

A SZATIETIN SZELEKTÍV ANOREXIÁS HATÁSA A SZATIETIN HATÁSTALANSÁGA ÉHEZŐ PATKÁNYOK VÍZFELVÉTELÉRE, VALAMINT A „KONDICIONÁLT AVERZIÓ” PARADIGMÁBAN*

SÁNDOR GÁBOR és KNOLL JÓZSEF, az MTA rendes tagja

Közlésre érkezett: 1982. II. 8.

A szatietin 1978-ban, az ember szérumában felfedezett anorexiás hatású glikopeptid (Knoll 1978, 1979), mely emlős állatok (ló, marha, kutya, macska, nyúl, tengerimalac, patkány) és szárnyas (liba) szérumában is jelen van (Knoll 1980, 1981). A szérumban talált nagy koncentrációja és hatásmódja alapján a táplálékfelvétel szabályozásában a negatív visszacsatolást elsődlegesen biztosító anyag szerepét játszhatja (Knoll 1980, 1981, 1982). Ezt a hipotézist támasztják alá azok a kísérleti eredmények, amelyek azt bizonyították, hogy a szatietin hatástalan volt mind egy-, mind kétirányú elhárító reflex vizsgálatára alkalmas viselkedési teszteken, nem befolyásolta hím patkányok kopulációs viselkedését, nem változtatta meg a testhőmérsékletet, az alapanyagcserét és a vérnyomást, semmilyen hatást nem mutatott a kolinerg és serotonerg neurotranszmuláris transzmisszióra (Knoll 1980, Knoll B. és mtsai 1980, Knoll B. és mtsai 1982, Yen és mtsai 1982).

Jelen cikkünkben a szatietin vízfelvétele kifejtett hatásának részletesebb elemzésével foglalkozunk. Analízis tárgyává tesszük továbbá azt a kérdést is, szerepel-e averzív reakció a szatietin anorexiás hatásában.

Módszerek

Kísérleteinkben mindkét nemű (200–250 g súlyú) CF-Y patkányokat használtunk (LATI). Az állatokat egyesével helyeztük el a ketrecekben és az éhezési periódusok kivételével standard laboratóriumi (LATI) táppal etettünk. A táplálékfelvételt Knoll (1979) által leírt módon mértük. Vízhöz üvegszopókás palackból szabadon jutottak az állatok, kivéve az első kísérletsorozat utolsó kísérletét, ahol 23 órás szomjazás után ihattak. A vízfogyasztást konstans mennyiségből mértük vissza $\pm 0,5$ ml-es pontossággal.

* A Magyar és Lengyel Farmakológiai Társaság 1981. október 3-i (Zakopane) „Peptides and their receptors in the central nervous system” című 5. együttes szimpóziumán elhangzott előadás nyomán.

A ketreceket olyan szobában helyeztük el, ahol 12 órás világos periódus váltakozott 12 órás sötéttséggel, és az átlagos hőmérséklet 22 ± 1 °C volt.

Mindig reggel kezeltünk. A szatietin mintákat csakúgy, mint más anyagokat, 0,9%-os NaCl-ban oldottuk. Intravénásan 0,5 ml/100 g, intraperitoneálisan 2 ml/100 g, intracerebroventrikulárisan 0,02 ml/állat volt az alkalmazott volumen.

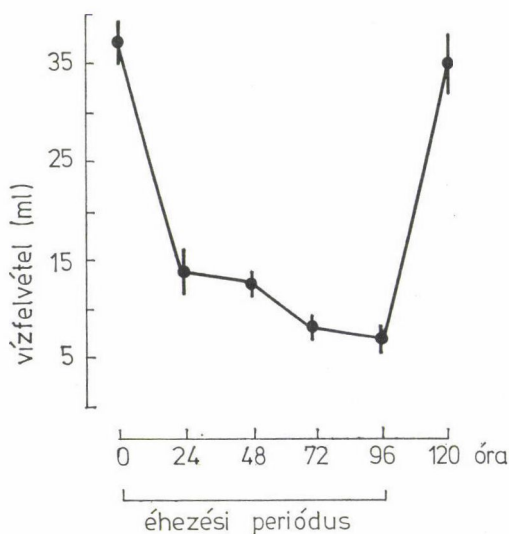
Egy egységnek tekintettük azt a szatietin mennyiséget, amely a 96 órát éhezett patkányok napi táplálékfelvételét 10 g-ra csökkentette. A preparátum biológiai étékelése Knoll (1982) módszerek szerint történt.

Anyagok: d,1-amphetamin (Chinoïn), calcitonin (Sandoz), lithium chlorid (Reanal), saccharin.

Eredmények

A szatietin hatása 96 órán át éhező patkányok vízfelvételére

Kezeletlen patkánycsoporton vizsgáltuk a vízfelvétel naponkénti változását 96 órás éhezés során. A vízfelvétel jelentős mértékű, fokozatos csökkenését tapasztaltuk. A csökkenés az éhezés első napján volt a legerőteljesebb. A tápdugóval ad libitum ellátott állatok napi 35 ml-nél is többet isznak. Az éhezés első napján ez a mennyiség 15 ml alá csökken. A csökkenés folytatódik, és az éhezés negyedik napján az állatok átlagos vízfogyasztása $6,45 \pm 0,83$ ml volt. A jóllakott, illetve 96 órát éhezett állatok napi vízfelvétele között statisztikusan



I. ábra. A vízfelvétel változása négy napos éhezési periódus alatt. N = 20. Kezelés nélkül

1. táblázat

Patkányok vízfogyasztásának változása éhezés során és a szatietin hatástalansága a vízfogyasztásra (Intracerebroventrikuláris adagolás)

Kezelés, dózis	Elfogyasztott víz mennyisége (ml) átlag \pm S.E.M.					
	Éhezés előtt (24 ^h alatt)	Éhezés után (nap)				Táplálék után 24 ^h alatt
		1.	2.	3.	4.	
Kontroll	37,4 $\pm 1,66$	13,75 $\pm 2,0$	12,95 $\pm 1,18$	8,35 $\pm 0,79$	6,45 $\pm 0,83$	35,9 $\pm 3,79$
Fiziológiás 20 ml/állat*	32,28 $\pm 1,08$	15,7 $\pm 2,12$	10,0 $\pm 0,89$	7,0 $\pm 0,63$	6,6 $\pm 0,94$	38,9 $\pm 1,15$
Szatietin 80 μ g/állat*	33,75 $\pm 1,48$	13,05 $\pm 1,31$	12,1 $\pm 1,18$	9,6 $\pm 0,89$	6,2 $\pm 0,88$	37,8 $\pm 1,29$

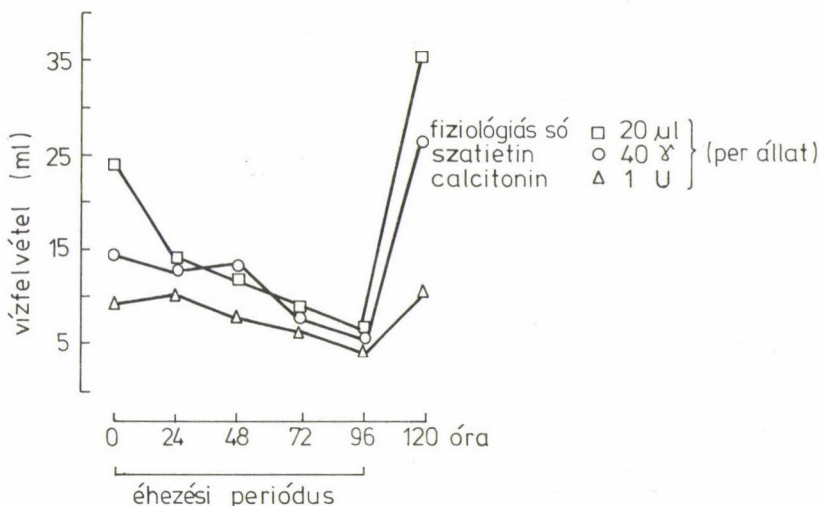
n = 20; Humán szatietin

* Fiziológiás só, ill. szatietin az éhezés 4. napjának reggelén adva.

szignifikáns különbség van ($p < 0,001$ Student t teszt), de szignifikáns a különbség az éhezés első és negyedik napján mért vízfelvétel között is.

Kísérletünkben 20 μ g/állat 0,9%-os NaCl oldattal, illetve ugyanekkora mennyiségben oldott 2E (80 μ g) szatietinnel kezeltük patkányok két csoportját az éhezés 72. órájában. Az éhezés utolsó napjának vízfelvételi értékeiben egyik csoportnál sem tapasztaltunk változást: a sóval kezelt állatok vízfogyasztása $6,6 \pm 0,94$ ml volt, míg a szatietinnel kezeltéké $6,2 \pm 0,88$ ml.

Ezzel szemben 5 mg/kg amfetamin se. ugyanilyen kísérleti körülmények között a patkányok vízfelvételét duplájára növelte ($12,83 \pm 1,92$ ml). Az amfetaminnal az éhezés utolsó napján 5 óránként kezeltünk.

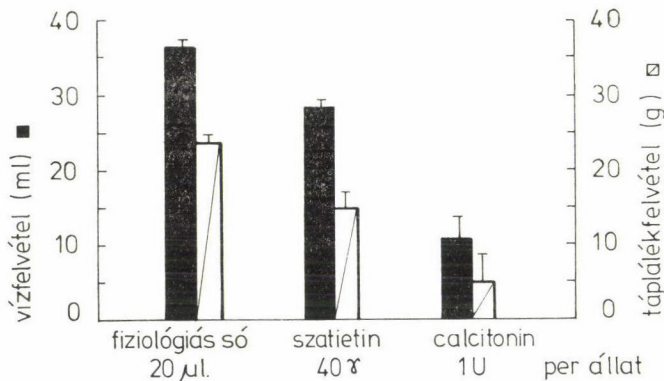


2. ábra. A szatietin és calcitonin hatása patkányok vízfelvétele négy napos éhezési periódus alatt. N = 7. Minden pont 7 tagú patkánycsoport átlaga. Icv. kezelés minden reggel

A következő kísérletsorozatban folyamatosan tanulmányoztuk a szatietin és a calcitonin hatását az éhezés alatti napok vízfelvételére. Különböző — 0-tól 96 óráig terjedő időtartamig — éhezettünk 7 tagú patkánycsoportokat, és mértük a kezelés utáni napi vízfelvételt. Így pl. a 72 órát éheztetett csoportokat a 48. órában kezeltük. Kezeltünk a 95. órában is, és a kezelés után egy órával kaptak az állatok táplálékot, ill. kezeltünk jóllakott állatcsoportokat is. A kezelés 1 U calcitoninnal, 0,75 E (40 μ g) szatietinnel, ill. 20 μ l fizsóval történt icv.

A második ábrából kiderül, hogy sem a szatietin, sem a calcitonin nem változtatja meg az éhezés alatti fokozatos és statisztikusan szignifikáns vízfelvétel-csökkenést, hatásuk az éhező állat vízfelvételére nincsen. A táplált állatok vízfelvételét, a kontrollesoporthoz képest, mindkét anyag szignifikánsan csökkentette ($p < 0,01$). A fiziológias sóval való kezelés a jóllakott állatok vízfelvételét a kezeletlenekéhez képest enyhén csökkentette.

A 95. órában kezelt állatcsoportok éhezés utáni vízfogyasztását párhuzamba állítottuk táplálékfelvételükkel.

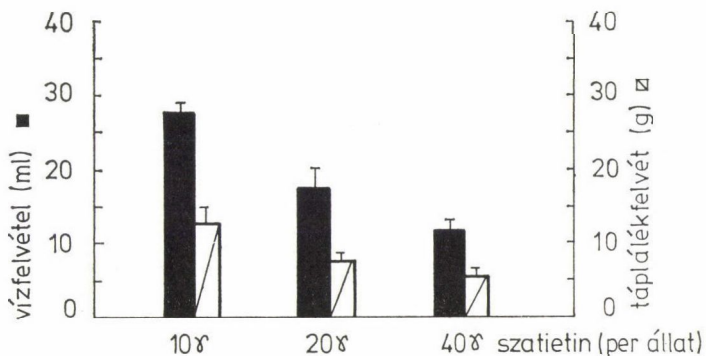


3. ábra. A szatietin és calcitonin hatása patkányok víz- és táplálékfelvételére 96 órás éhezést követő napon. N = 10. Icv. kezelés a 95. órában

Miután arányosság mutatkozott a táplálékfelvétel és a vízfelvétel csökkenése között, a kísérletet megismételtük 0,75, 1,5 és 3 E szatietinnel. A szatietin az éhezés után újratáplált állatok vízfelvételét anorexiás hatásának arányában csökkentette. (4. ábra)

A szatietin hatása 23 órát szomjazzatott patkányok vízfelvételére

23 órát szomjazzattunk 7 tagú patkánycsoportokat és icv. kezeltük őket szatietinnel a 22. órában (0,25, 0,5, 1 és 2 E). Összehasonlítottuk a szatietin hatását a calcitonin hatásával: 0,125, 0,25, 0,5 és 1 U calcitoninnal kezeltünk

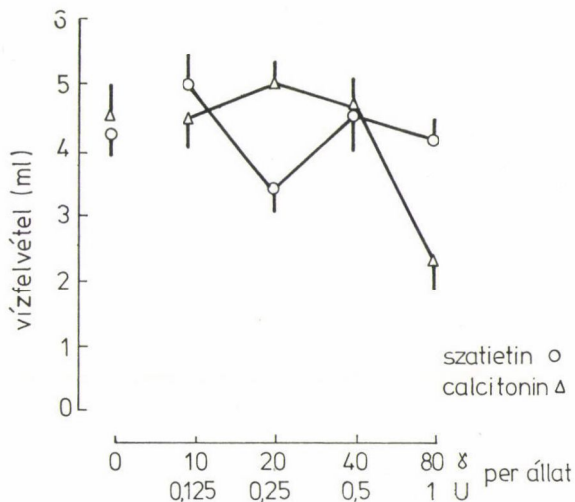


4. ábra. A szatietin hatása patkányok víz- és táplálékfelvételére 96 órás éhezést követő napon. N = 7. Icv. kezelés a 95. órában

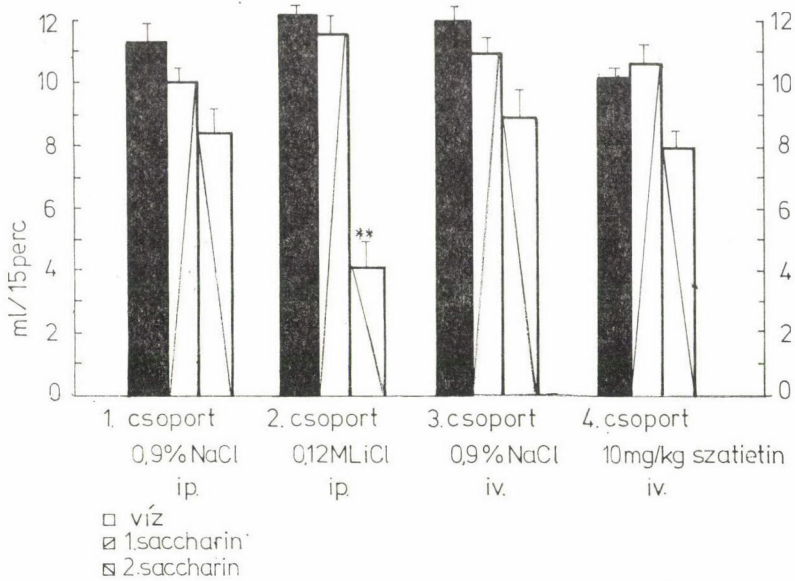
icv. Az állatok a kísérlet időtartama alatt éheztek. A 23 órás szomjazást követő 4 órás vízfelvételt mértük. Azért volt szükség négy órás mérésre, mert a rövidebb időtartamú méréseknél nagyon nagy szórásokat kaptunk. A szatietin egyik dózisa sem okozott szignifikáns változást a kontrollhoz képest, míg 1 U calcitonin szignifikánsan csökkentette a vízfelvételt ($p < 0,01$). (5. ábra)

Okoz-e averzív reakciót a szatietin?

Négy 6 tagú patkánycsoportnak 2 napon át naponta 15 percig adtunk ad. lib. vizet. A harmadik napon az állatok 0,5 g/l saccharin oldatból ihattak. Közvetlenül ezután az 1. csoport 0,12 M-os — a fiziológiás sónak megfelelő



5. ábra. A szatietin és calcitonin hatása patkányok vízfelvételére 23 órás szomjazást követő négy órában. N = 7. Icv. kezelés a 22. órában



6. ábra. A sziatietin hatása a „kondicionált averzió” paradigmában. $N = 6$ (** $p < 0,01$) Student t teszt 2 mintás

koncentrációjú — LiCl-oldatot kapott 20 ml/kg ip. A 2. csoport fiziológias söt, szintén 20 ml/kg-ot ip. A 3. csoport nagy adag sziatietint kapott 250 U/kg-ot iv., míg a 4. csoport, 5 ml/kg fiziológias söt iv. A negyedik napon mind a négy csoport ismét saccharin oldatot kapott inni, 15 percig. A kísérlet alatt az állatok szabadon táplálkozhattak. A négy csoport folyadékfogyasztását a 6. ábra szemlélteti. Míg a LiCl-dal kezelt állatok a Li kiváltotta rosszullét következtében a saccharinnal való második találkozáskor $4,17 \pm 0,91$ ml-t ittak, addig az ip. NaCl-dal kezelt csoport $8,33 \pm 0,76$ ml-t. A sziatietinnel kezelt csoport a második alkalommal $7,8 \pm 0,66$ ml-t ivott a saccharin oldatból, az iv. fizsóval kezelt állatok $8,5 \pm 0,82$ ml-t ittak. Nyilvánvaló, hogy a sziatietin nem fejt ki averzív reakciót.

Megbeszélés

Ismert tény, hogy a laboratóriumi patkányok táplálék- és vízfelvétele között összefüggés van. Többen leírták, hogy éhezés közben csökken az állatok vízfelvétele, másrészt a szomjazó állatok csökkentik táplálékfelvételüket (Bolles 1961).

Tápdugóval táplálkozó 200 g-os patkány napi 35 ml vizet iszik. Ez több, mint testsúlyának 15%-a. A jelenség legvalószínűbb magyarázata, hogy a száraztápdugó fogyasztásához sok vízre van szüksége.

Lepkovsky és *mtsai* (1957) kimutatták, hogy a gyomor víztartalma az állatok etetése után egyforma, függetlenül attól, hogy kaptak-e vizet, vagy sem. A táplálék emésztése vízigényes folyamat, és ha ehhez az állat saját szöveteiből vonná el a vizet, az általános dehidráltság állapotába kerülne. Azt mondhatjuk, hogy a laboratóriumi patkányok születésüktől kondicionálva vannak arra, hogy táplálékukkal együtt nagy mennyiségű vizet vegyenek fel. Úgy tűnt, hogy az éhezéssel ez a kondicionált vízfelvétel progresszív módon csökken, míg az éhezés negyedik napján el nem éri az alapszükségletnek tartható 6–8 ml körüli szintet.

Morrison (1968) megállapítása szerint a patkányok az éhezés első napjaiban ugyan jóval kevesebb vizet vesznek fel, mint az etetett állatok, de még így is többet isznak annál, mint amennyi víz az extracelluláris folyadék osmolaritásuk fenntartásához szükséges. Ez a plusz vízfelvétel egyrészt feltételes vízfelvételi reflexszel, másrészt az éhezés okozta generalizált neuronális izgalommal magyarázható, mely más motivált viselkedésekkel együtt a vízfelvételt is fokozza (*Valenstein* és *mtsai* 1969).

Eredményeink szerint a szatietin nem befolyásolta az alapfogyasztásnak tekinthető vízfelvételt (1. táblázat), másrészt — a calcitoninhoz hasonlóan — nem befolyásolta az éhező állatok napi vízfelvételét, nem változtatta meg a kondicionált vízfelvételi reflex kialakulásának ütemét (2. ábra). Mindkét anyag csökkentette a táplált, ill. újratáplált állatok felvett vízmennyiségét (2. ábra). Véleményünk szerint ez a szatietin anorexiás hatásának következménye, ugyanis a vízfelvétel csökkenése arányos az anorexiás hatás mértékével (4. ábra). Összehasonlítva a szatietin és a calcitonin vízfelvételekre gyakorolt hatását, megállapíthatjuk, hogy míg a szatietin nagy dózisa sem változtatták meg a szomjaztatott állatok vízfelvételét, addig a calcitonin I U/állat icv. dózisban szignifikáns csökkenést okozott. A calcitonin ekkora dózisának vízfelvételt csökkentő hatását icv. adagolás mellett *Freed* és *mtsai* (1979) is leírták (5. ábra). A mi kísérleti körülményeink között, az amfetamin, a 96 órás éhezés utolsó napján ismételt adagolva, nem csökkentette, hanem fokozta a vízfelvételt.

Arra a kérdésre, hogy a szatietin anorexiás hatásában játszik-e averzív reakció valamilyen szerepet, nemmel válaszolhatunk. A „kondicionált averzió” paradigmát alkalmaztuk (*Garcia* és *mtsai* 1974), egy új ízt — a saccharin oldat ízét — kombináltuk a LiCl okozta rosszulléttel az állatokban: miután a LiCl-dal kezelt állatok másodsor találkoznak a saccharin oldattal, kevesebbet isznak abból, mert a LiCl okozta rosszullet kapcsolódott bennük az új ízzel (6. ábra). Az igen nagy (250 E/kg) szatietin adaggal kezelt patkánycsoport a kontroll állatokhoz hasonlóan viselkedett. Ez a kísérletsorozat további bizonyítéka annak, hogy a szatietin szelektív anorexiás hatású glikopeptid, mely mentes egyéb központi idegrendszeri zavart okozó hatástól.

Összefoglalás

Szatietin hatását vizsgáltuk patkányok vízfelvétele. Eredményeink szerint a szatietin nem befolyásolta a patkányok éhezés alatti vízfelvételt, nem változtatott sem az éhezés alatti vízfelvétel csökkenés ütemén, sem az alapszükséglet szintjén. A táplálkozó állatok vízfelvételt a szatietin anorexiás hatásának arányában csökkentette. 23 órás szomjazás után a szatietin 2 E/állat dózisban sem befolyásolta a vízfelvételt, míg a calcitonin 1 U/állat dózisban szignifikáns csökkenést okozott.

A „kondicionált averzió” paradigmában bizonyítottuk, hogy a szatietin anorexiás hatása nem averzív reakcióként jön létre.

IRODALOM

- Bolles, R. C.*: J. comp. Physiol. Psychol., **54**, 580 (1961).
Freed, W. J., Perlow, M. J. és Wyatt, R. J.: Science **206**, 850 (1979).
Garcia, J., Hankins, W. G. és Kenneth, R. W.: Science **185**, 824 (1974).
Knoll, B., Kalász, H., Dalló, J., Sándor, G. és Knoll, J.: Neurosci. Lett. Suppl. 5, 319., (1980).
Knoll, B. és Knoll, J.: Polish. J. Pharmacol. Pharm., **34**, 17 (1982).
Knoll, J.: Neurosci. Lett. Suppl. 1, 55, (1978).
Knoll, J.: Physiol. Behave **23**, 497 (1979).
Knoll, J.: Az extrém tápláltsági állapotok gyógyszerterapeutikai vonatkozásai. In: A Korányi Társaság Tudományos Ülései. XVI. Az extrém tápláltsági állapotok. (Eds.: Eckhardt, S., Gyenes, G.). Akadémiai Kiadó, Budapest, pp. 29–44, (1979a).
Knoll, J.: Orvostudomány, **30–31**, 351, (1979–1980).
Knoll, J.: Highly selective peptide-chalones in human serum. In: Modulation of Neurochemical Transmission. (Ed: Vizi, E. S.) Akadémiai Kiadó-Pergamon Press, Budapest, pp. 97–125 (1980).
Knoll, J.: Anorectic agents and satietin, an endogenous inhibitor of food intake. In: CNS Pharmacology Neuropeptides. (Eds.: Yoshida, H., Hagihari, Y., Ebashi, S.) Pergamon Press, Oxford pp. 147–162 (1982).
Knoll, J.: Polish J. Pharmacol. Pharm., **34**, 3 (1982).
Knoll, J.: Satietin: endogenous regulation of food intake. In: Advances in Biochemical Psychopharmacology, (1982b) in press.
Lepkovsky, S., Lyman, R., Fleming, D., Nagumo, M. és Dimick, M. M.: Amer. J. Physiol., **188**, 327 (1957).
Morrison, S. D.: Physiol. Behave **3**, 75 (1968).
Tímár, J. és Knoll, J.: Polish. J. Pharmacol. Pharm., (1982) in press.
Valenstein, E. S., Cox, V. C. és Kakolewski, J. W.: The hypothalamus and motivated behavior. In: Motivation. (Ed: J. Tapp) Academic Press, New York (1969).
Yen, T. T., Dalló, J. és Knoll, J.: Polish, J. Pharmacol. Pharm., (1982) in press.