehozott agyi lézió kiterjedésére. Ez utóbbi vizsgálatok még folynak, és várhatóan 2006-ban eredményeznek közölhető adatokat.

Összefoglalva,

- (1) az agy öregedése és a neurodegeneráción molekuláris biológiai alapjai állnak kutatásaink középpontjában. A neuroendokrin szabályozás (glukokortikoidok, ösztrogének, ACTH peptidek) mellett in vivo modelleken vizsgáljuk az Abeta peptidek neurotoxikus hatásmechanizmusát is. A neuroprotekción különböző lehetőségeit is analizáljuk: (a) többszörösen telítetlen zsírsavak adása a magzati korban és öregkorban: metabolikus

bevésés és neuroprotekción, (b) endogén neuroprotektív kémiai transzmisszió: szerotonin, 5-HT_{1A} agonisták, A₁ receptor funkció, (c) az egészséges életmód terápia alapjai: rendszeres testmozgás és speciális diéta, mely a mozgástudományba illetve a táplálkozástudományba is tartozik. 2007-ben nemzetközi „postcongress” szimpóziumot szervezünk Nutrition and the Brain címmel.

- (2) A T-38388 pályázat anyagi kerete a fenti kutatásokat csak részben tudta támogatni, de felbecsülhetetlen értékűnek bizonyult elsősorban erkölcsi szempontból. Jelentősen bővülnek a humán vizsgálataink is Alzheimer kórban elhunytak posztmortem agymintáinak vizsgálatával. Ez a kutatás is kapcsolódik a jelen témához (az agy öregedése és a neurodegeneráció) de még szélesebb nemzetközi összefogást igényelt, és ígéretesen terebélyesedik (magyar-holland-német kooperáció). Sajnálatosnak tartom azt, hogy az agy öregedésével és a neurodegeneráció mechanizmusának fent ismertetett törekvéseivel kialakított kutatási irányunk OTKA támogatása 7 év után megszakadt a folytatást kérő pályázatunk elutasításával (T-61852 pályázat). Ez a pályázat szintén az agy öregedésének és a neurodegenerációnak kutatását szolgálta volna még szélesebb hazai és nemzetközi kollaborációs alapon. Magától értődik, hogy az elutasított pályázatunk témájában 2006-tól megjelenő közlemények számát és összesített impakt faktorát össze fogjuk hasonlítani azon témákban született tudományos teljesítménnyel, amely témákat az Ember és Idegtudományi zsűri a 2006-os évtől elfogadott.
- (3) Fent említésre került az, hogy számos kísérleti eredmény nem került még közlésre és ezek közlése 2006 során várható. A pályázat témafelelőse kéri, hogy 2006 végéig hosszabbítsa meg az OTKA a zárójelentés végleges bírálatát és tegye lehetővé, hogy a megmaradt anyagi fedezetet 2006 év szeptemberéig használhassa a kutató együttes. Így az április 30-a helyett a végleges pénzügyi elszámolás kerüljön a 2006-os év szeptemberére.