

SZATIETIN: A TÁPLÁLÉKFELVÉTELT SZELEKTÍVEN GÁTLÓ ANYAG AZ EMBERI VÉRBE*

KNOLL JÓZSEF, az MTA rendes tagja

Közlésre érkezett: 1980. VII. 20.

Évszázadok óta kutatások tárgyát képezik azok az élettani törvényszerűségek, melyek az „éhség” szubjektív élményének kielégítő természettudományos értelmezését, a magasabbrendű állatok és az ember számára a táplálék megszerzését biztosító pszichés hajtóerő objektív magyarázatát adhatják.

A kutatások alapja mindig az a feltételezés volt, hogy a táplálék megszerzésére mobilizáló, a táplálékszerző aktivitást a sikerig biztosító központi idegrendszeri izgalmat, a „táplálkozási aktív góc”-ot (Knoll, 1969), hiányt jelző perifériás szignálok teremtik meg és tartják fenn.

A feltételezett élettani szignalizáció objektívnek tekinthető kutatása legalább Hallerig (1776) vezethető vissza, aki úgy tűnik, elsőként dolgozott ki a gyomor jelző funkciójára vonatkozó koncepciót. Századunk elején az ezirányú kutatások, Cannonnak (1912) a gyomor éhségkontrakcióival foglalkozó tanulmánya, majd Bulatao és Carlsson (1924), a vércukorszint és a gyomor éhségkontrakciói közti összefüggést taglaló cikke alapján, fellendültek.

Mindazonáltal e mechanizmusok és később felvetett szignalizációs lehetőségek, mint a tápanyagok specifikus dinámiás hatása (Brobeck, 1948), vagy a zsírraktárok teltségi állapota (Kennedy, 1953) nem vezettek kielégítő magyarázathoz.

Az 50-es évek elején patkányok magasabbrendű idegműködésének analízise kapcsán kezdtem foglalkozni a táplálkozási magatartás alapját képező központi idegrendszeri izgalmi állapot, a táplálkozási aktív góc, élettani tulajdonságaival, melyet azután munkatársaimmal, Kelemen Károllyal és Knoll Bertával részletesen elemeztünk (Knoll és mt., 1956).

Az aktív reflexekről szóló elméletemet összefoglaló monográfia (Knoll, 1969) 2. fejezetének 1., ill. 2. szekciójában (id. mű 18—38. old.) olyan adatokat írtam le, melyek az utóbbi évtizedben kidolgozott elválasztástechnikai módszerek birtokában a táplálékfelvétel szabályozásában alapvető szerepet játszó perifériás szignalizációs lehetőség kutatásának új és konkrét megközelítését engedték meg.

* Akadémiai székfoglaló. Elhangzott a Magyar Tudományos Akadémián 1980. január 17-én.

A probléma lényegét a következő kísérletek szemléltetik. Éhező patkányon a táplálkozási izgalom — melyet az állat számára ismeretlen környezetben tanúsított kereső-kutató aktivitás intenzitásának kvantitatív mérése alapján egységekben fejezünk ki — az idő függvényében növekszik.

1. táblázat

A táplálkozási izgalom („aktív góc”) intenzitásának változása 96 órán át éhező patkányokon

	A táplálkozási izgalom egységeiben*					
	1.	2.	3.	4. napon		
Kontroll állatok	0,25	0,25	0,25	0,25		
	Éhezés időtartama (órák)					
	12	36	60	84	108	132
Éhező állatok átlag súlya:						
70—120 g	1,05	1,55	3,45	6,5	7,25	7,3
121—150 g	0,3	0,65	1,3	2,15	3,9	4,65
151—220 g	0,25	0,6	1,15	1,95	3,9	4,95
feltételes csengőjelzéssel						
151—220 g	1,5	3,4	4,48	5,45	6,25	6,85

n = 20

* A kísérleti periódus során elért maximális izgalmi állapotot értékeltük. Az aktív góc izgalmanak intenzitását a tájékozódó-kutató reflex aktivitása alapján mértük és egységekben (maximum 10) fejeztük ki.

Az 1. táblázat különböző átlagsúlyú patkánycsoportokon mutatja a táplálkozási izgalomnak az éhezés idejétől való függését egységekben kifejezve. A táblázatból az is kitűnik, hogy ha előzetesen a csengő hangját a táplálkozás feltételes ingerévé alakítottuk, az ilyen feltételes inger nagyon erősen fokozza a táplálkozási izgalmat.

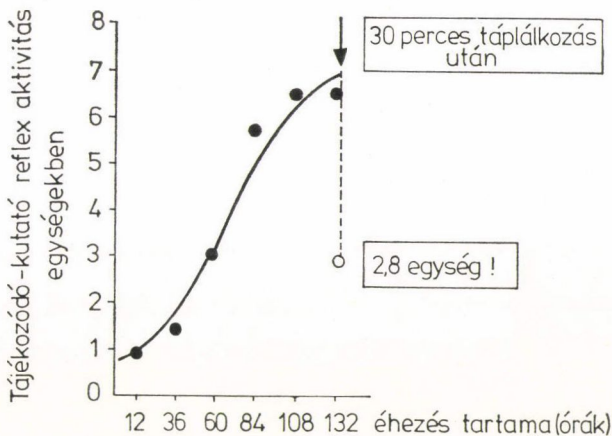
2. táblázat

A táplálkozási izgalom („aktív góc”) kialakulásának és megszűnésének sebessége az éhezés, ill. táplálkozás időtartamától függően

50 patkány átlaga (150—200 g súlyúak)	A táplálkozási izgalom egységeiben
Éhezés előtt mérve	0,15
24 óra éhezés után	2,1
48 óra éhezés után	4,0
72 óra éhezés után	4,8
96 óra éhezés után	5,9
96 óra éhezés után 30 percig etetve	2,8
96 óra éhezés után 90 percig etetve	0,8

A 2. táblázat egy 150–200 gr súlyú, 96 órán át éhezett patkánycsoporton mutatja be azt a jelenséget, hogy az állatokon 30 perces etetés már igen erősen lecsökkenti a táplálkozási izgalmat és 90 perces etetés a táplálkozási aktív góc teljes gátlását okozza.

Az 1. ábra 132 órán át éhező, vízzel ad libitum ellátott patkányokon mutatja be egységekben kifejezve a táplálkozási izgalmat, előzetesen beépített feltételes ingerekkel is felerősített, fokozódását. Látjuk, miként növekszik a 132 órás éhezés során (egy maximumig) a táplálkozási izgalom. Az éhezés után a



1. ábra Patkányok tájékozódó-kutató reflex aktivitásának lassú növekedése 132 órán át tartó éhezés során és a „táplálkozási izgalom” azonnali csökkenése 30 perces etetés után

standard táplálékkal (tápdugó) történő 30 perces etetés az 5,5 nap alatt fokozatosan felépülő izgalmi állapotot rendkívül erősen gátolja.

Hasonló jelenséget észlelünk egereken is. A 3. táblázat a táplálkozási izgalom 48 órás éhezés során kialakuló jelentős növekedését mutatja. Az egerek etetése 30 percig zabbal és tejeskenyérrel, az ingerületi állapotot teljesen megszünteti, míg egyéb behatások (pl. a gyomor megtöltése bárium-szulfáttal, különböző módon beadott glukóz oldat) sokkal kevésbé hatékonyak.

Amint látjuk tehát mind patkányon, mind egéren hosszú ideig tartó éhezés során lassan, fokozatosan alakul ki az intenzív izgalom állapotában levő táplálkozási aktív góc, és ezt az izgalmat kellő mennyiségű és minőségű táplálék felvételével nagyon gyorsan gátolni lehet (részleteket illetően lásd Knoll, 1969).

A központi idegrendszer izgalmi állapotának a táplálékfelvétellel történő hirtelen bekövetkező letörése, azt a hipotézist engedi meg, hogy a gyomorbel-traktusba jutott, kellő mennyiségű és összetételű táplálék olyan jelző anyag felhalmozódását idézi elő a véráramban, mely specifikusan képes a táplálkozási aktív góc izgalmi állapotának megszüntetésére.

3. táblázat

A táplálkozási izgalom különböző behatásokra bekövetkező csökkenésének mértéke egéren

Kísérl. száma	Kezelés	Állatok száma	A táplálkozási izgalom egységeiben*	
			Éhezés előtt	48 óra éhezés után
1.	Kontroll	200	0,01	1,56
2.	0,5 ml BaSO ₄ p. o.	100	0,00	1,02
3.	1 ml víz p. o.	100	0,00	0,86
4.	1 ml tej p. o.	150	0,01	0,73
5.	1 ml 40%-os glukóz p. o.	100	0,01	0,59
6.	1 ml 40%-os glukóz s. c.	100	0,01	0,71
7.	1 ml 40%-os glukóz s. c. + 0,5 ml BaSO ₄ p. o.	100	0,00	0,63
8.	1–1 ml 40%-os glukóz p. o. és s. c.	150	0,02	0,36
9.	Táplálás: zab és tejes kenyér 30 percig	100	0,00	0,03

* Knoll (Theory of active reflexes. Akadémiai Kiadó, 1969) módszere szerint mérve. Maximális izgalom: 6 egység. 15 perccel mérés előtt adtuk be az anyagokat.

A táplálkozási aktivitás szabályozásának középpontjában álló endogén anorexiás anyaggal „éhség” és „jóllakottság” váltakozása egyszerűen magyarázható. Tételezzük fel, hogy a véráramban mindig jelen van a táplálkozási aktív góc izgalmi állapotát szelektív módon gátolni képes szabályozó anyag prekursora. Ebből a prekursorból a kellő minőségű táplálék elfogyasztott mennyiségétől függően mind több anorexiás anyag szabadul fel, míg a táplálkozási izgalom teljesen gátlódik, tehát megszűnik a további táplálékfelvétel („jóllakottság”). Táplálékfelvétel hiányában a felhalmozódott anorexiás anyag mennyisége az idő függvényében csökkenni kezd. Így mindinkább felszabadulnak az endogén anorexiás anyag iránt szelektív érzékenységet mutató agyi (nyilván főleg hipotalamikus) átkapcsolóhelyek a gátlás alól, mindinkább fokozódik a „táplálkozási aktív góc” ingerületi állapota („éhség”). Újra létrejön tehát az a pszichés hajtóerő, mely addig űzi az állatot, míg táplálékot szerez, melynek elfogyasztása ismét az endogén anorexiás anyag gátló hatása alá helyezi a „táplálkozási központ”-ot, és így tovább.

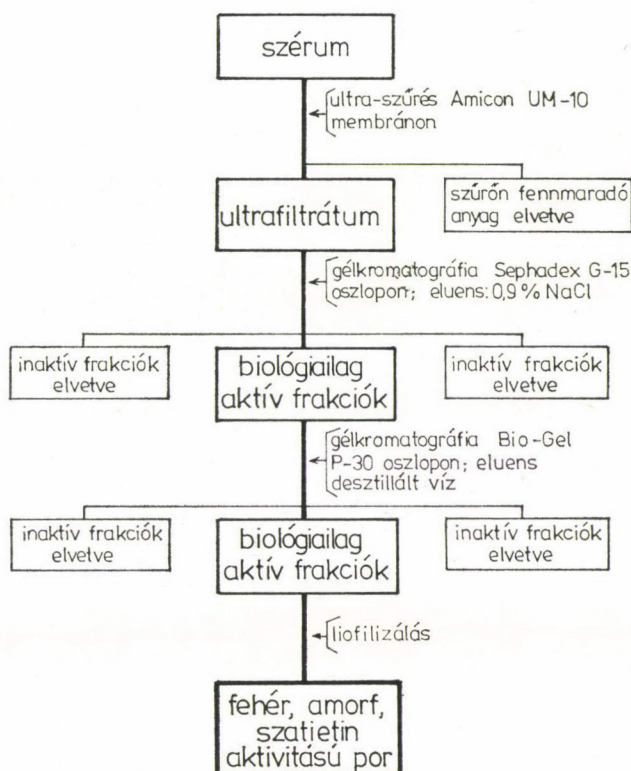
Ha az éhezés során lassan kialakuló izgalmi állapotnak a táplálkozás során történő gyors megszűnését, egy a véráramban mindig keringő szelektív gátló anyag prekursorának állandó jelenlétével és az abból képződő aktív szabályozó anyag táplálkozástól függő mennyiségi változásaival magyarázzuk, akkor ilyen endogén anorexiás anyag (ill. annak prekursora) kivonható kell, hogy legyen a vérből, és éhes állat likvorába fecskendezve ilyen anyagnak a táplálkozáshoz hasonlóan kell gátolnia a táplálkozási izgalmat.

E koncepció alapján 1976-ben kezdtem el — a hatékony preparátumok előállításának munkájába Nagy Jánost, majd Kalász Hubát; a biológiai haté-

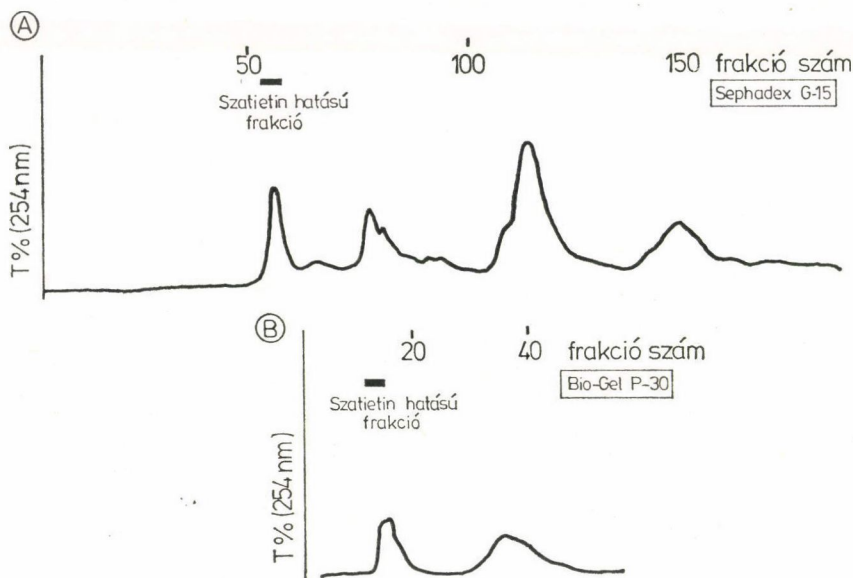
konyság analizésébe Knoll Bertát bevonva — a hipotetikus anyag kutatását. Gélkromatográfiai módszerek alkalmazásával sikerült emberi szérumban olyan, eddig ismeretlen anorexiás hatású anyagot találni, mely a táplálékfelvételt priméren szabályozó endogén anyag számára megfogalmazható kritériumoknak megfelelni látszik. Ezt az anyagot szatietinnek neveztem el (Knoll, 1978, 1979 a, b, 1980). Székfoglaló előadásomban a szatietin létezésének bizonyításával, valamint hatásának azon legfontosabb sajátosságaival foglalkozom, melyek alátámasztják azt a munkahipotézisemet, hogy ez az anyag alapvető szignalizációs szerepet játszhat a táplálkozási aktivitás szabályozásában.

Szatietint tartalmazó tisztított preparátumok előállítása

A 2. ábra szatietint tartalmazó tisztított preparátumok előállításának Kalász Hubával és Nagy Jánossal kidolgozott, ezidőszereint alkalmazott menetét mutatja be. A 3. ábra a két lépcsős tisztítás során a gélkromatogramon mutatja a szatietin hatású frakció helyét.



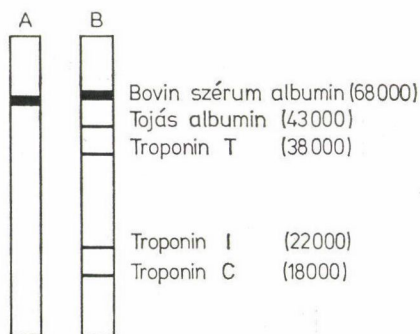
2. ábra Szatietint tartalmazó preparátumok előállításának menete



3. ábra A szatietin hatású frakciók helye a két lépésös tisztítást bemutató tipikus gélkromatogramokon

Az emberi vérszérumból előállított tisztított standard preparátumok átlagos aminosav tartalmát 60,6%-nak, és szénhidrát tartalmát 13,5%-nak találtuk. Preparátumaink fehérje komponenseinek analíziséért Sajgó Mihály-nak (MTA Biokémiai Intézet), a cukor komponensek elemzéséért Mészáros Miomir-nak (ELTE Szerves Vegytani Intézet) tartozom köszönettel.

Preparátumaink egy része (ezeket tekintjük sikeresebben tisztítottnak) poliakrilamid gélelektroforézisben egyetlen sávot adott. A 4. ábra mutatja, hogy ez a sáv a bovin albuminnal azonos tartományban helyezkedik el. De még



4. ábra Poliakrilamid gélelektroforézis 0,1% nátrium dodecilszulfát jelenlétében
A) Humán szérumból előállított szatietin-kivonat
B) Kalibrációs keverék

az egy sávot mutató tisztított anyag sem homogén, különböző eljárásokkal több komponensre bontható. A tisztított anyag összetétele egyelőre azt a munkahipotézist sugallja, hogy a szatietin glikopeptid, de végleges választ természetesen csak anorexiás hatású homogén termék előállítására és szerkezetének felderítése adhat.

A szatietin anorexiás hatásának kimutatása 96 órán át éhezõ patkányokon és a preparátumok hatóanyag tartalmának biológiai értékmérése

A 4. táblázat emberi szérumból tisztított, poliakrilamid gélelektroforézisben több sávot mutató preparátum intravénás adagolás során kifejtett anorexiás hatását mutatja be. A bemutatott kísérletsorozatban egy órával az anyag beadása után adtuk az éhezõ állatoknak a táplálékot és a szatietin, mint látjuk, dózis-függõen gátolta 96 órán át éhezõ patkányok táplálékfelvételét.

Az 5. táblázat ugyanezen a preparátumnak intracerebroventrikuláris hatékonyságát bizonyítja. Az a tény, hogy a szatietin a likvorba fecskendezve dózis-függõen gátolja a táplálékfelvételt, bizonyítja, hogy hatását a központi idegrendszerben fejti ki. Intracerebroventrikuláris adagolás mellett a hatás maximumát akkor kaptuk, ha 5 órával a szatietin befecskendezése után adtuk a táplálékot. Az 5. táblázatban bemutatott kísérletsorozat 7. és 8. kísérletének összehasonlítása mutatja, hogy a vizsgált szatietin preparátumból 300 µg 0,71 g-ra csökkentette az elsõ órában felvett táplálékmennyiséget, ha a kezelés után 5 órával adtuk a táplálékot. Viszont ugyanez az adag még nem okozott szignifikáns anorexiás hatást, ha az anyag intracerebroventrikuláris beadása

4. táblázat

Poliakrilamid gélelektroforézisben több sávot mutató preparátum anorexiás hatása 96 órán át éhezõ patkányokon

Intravénás adagolás

Kísérlet sorozat		Dózis mg/kg	Állatok száma	Testsúly (g) ± S.E.M. éhezés		Felvett táplálék (g) ± S.E.M.	
száma,	kezelés			előtt	után	1 óra alatt	24 óra alatt
1.	Fiziológiás só	—	250	202,86 ± 9,54	160,25 ± 7,24	7,15 ± 0,36	24,92 ± 0,65
2.	Szatietin	1	25	208,11 ± 5,81	165,23 ± 3,41	6,33 ± 1,19	18,35 ± 2,77
3.	Szatietin	2,5	25	216,45 ± 4,41	169,65 ± 5,18	3,43 ± 0,72***	14,14 ± 2,16**
4.	Szatietin	5	25	201,18 ± 7,02	157,68 ± 6,68	2,50 ± 0,67***	11,33 ± 1,09**
5.	Szatietin	10	25	198,60 ± 3,80	159,12 ± 4,41	1,60 ± 0,24***	11,50 ± 3,33**
6.	Szatietin	15	25	199,15 ± 5,12	152,00 ± 7,08	0,88 ± 0,40***	9,80 ± 2,86***

Szatietin 0,9 % NaCl-ban oldva, 0,5 ml/100 g testsúly, 1 órával a táplálék előtt beadva.

** p < 0,01

*** p < 0,001. Student t teszt 2 mintás.

5. táblázat

Poliakrilamid gélelektroforézisben több sávot mutató preparátum anorexiás hatása 96 órán át éhező patkányokon
Intracerebroventrikuláris adagolás

Kísérlet sorozat		Dózis Mg/állat	Állatok száma	Testsúly (g) \pm S.E.M. éhezés		Felvett táplálék (g) \pm S.E.M.	
száma,	kezelés			előtt	után	1 óra alatt	24 óra alatt
1.	Fiziológiás só	—	50	220,92 \pm 2,26	177,33 \pm 2,33	8,06 \pm 0,92	22,16 \pm 0,88
2.	Szatietin	25	15	198,53 \pm 3,83	151,13 \pm 4,58	5,00 \pm 1,09	20,00 \pm 2,35
3.	Szatietin	50	15	210,35 \pm 6,08	160,00 \pm 7,33	4,43 \pm 1,40**	16,29 \pm 1,41**
4.	Szatietin	75	15	220,22 \pm 4,15	169,33 \pm 4,15	3,89 \pm 0,47**	17,25 \pm 2,01**
5.	Szatietin	100	15	201,57 \pm 2,64	151,15 \pm 1,65	2,86 \pm 0,51***	14,43 \pm 1,17**
6.	Szatietin	200	15	193,17 \pm 3,81	144,71 \pm 3,32	1,57 \pm 0,65***	8,86 \pm 1,01***
7.	Szatietin	300	15	195,25 \pm 1,53	148,63 \pm 1,60	0,71 \pm 0,36***	8,43 \pm 1,38***
8.	Szatietin	300	15	211,75 \pm 7,00	169,38 \pm 6,89	5,25 \pm 0,84	12,25 \pm 2,49**

Szatietin 0,9% NaCl-ben oldva 20 μ l-ben i. c. v. beadva; 2–7. kísérletben 5 órával, a 8. kísérletben 1 órával a táplálék előtt.

** $p < 0,01$

*** $p < 0,001$. Student t teszt 2 mintás.

után 1 órával adtuk enni az állatoknak (lásd 8. kísérlet). Ez a jelenség amellel szól, hogy a preparátumunkban a hatékony anyag előfutára van jelen, melyből az anorexiás hatású termék felszabadul és e folyamat számára kedvezőbbek a feltételek, ha az anyagot a véráramba fecskendezzük.

A szatietin hőálló anyagnak bizonyult, 10 perces 100 C°-on történt forralás a preparátumok hatékonyságát nem teszi tönkre. Triklórecetsav (10%) kezelés után a hatékony anyag a felülúszóban marad. Az ily módon tisztított anyag intracerebroventrikulárisan adva már egy órán belül maximális hatást fejt ki. Ez a jelenség támogatja azt a munkahipotézist, hogy az anorexiás hatású anyag prekursorának tekinthető állapotformájával van dolgunk a standard preparátumainkban.

A preparátumok hatékonyságának összehasonlítása érdekében a hatóanyag tartalmat egységekben mérjük.

Egy egységnyi szatietint tartalmazónak tekintjük egy kivonat azon legkisebb mennyiségét, mely intracerebroventrikuláris adagolás mellett a 96 órán át éhező patkányok 24 órás táplálékfogyasztását 10 g alá csökkenti. A 2. táblázatban bemutatott preparátum esetében például 200 μ g az a mennyiség, mely 1 egység szatietint tartalmazónak tekinthető, ez esetben tehát egy 5 egység/mg hatóanyagtartalmú preparátummal dolgoztunk. Az anyaggal történő, ezidőszent még kényeszerű, takarékoság miatt csak közelítő pontossággal, általában 3 dózist használva, és minden adagot 8 állatnak beadva, végezzük a biológiai értékmérést.

Az emberi szérumból jelenleg már az 5. táblázatban bemutatott anyagnál hatékonyabb, tehát sikerebben tisztított preparátumokat sikerül előállítani a standard eljárással. Az utolsó 10 kísérletünkben emberi szérumból 10—25 egység (E)/mg hatékonyságú kivonatokat nyertünk (6. táblázat).

E 10 kísérlet átlagát véve kb. 3,3 ml szérumból sikerült 1 E szatietint kivonni (7. táblázat). Eszerint az ember szérumának anorexiás hatású terméké konvertálható anyagtartalma igen jelentős.

6. táblázat

Humán szérumból előállított szatietin preparátumok anorexiás hatékonysága

Kísérletek száma	Anorexiás hatékonyság egység/mg
1.	10
2.	25
3.	25
4.	10
5.	10
6.	12,5
7.	12,5
8.	10
9.	12,5
10.	10

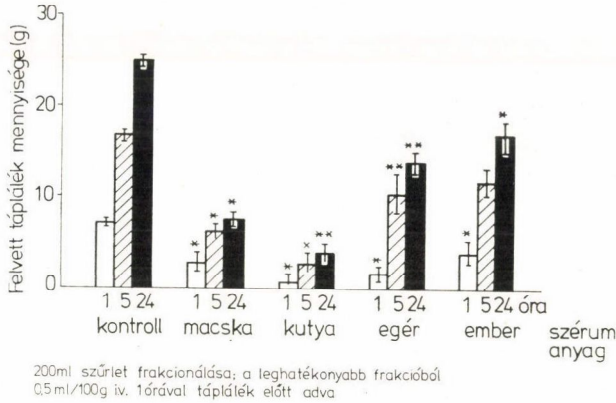
Egy egység szatietint tartalmaz a kivonat azon mennyisége, mely intracerebroventrikulárisan adva a 24 óra alatt fogyasztott tápdugó mennyiségét 10 g alá csökkenti.

Az állatok a táplálékot a szatietin beadása után 5 órával kapják.

7. táblázat

Humán szérum szatietin tartalma egység/ml-ben

Kísérletek száma	Szatietin tartalom egység/ml
1.	0,32
2.	0,40
3.	0,20
4.	0,32
5.	0,30
6.	0,36
7.	0,22
8.	0,32
Átlag:	0,30 egység/ml

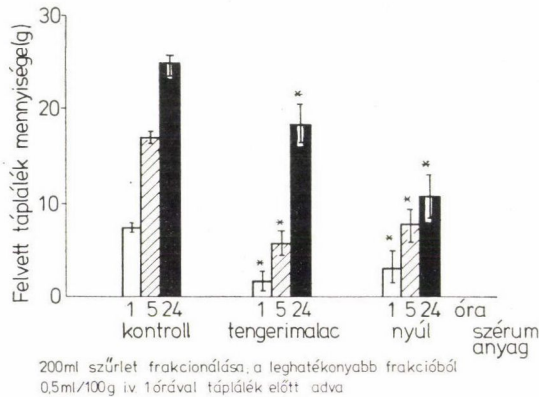


5. ábra Macska, kutya, egér és ember szérumból előállított szatietin-kivonat anorexiás hatása 96 órán át éheztetett patkányokon.

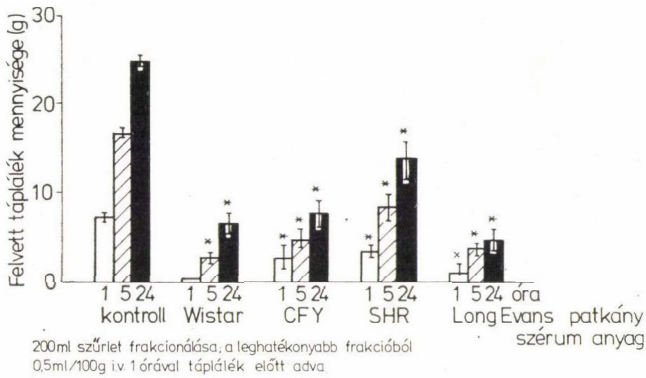
* $p < 0,05$

** $p < 0,001$ Student t teszt 2 mintás

Az emberi szérumban felfedezett, a gélkromatogramon pontosan lokalizálható szatietin-aktivitás alapján megvizsgáltuk, hogy emlős állatok, valamint példaképpen egy nem emlős állat (liba), szérumával dolgozva megjelenik-e azonos frakciókban anorexiás hatású anyag. A kísérletek egybevágóaknak bizonyultak. Minden eddig vizsgált emlős állat (marha, ló, kutya, macska, nyúl, tengerimalac, patkány), valamint a liba szérumában gélkromatográfiásan az emberi szérumban detektált anyaggal azonosan viselkedő anorexiás szubsztanciát találtunk. Az 5., 6. és 7. ábra szatietin-hatású anyag jelenlétét bizonyítja néhány emlős species vérszérumában.



6. ábra Tengerimalac és nyúl szérumból előállított szatietin-kivonat anorexiás hatása 96 órán át éhezett patkányokon. * $p < 0,05$ Student t teszt 2 mintás



7. ábra Patkány törzsek szérumból előállított szatietin-kivonat anorexiás hatása 96 órán át éhezett patkányokon. * $p < 0,05$ Student t teszt 2 mintás

Miután marha és ló széruma korlátlan mennyiségben állt rendelkezésre, e két species szérumból tisztított preparátumokat állítottunk elő. A 8. táblázat mutatja, hogy bovin szérumból 12,5–50 E/mg és lószérumból 10–25 E/mg hatékonyságú preparátumokat nyertünk.

Figyelemreméltó, hogy egy szárnyas állat, a liba vérében is találtunk szatietin-aktivitást. A 9. táblázat tipikus kísérlet eredményét mutatja be.

Egy gélkromatográfiásan azonosan viselkedő anorexiás anyag ilyen széleskörű elterjedtsége az állatvilágban támogatja azt a hipotézist, hogy a szatietin élettani szerepet játszik a táplálékfelvétel szabályozásában.

8. táblázat

Marha, ill. ló szérumból, standard eljárással kivont szatietin minták anorexiás hatékonysága

Species	Kísérlet száma	Anorexiás hatékonyság (egység/mg száraz anyag)
Marha	1	50
	2	50
	3	50
	4	12,5
	5	40
	6	33
	7	33
	8	25
Ló	1	25
	2	10
	3	25
	4	10
	5	25
	6	25

9. táblázat

Liba véreből előállított szatietin preparátum hatása 96 órán át éhezett patkányokon. I. c. v. adagolás

Dózis µg	Állatok száma	Testsúly (g) ± S.E.M.		Felvett táplálék (g) ± S.E.M.	
		éhezés előtt	éhezés után	1 óra alatt	24 óra alatt
80	9	260,56 ±9,06	204,56 ±9,12	1,00 ±0,67***	17,44 ±1,79***
40	9	240,22 ±11,65	194,25 ±11,61	1,67 ±0,67***	13,33 ±1,57***
20	8	249,75 ±5,82	197,38 ±6,23	1,88 ±0,77***	15,88 ±1,53***

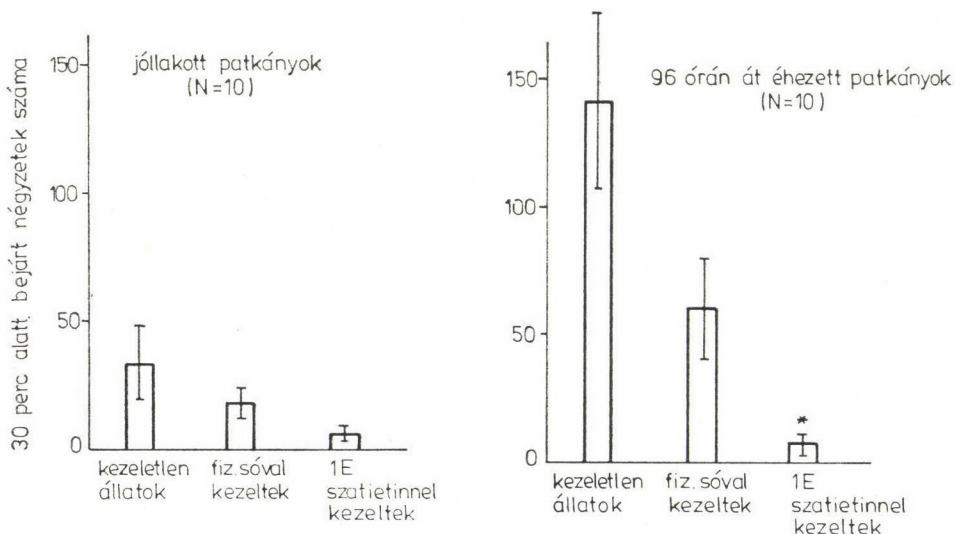
Táplálékot a kezelés után 5 órával kapnak.

*** $p < 0,001$ Student t teszt 2 mintás.Kontroll állatok táplálék felvétele 1 óra alatt $8,06 \pm 0,92$ g; 24 óra alatt $22,16 \pm 0,88$ g

A szatietin anorexiás hatékonyságának szelektivitása

Megvizsgáltuk Knoll Bertával egy sor viselkedési tesztben 1–2 E/állat szatietin hatását, annak eldöntésére, hogy az anorexiás hatás mennyire szelektív. Ezekhez a kísérletekhez ember szérumból a leírt standard eljárással kivont, legalább 10 E/mg szatietint tartalmazó preparátumokat használtunk fel.

A szatietin anorexiás hatású dózisaival kezelt állatok, — hosszú éhezés után — jóllakott patkányokra is jellemző nyugalmi állapotban vannak, de a külvilági ingerekre adott viselkedési reakcióikban anomália nem észlelhető.



8. ábra Humán szérumból kivont szatietin-preparátum patkányok spontán motilitására kifejtett hatása (CFY, vegyes nemű, 200–250 g súlyú állatok) i. c. v. adott szatietin és fiziológiás só után 5 órával. * $p < 0,05$ éhezett fiz. sóhoz viszonyítva; Student t teszt 2 mintás

A szatietint tartalmazó preparátumok patkányok motilitására kifejtett hatása, melyet Knoll Bertával vizsgáltunk, összhangban áll a készítmények anorexiás hatásával. A 8. ábra 10 tagból álló patkánycsoportokon mutatja be a szatietin hatását az állatok spontán motilitására. A patkányok egy 90×300 cm-es szabad területen mozoghattak, melyet 30×30 cm-es négyzetekre osztottunk és számoltuk a 30 perc alatt bejárt négyzetek számát. Miután a szatietint mindig 20 μ l fiziológias sóoldatban oldva intracerebroventrikulárisan adjuk be, a kontrol csoportot ugyanígy kezeltük, csak szatietint nem kaptak. Az ábrából kitűnik, hogy az intracerebroventrikuláris injekció önmagában is csökkenti a spontán motilitást. Jólakott állatokon nem jelentős a szatietin motilitást csökkentő hatása. Bár a fiziológias sóval kezelt kontrollhoz képest a motilitás jólakott patkányokon is csökkenő tendenciát mutat, a különbség statisztikailag nem szignifikáns. Éhezett állatokon, melyeken a spontán motilitás erősen fokozott, a szatietin anorexiás hatású adagban teljesen meggátolta a patkányok mozgását. A különbség a fiziológias sóval kezelt csoporthoz hasonlítva statisztikailag szignifikáns.

Nem észleltünk változást a szatietinnel kezelt patkányok testhőmérsékletében (10. táblázat).

10. táblázat

Patkányok testhőmérsékletének változatlanúsága nagy adag szatietin (500 μ g) intracerebroventrikuláris adagolás után

Kezelés	Végbélhőmérséklet átlaga C°							
	Kísérlet előtt	Szatietin után (óra)						
		1	2	3	4	5	6	24
Fiziológias só (20 μ l)	36,6	36,7	36,7	36,8	36,7	36,9	36,9	37,0
Szatietin (500 μ g)	36,8	36,9	36,9	36,9	36,9	36,9	36,9	36,6

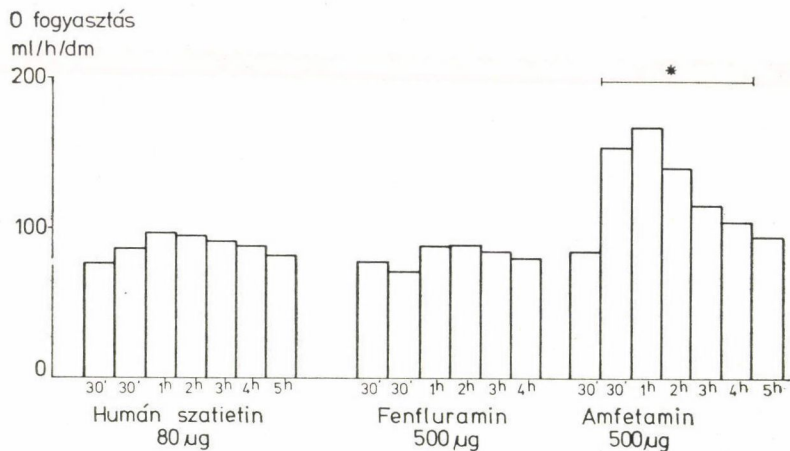
n = 20

♀ 200–220 g súlyúak

A 9. ábra mutatja, hogy 2 egységnyi, humán szérumból kivont szatietin nem befolyásolja az alapanyagcserét. A kísérleteket Timár Júliával végeztük. Összehasonlításként látjuk, hogy az intracerebroventrikulárisan beadható legnagyobb fenfluramin adag sem növeli az oxigénfogyasztást, míg az amfetamin igen erőteljesen emeli az anyagcserét.

Szatietin nem befolyásolta patkányok egyirányú elhárító reflexes tesztekben tanúsított viselkedését.

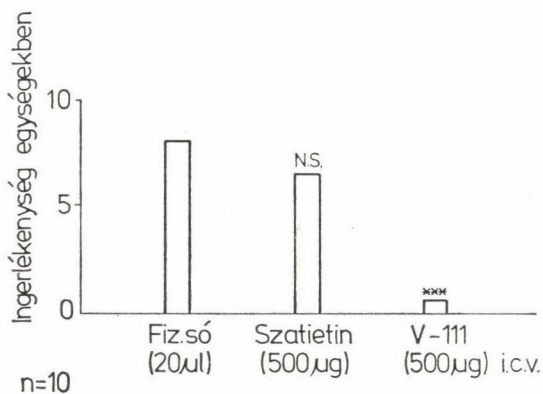
A módosított ugrástesztben (Knoll és Knoll, 1964), mely egy feltétlen elhárító reakció mérését jelenti, 2 E szatietin sem volt hatékony (10. ábra).



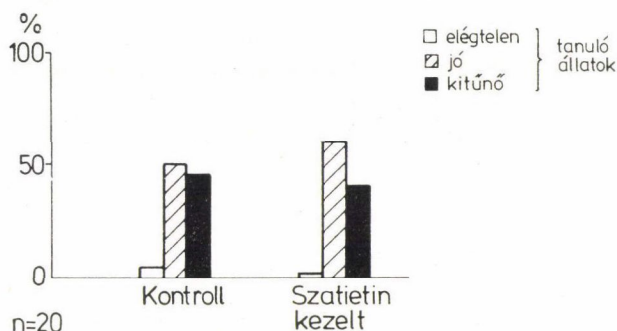
9. ábra Intracerebroventrikulárisan beadott szatietin, fenfluramin és amfetamin hatása patkányok alapanyagcseréjére. (Módszer: Issekutz és Issekutz, 1942) * $p < 0,05$ Student t teszt 2 mintás

Megvizsgáltuk továbbá Knoll Berta gyógyszerhatások mérésére kidolgozott gyors és egyszerű szűrő módszerével (Knoll Berta, 1976) a szatietinnek egy feltételes kapcsolat kiépülésére és a megszilárdult feltételes reflex megtartására kifejtett hatását. A 11. ábra mutatja, hogy az alkalmazott egyirányú feltételes reflexes tesztben még 2 E szatietin intracerebroventrikuláris adagolás sem változtatta meg a kontrollhoz képest a patkányok tanulási képességét és a tanult reakció retencióját.

Vizsgálat tárgyává tettük végül 2 E szatietinnek egy nagyon szilárdan kiépített feltételes reflexre kifejtett hatását is. Erre a célra egy régebben leírt módszerünket, az ugrástesztet (Knoll és Knoll, 1958) használtuk. Olyan állatoknak adtuk be a szatietint, amelyek hónapokon át szilárdan megőrizték a



10. ábra Nagy adag intracerebroventrikulárisan adott szatietin (500 µg) hatástalansága 96 órán át éhező patkányok feltétlen elhárító reflex aktivitására és anorexiás hatású V-111 (500 µg) hatékonysága. Módszer: módosított ugrás teszt (Knoll és Knoll 1964) *** $p < 0,001$ Student t teszt 2 mintás



11. ábra Elhárító feltételes reflex változatlan kiépíthetősége szatietin intracerebroventrikuláris beadása után 5 órával CFY, hím patkányokon. Módszer: Screening teszt II. (Knoll Berta 1976)

kiépített feltételes válaszreakciót és minden kísérletben a feltételes elhárítási reflex lappangási ideje 1 mp-en belül volt. A 11. táblázat mutatja 2 E szatietin hatástalanságát ezen a teszten.

A szatietin szelektivitásának további analizésére Dalló Jánossal és Tran Ty Yen-nel megvizsgáltuk hatékony preparátumok szexuális magatartásra kifejtett hatását. Szexuálisan aktív hím patkányokkal dolgoztunk. Összehasonlítottuk intracerebroventrikulárisan 20 μ l fiziologiás sóoldat és ugyanennyi fiziologiás sóoldattal oldott 2 E szatietin hatását. A 12. táblázat mutatja, hogy hím patkányok szexuális aktivitását a szatietin nem befolyásolja jelentősen.

11. táblázat

Patkányok feltételes reflex aktivitásának változatlansága humán szatietin intracerebroventrikuláris adagolás után

Állat száma	Kezelés előtt	Feltételes reflex lappangási ideje (sec)					
		Szatietin beadása után (óra)					
		5	6	7	8	10	24
1.	1,0	1,2	1,1	1,0	1,2	1,1	1,3
2.	1,2	6,7	1,0	1,2	1,2	1,3	1,6
3.	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,2
4.	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
5.	1,0	1,0	1,3	1,0	1,0	1,0	1,0
6.	1,2	1,2	1,3	1,0	1,0	1,0	1,0

Elhárító feltételes reflex vizsgálata az ugrás tesztel (Knoll és Knoll, 1959).

Poliakrilamid gélelektroforézisben homogénnek tűnő szatietinből 2 egységet adtunk i. c. v. fél éves tréningben levő állatoknak.

12. táblázat

Sztatietin hím patkányok kopulációs aktivitására kifejtett hatása

Kezelés i. c. v.	Reagáló állatok százaléka		
	Hágás	Intromisszió	Ejakuláció
Fiziológiás só (20 µl)	100	100	100
Humán sztatietin (2 egység)	71*	71*	71*

Szelektált 400–450 g súlyú hím patkányok szexuális aktivitásának jeleit a receptív nőstény jelenlétében 30 percig figyeltük meg. A sztatietint a patkányok 5 órával a mérés kezdete előtt kapták i. c. v.

* $p > 0,05$ Student t teszt 2 mintás

A táplálékfelvételre kifejtett sztatietin-hatás szelektivitásának további bizonyítéka, hogy nem befolyásolja az éhező állatok vízfelvételét. A 13. táblázat Sándor Gáborral végzett kísérletsorozatunk eredményét mutatja be. Az állatok valódi folyadékigényét csak teljes éhezés állapotában mérhetjük. A standard táplálékként szolgáló száraz tápdugó elfogyasztása ugyanis igen nagy mennyiségű vizet igényel. Egy tápdugóval ad libitum ellátott 200 g súlyú patkány napi vízfogyasztása 30 g felett van, tehát saját testsúlyának 15 %-át is meghaladja.

A 13. táblázatból kitűnik, hogy az éhező állat napi vízigenye az éhezés 4. napján 6,45 g a kezeletlen állatokon és nincs különbség a kezeletlen, az intracerebroventrikulárisan 20 µl fiziológiás sóoldatot és az ugyanennyi folyadékban 2 E sztatietint kapott patkánycsoport vízfogyasztása között.

Végezetül, annak eldöntésére, hogy az emberi sérumból előállított 10–25 E/mg hatékonyságú sztatietin preparátumaink milyen mértékig szennyezettek biológiailag aktív anyagokkal, megvizsgáltuk néhány készítmény patkányok vérnyomására és különböző izolált szervekre kifejtett hatását.

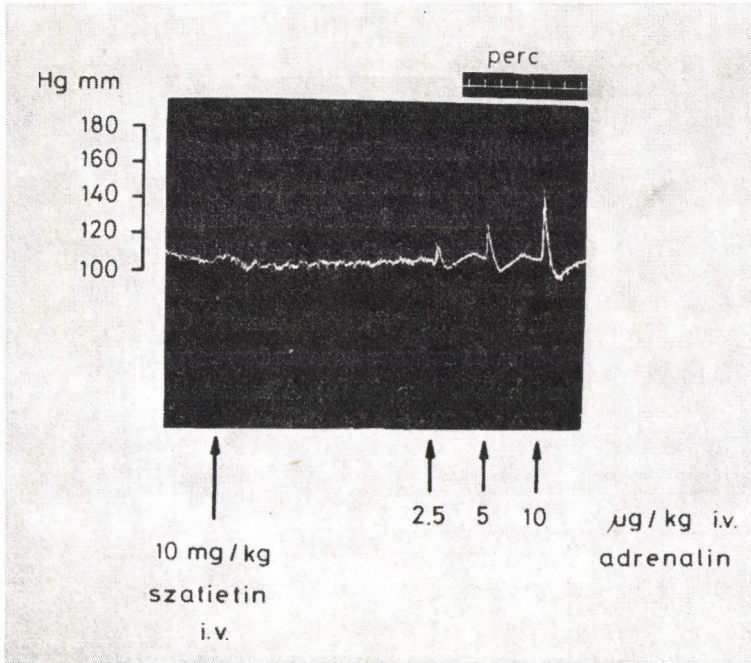
13. táblázat

Patkányok vízfogyasztásának változása éhezés során és a sztatietin hatástalansága a vízfogyasztásra Intracerebroventrikuláris adagolás

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

n = 20; Humán sztatietin

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



12. ábra Humán szérumból kivont 25 E/mg hatékonyságú szatietin preparátum hatástalansága patkány vérnyomás teszten (CFY, 200 g, hím)

A 12. ábra mutatja, hogy a szatietin nem hat a vérnyomásra és az adrenalin vérnyomásemelő hatását sem befolyásolja. A bemutatott kísérletben egy 200 g súlyú patkánynak 25 E/mg hatékonyságú preparátumból adtunk 10 mg/kg-ot intravénásan, tehát 250 E/kg szatietint találtunk hatástalannak.

Humán szérumból kivont 25 E/mg hatékonyságú preparátumból 0,25–5 E hatástalannak bizonyult a következő izolált szerveken: békaszív, macska papilláris izom, perfundált nyúlfül középartéria, macska a. pulmonalis csík, macska pislogóhártya, macska lép szelet, egér, patkány és tengerimalac vas deferens, tengerimalacbél Auerbach plexus – longitudinális izom. Az izolált szerveken végzett kísérletek azt bizonyítják, hogy a szatietin-preparátumok nem tartalmaznak vérnyomásra ható peptideket és nincsenek szennyezve acetilkolin, noradrenalin, hisztamin, szerotonin, prosztaglandin, endorfin iránt érzékeny receptorokra ható endogén anyagokkal. Nyilvánvaló természetesen az is, hogy a szatietin maga nem hat e felsorolt receptorokra és nem is mobilizál e receptorokon ható anyagokat a szervekből.

A szatietin és anorexiás hatásának leírt endogén anyagok táplálékfelvételt csökkentő hatásának összehasonlítása

Az elmúlt évek során két ismert biológiai hatású endogén peptid, a koleisztokinin (CCK) és kalcitonin anorexiás hatását írták le.

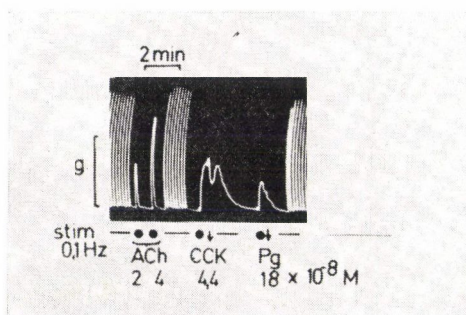
Miután mindkét peptid a véráramban kering, megvizsgáltuk, lehet-e szerepük preparátumaink anorexiás hatásában, analizáltuk továbbá, hogy szóba jöhet-e a két peptid valamelyike a táplálékfelvétel szabályozásának középpontjában álló jelző anyagként.

A bél simaizomzatának serkentőjeként ismert CCK anorexiás hatását Gibbs és mt. írták le 1973-ban és számos tanulmányban elemezték a jelenséget (Gibbs és mt. 1973a, b; Smith és Gibbs, 1975). A szintetikusan előállított terminális oktapeptid (CCK—OP) is teljesen hatékony.

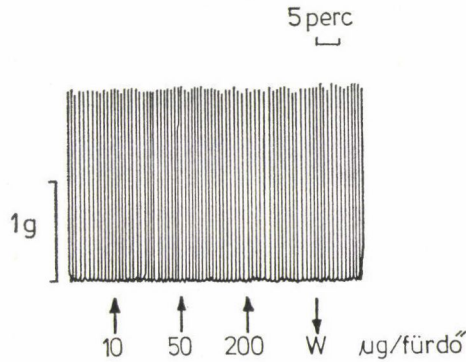
A CCK—OP bélizomzatot serkentő jellegzetes hatása, mely acetilkolin felszabaduláson alapszik, a 13. ábrán látható. Az oktapeptid már $5 \cdot 10^{-8}$ M koncentrációban összehúzza a belet. Mivel, amint a 14. ábra mutatja, egy 25 E/mg tartalmú preparátumból 10, 50 és 250 μ g is teljesen hatástalan a bélen, megállapítható, hogy preparátumaink még szennyezésként sem tartalmaznak CCK-t.

A CCK—OP egyébként nem fejt ki anorexiás hatást 96 órán át éhező patkányokon. A 14. táblázat mutatja be a peptid hatástalanságát mind i. v., mind i. c. v. alkalmazás mellett. Kísérleteinkben rendkívül nagy mennyiségű CCK—OP-t adtunk. Súly szerint annyit, amennyit egy közepes hatékonyságú szatietin preparátumból kell adnunk a táplálékfelvétel gátlásához. Még ez az enormis dózis is hatástalan volt.

Az a megfigyelésünk, hogy a CCK—OP hatástalan 96 órán át éhező állatokon megegyezik Smith and Gibbs (1975) észlelésével, akik leírták, hogy a CCK csak rövid ideig ható táplálékmegegyezés esetén hatékony. A szerzők felvetik a CCK élettani jelző szerepét a táplálékfelvétel szabályozásában. Ha van



13. ábra CCK-OP és pentagastrin bélizomzatot összehúzó hatása tengerimalacbél Auerbach-plexus longitudinális izom készítményen. (Téringerlés 0,1 Hz)



14. ábra Szatietin hatástalansága tengerimalacbél Auerbach plexus-longitudinális izom készítményen (Téringerlés 0,1 Hz) 25 E/mg szatietint tartalmazó humán szérumból tisztított készítmény

ennek a peptidnek ilyen szerepe, az mindenesetre a szérumban nagy mennyiségben keringő, rendkívül erős és nagyon tartós anorexiás hatású szatietin mellett csak alárendelt lehet.

A kalcitonin, a kalcium anyagcserében fontos szerepet játszó peptid anorexiás hatását Freed és mt. írták le 1979-ben. Az ember szérumában 25–100 picogramm/ml (átlagban 42 picogramm/ml) kalcitonin van, tehát igen kicsiny a koncentráció.

A humán kalcitonin RIA-val (radio immun assay) meghatározható. Földes János (SOTE I. Belklinika) volt szíves néhány szatietin preparátumunk kalcitonin tartalmát meghatározni, amiért e helyütt is köszönetet mondok. A mérések azt mutatták, hogy 1 E szatietinhez 1 nanogramnál kevesebb kalcitonin rendelhető, tehát gyakorlati szempontból ember szérumából tisztított kivonataink kalcitonin-menteseknek tekinthetők.

14. táblázat

Kolecisztokinin C-terminális oktapeptidjének (CCK-OP) hatástalansága 96 órán át éhezett patkányok táplálékfogyasztására

Kísérlet-sorozat száma	Kezelés	Állatok száma	Testsúly (g) ± S.E.M. éhezés		Felvett táplálék (g) ± S.E.M.	
			előtt	után	1 óra alatt	24 óra alatt
1.	Fiziológiás só	250	202,86 ± 9,54	160,25 ± 7,24	7,15 ± 0,36	24,92 ± 0,65
2.	CCK-OP 15 mg/kg i. v.	15	225,33 ± 7,88	182,17 ± 4,17	7,17 ± 1,08	25,00 ± 3,45
3.	CCK-OP 500 µg i. c. v.	15	232,15 ± 3,88	187,20 ± 2,49	7,57 ± 1,36	23,33 ± 2,76

Az állatok a táplálékot a CCK-OP intravénás beadása után 1 órával, az intracerebroventrikuláris beadás után 5 órával kapták meg.

A kalcitonin egyébként a 96 órán át éhezett patkányok táplálékfelvételét erősen gátolta. Kísérleteinket szintetikus lazac kalcitoninnal végeztük. A 15. táblázat intravénás, a 16. táblázat intracerebroventrikuláris adagolás mellett mutatja be a kalcitonin dóziszfüggő hatását.

Felmerül a kérdés, lehet-e a szérumban keringő kalcitoninnak, az ismert hatásán kívül, a táplálékfelvétel szabályozásában is élettani szerepe. Ebből a szempontból figyelembe kell venni, hogy bár, amint a táblázatok mutatják, a kalcitonin nagyon hatékony gátlója a táplálékfelvételnek, az anorexiás hatás kifejtéséhez, ha a kalcitonin vérkoncentrációját vesszük figyelembe, rendkívül nagy dózisok szükségesek. Egy egység szatietinnel egyenértékű kalcitonin mennyiség mintegy 20 liter szérumban van jelen, míg 3,3 ml szérumból vonunk ki egy anorexiás egység szatietint. A mennyiségi viszonyok alapján tehát nem látszik valószínűnek, hogy a vér kalcitoninjának a kalcium szint szabályozásában betöltött ismert szerepe mellett élettani jelző funkciója is volna a táplálékfelvétel szabályozásában.

Kalcitonin az agyszövetben is van. A táplálkozás szabályozásában a „központ” szerepét betöltő átkapcsolási helyek környezetében felszabaduló kalcitonin, amennyiben van ilyen reguláció, elvileg a még ismeretlen bonyolult agyi szabályozás láncreakciójának egyik, akár nélkülözhetetlen, láncszeme is lehetne. Ez a lehetőség azonban nem érinti a véráram útján megvalósuló

15. táblázat

*Intravénásan adott kalcitonin anorexiás hatásának vizsgálata 96 órán éhezett patkányokon.
Kalcitonin 1 órával a táplálék előtt beadva*

Dózis/kg	Állatok száma	Testsúly (g) \pm S.E.M. éhezés		Feltett táplálék (g) \pm S.E.M.	
		előtt	után	1 óra alatt	24 óra alatt
10 E	8	210,88 \pm 5,43	171,38 \pm 4,59	4,13 \pm 0,69	20,38 \pm 2,27
25 E	8	215,75 \pm 5,20	174,13 \pm 4,65	3,50 \pm 0,68	22,75 \pm 1,82
50 E	9	207,78 \pm 4,35	163,22 \pm 3,20	2,22 \pm 0,57	13,89 \pm 2,11
100 E	8	205,00 \pm 4,87	163,50 \pm 4,68	4,38 \pm 0,84	13,50 \pm 2,38***
200 E	8	201,25 \pm 5,46	158,00 \pm 5,34	3,00 \pm 0,33**	9,13 \pm 0,95***

* $p < 0,05$

** $p < 0,01$

*** $p < 0,001$ Student t teszt 2 mintás

16. táblázat

Intracerebroventrikulárisan adott kalcitonin anorexiás hatásának vizsgálata 96 órán át éhezett patkányokon. Kalcitonin 1 órával a táplálék előtt beadva

Dózis/ állat	Állatok száma	Testsúly (g) \pm S.E.M. éhezés		Felvett táplálék (g) \pm S.E.M.	
		előtt	után	1 óra alatt	24 óra alatt
0,02 E	8	221,50 \pm 10,69	176,88 \pm 8,87	8,25 \pm 0,45	20,38 \pm 1,19**
0,1 E	8	207,50 \pm 5,72	168,33 \pm 5,70	4,13 \pm 1,20	12,13 \pm 1,89***
0,25 E	8	201,78 \pm 4,95	176,22 \pm 3,70	5,11 \pm 1,41	13,89 \pm 3,23***
0,5 E	8	204,50 \pm 3,76	165,63 \pm 3,45	4,13 \pm 1,62	9,50 \pm 3,99***
1 E	8	215,63 \pm 6,11	174,5 \pm 6,40	0,00***	0,63 \pm 0,42***
2 E	8	215,50 \pm 3,57	169,00 \pm 2,99	0,10 \pm 0,10***	0,10 \pm 0,10***

* $p < 0,05$

** $p < 0,01$

*** $p < 0,001$ Student t teszt, 2 mintás

17. táblázat

*TRH és pGlu-His-GlyOH anorexiás hatása 96 órán át éhező patkányokon
Intravénás adagolás*

Kezelés*	Dózis mg/kg	Testsúly (g) \pm S.E.M. éhezés		Felvett táplálék (g) \pm S.E.M.	
		előtt	után	1 óra alatt	24 óra alatt
Fiziológiás só		202,86 \pm 9,54	160,25 \pm 7,24	7,15 \pm 0,36	24,92 \pm 0,95
TRH	15	224,38 \pm 7,00	172,75 \pm 6,44	5,60 \pm 1,19	20,18 \pm 1,18
pGlu-His-GlyOH	15	253,38 \pm 5,62	198,25 \pm 5,42	6,60 \pm 0,95	22,10 \pm 0,88

* Szintetikus peptidek 1 órával táplálék előtt adva

TRH = Thyrotropin reguláló hormon (pGlu-His-ProNH₂)

n = 15

szignifikáció problémáját, mely mindenképpen a legalapvetőbb a táplálék-felvétel lényegi szabályozása, a táplálkozási aktív góc képződése szempontjából.

18. táblázat

TRH és pGlu-His-GlyOH anorexiás hatása 96 órán át éhezõ patkányokon
Intracerebroventrikuláris adagolás

Kezelés*	Dózis µg	Testsúly (g) ± S.E.M.		Felvett táplálék (g) ± S.E.M.	
		előtt	után	1 óra alatt	24 óra alatt
Fiziológiás só	—	220,92 ±2,26	177,33 ±2,33	8,06 ±0,92	22,16 ±2,35
TRH	300	240,26 ±7,12	188,75 ±4,62	5,69 ±0,81	19,81 ±1,52
pGlu-His-GlyOH	300	227,88 ±3,64	182,88 ±5,88	4,88 ±0,52*	19,33 ±1,08

n = 15

* A vegyületek 0,9% NaCl-ban oldva és 0,02 ml-ben i. c. v. adva 5 órával a táplálék előtt.

* p < 0,05 Student t teszt 2 mintás

Figyelemreméltónak látszott szatietin-kutatásaink szempontjából az a tripeptid is, melyet Reichelt és mt. írtak le 1978-ban. Egy, a TRH-hoz közelálló szerkezetű tripeptidet (pGlu-His-Gly OH) vontak ki anorexia nervosa-ban szenvedők vizeletéből, mely leírásuk szerint egéren a táplálékfelvételt erősen gátolta.

Kisfaludy Lajos (Kőbányai Gyógyszerárugyár) ezt a tripeptidet kérésünkre gyorsan megszintetizálta és a szükséges mennyiségben rendelkezésünkre bocsájtotta, melyért e helyütt is köszönetemet fejezem ki, így össze tudtuk hasonlítani annak hatását a szatietinével. A tripeptid jelenlétét egyébként 25 E/mg szatietint tartalmazó kivonatokban sem tudtuk detektálni.

A 17. táblázat intravénás, a 18. táblázat intracerebroventrikuláris adagolás mellett mutatja be a Reichelt-féle tripeptid (pGlu-His-Gly OH) és a TRH (pGlu-His-ProNH₂) nagy adagjainak befolyását 96 órán át éhezett patkányok táplálékfelvételére.

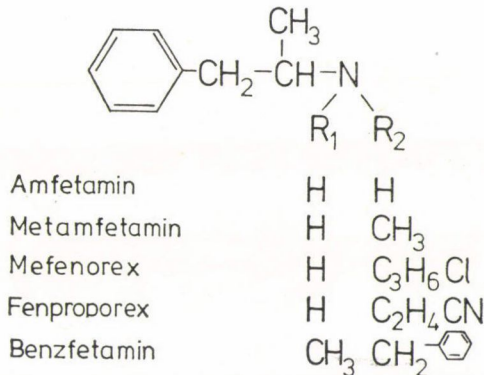
Megállapítható, hogy szatietin-szerű hatást sem a TRH-val, sem a Reichelt-féle peptiddel nem tudunk kimutatni. Az utóbbi mutatott valamelyest csökkenést a táplálékfelvételben, de ennek — bár statisztikailag szignifikáns — biológiai jelentősége, legalábbis a táplálékfelvétel szabályozása szempontjából, aligha lehet.

Szatietin és fogyasztószerként használt gyógyszerek táplálékfelvételt csökkentő hatásának összehasonlítása

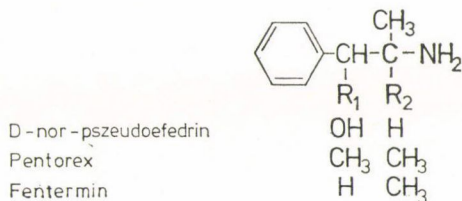
A táplálékfelvétel gyógyszeres gátlásának máig követett útja a fenilizopropilamin (amfetamin) klinikai használatával vette kezdetét.

A fenilizopropilamint 1887-ben szintetizálták (Edeleano), 1910-ben vizsgálták érszűkítő hatását (Barger és Dale), 1935-ben centrális izgatószerként vezették be a terápiába narkolepszia kezelésére (Prinzmetal és Blomberg). Testsúlycsökkentő hatását emberen először 1937-ben említették (Nathanson), majd egy évtizeddel később jelentek meg az amfetamin anorexiás hatásával célzottan foglalkozó első tanulmányok (Harris és mt. 1947, Williams és mt. 1948).

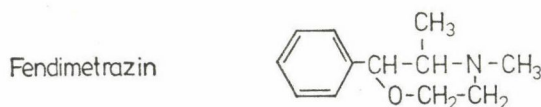
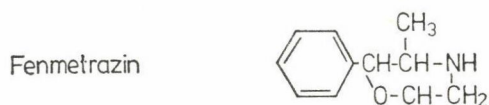
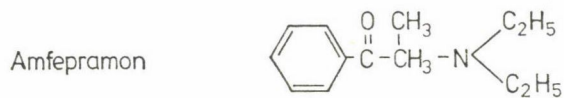
A vegyiszerkezet és az anorexiás hatás összefüggésének beható analízise nagy számú amfetamin analóg előállítását eredményezte. A sok száz vegyület közül számos klinikai vizsgálatokig jutott el és jónéhány fogyasztószerként forgalomba került. A 15—19. ábra a legismertebb anorexiás hatású vegyületek szerkezetét mutatja be. A terápiában használt származékok a mazindol kivételével az amfetamin közeli szerkezeti rokonai.



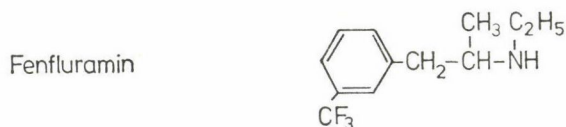
15. ábra Anorexiás hatású gyógyszerek szerkezete I. Csak nitrogénen szubsztituált fenilizopropilamin származékok



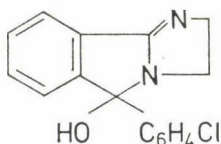
16. ábra Anorexiás hatású gyógyszerek szerkezete II. Az aromás gyűrű és a nitrogén között szubsztituált fenilizopropilamin származékok



17. ábra Anorexiás hatású gyógyszerek szerkezete III. Komplex módon szubsztituált fenilizo-propilamin származékok, melyekben az aromás gyűrű változatlan

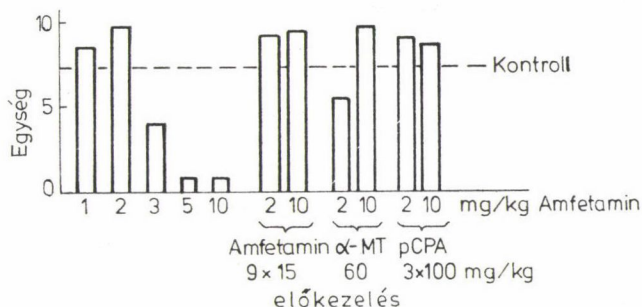


18. ábra Anorexiás hatású gyógyszerek szerkezete IV. Az aromás gyűrűn szubsztituált fenilizo-propilamin származékok



19. ábra Anorexiás hatású gyógyszerek szerkezete V. A fenilizopropilamintól lényegesen különböző mazindol szerkezete

Az amfetamin kettős hatású vegyület, kisebb adagokban a katekolaminerg, nagyobbakban már a szerotonerg tónust is fokozza (Knoll, 1972). Hatásának ez a dózistól függő kettőssége jól kimutatható olyan funkció vizsgálatával, melyet a két monoaminerg rendszer ellentétesen befolyásol. Elhárító reflexes tesztrendszerekben például patkányok teljesítőképességét a katekolaminerg rendszer serkenti, míg a szerotonerg rendszer gátolja (Knoll, 1972, Knoll és Knoll, 1975, Knoll B. 1976). A 20. ábra mutatja, hogy egy egyirányú elhárító reflexes teszten a patkányok teljesítménye amfetamin kisebb dózisainak hatására növekszik, míg a nagyobb adagok a teljesítményt gátolják. Az ábra azt is

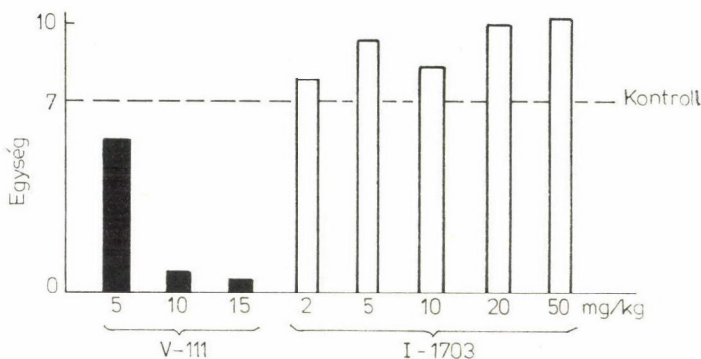
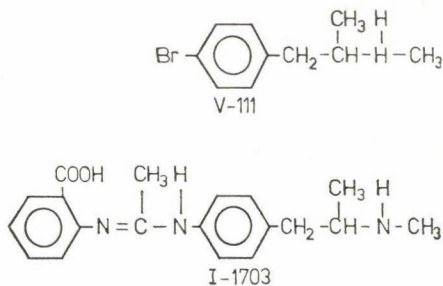


20. ábra Amfetamin dózistól függő kettős (serkentő és gátló) hatása a módosított ugrás teszten és annak változásai amfetamin előkezelés, valamint α -metilparatirozin (α -MT) és paraklorofenilalanin (PCPA) kezelés után. Módszer: módosított ugrás teszt (Knoll és Knoll, 1964)

mutatja, hogy patkányok előkezelése a katekolaminok szintézisét gátló alfa-metilparatirozinnal (alfa-MT), csakúgy, mint a szerotonin szintézisét gátló p-klorofenilalaninnal (pCPA) meggátolja a nagyobb amfetamin adagok teljesítményrontó hatását. Ez azt mutatja, hogy a katekolaminok fokozott áramlása indítja be a szerotonin áramlás növekedését. Mi mutattuk ki elhárító reflexes teszten, hogy megfelelő szerkezeti változtatásokkal a katekolamin, ill. szerotonin áramlásra szelektív módon ható vegyületek állíthatók elő (Knoll 1970, Knoll 1972, Knoll és Knoll 1975, Knoll 1978, Knoll B. 1976).

A 21. ábra két, Ecsery Zoltán (CHINOIN) által szintetizált, vegyület példáján mutatja be, hogy egy bróm bevitele a metamfetaminba para-pozícióban (V-111) szelektív szerotonerg anyaghoz vezet, míg ugyanerre a helyre szubsztituált nagy térkitöltésű csoport (I-1703) a katekolaminerg tónust szelektíven fokozó vegyületet eredményez. Ennek eredményeként V-111 minden vizsgált dózisban rontja, míg I-1703 kis és nagy adagban egyaránt javítja a teljesítményt.

Mindkét vegyület azonban hatékony anorektikum, mivel a táplálékfelvétel egyaránt gátolható a két monoaminerg rendszer tónusának növelésével.



21. ábra A szelektív metamfetamin származékok hatása a módosított ugrás teszten

A táplálékfelvétel hipotalamikus szabályozásának klasszikus teóriája szerint a laterális hipotalamuszban (LH) egy a táplálkozást serkentő „éhség” központ, míg a ventromediális magban (VMH) egy gátló, „jóllakottsági” központ helyezkedik el (Stellar, 1954). Az elmélet két pillérré épült. Az egyik Hetherington és Ranson 1940-ben közölt híres kísérlete, miszerint VMH lézió patkányon hiperfágiát, így elhízást okoz. A másik Anand és Brobeck 1951-ben leírt észlelete, miszerint LH lézió patkányon és macskán afágiához és adipositiához vezet. Ma már tudjuk, hogy a helyzet ennél sokkal bonyolultabb. Mind a VMH, mind az LH számos rostrendszer áthaladási útja, így az itt létrehozott léziók következményeiből nem lehet a hipotalamusz magok kizárólagos szerepére következtetni. A táplálékfelvétel zavara más agyi magvak, pl. a globus pallidus (Morgane, 1961), a substantia nigra (Ungerstedt, 1971), a nucleus amigdalala (Fonberg, 1974) léziójával is kiváltható. Még nyitott kérdés, hogy pontosan milyen szenzoros és motoros struktúrák együttműködése játszik szerepet a táplálékfelvétel lényegi szabályozásában és milyen transzmitter, ill. modulator anyagok vannak elsősorban involválva. Annyi azonban bizonyos, hogy a kate-

kolaminok és a szerotonin fontos szerepet játszanak a folyamatban. Számos eredmény támogatja ezt a nézetet.

Jóllakott állatok táplálékfelvétele krónikus kanülön keresztül közvetlenül az agyszövetbe juttatott kis adag noradrenalin (Grossman, 1960), ill. adrenalin (Grossman, 1964) hatására fokozódik. Ez a hatás alfa-receptor bénítóval gátolható, ami a természetes éhségérzet alfa-adrenerg modulációja mellett szól. A serkentő hatást a köztiagyból származó, a diencephalon periventrikuláris területéről felszálló rostok befolyásának tulajdonítják (Leibowitz 1976).

Másfelől éhes állatok hipotalamuszába fecskendezve mind alfa-, mind béta-receptor gátlók, valamint dopamin, ill. amfetamin gátolja a táplálékfelvételt (Booth, 1968; Leibowitz, 1976).

Nagyon valószínű, hogy a hipotalamuszon áthaladó noradrenerg pályának táplálékfelvételt gátló funkciója van, mivel a köztiagy centrális noradrenerg rostkötegébe adott 6-hidroxidopamin hiperfágiát okoz (Alskog, 1973).

A kis és közepes amfetamin adagok anorexiás hatása minden bizonnyal katekolaminok kiáramlásának fokozódásán alapszik. Emellett szól a 19. táblázat, mely amfetamin anorexiás hatását mutatja be 96 órán át éhezett patkányokon. Az amfetamin hatását az alfa-MT jelentős mértékben antagonizálja, míg a szatietint nem befolyásolja. A 15–17. ábrán feltüntetett szerkezetek mind az amfetaminhoz hasonló katekolaminerg mechanizmussal hatnak.

19. táblázat

Amfetamin és szatietin anorexiás hatásának összehasonlítása 96 órán át éhező patkányokon
Intravénás adagolás

Kezelés	Dózis mg/kg	Testsúly (g) \pm S.E.M. éhezés		Felvett táplálék (g) \pm S.E.M.	
		előtt	után	1 óra alatt	24 óra alatt
Fiziológiás só	—	202,86 \pm 9,54	160,25 \pm 7,24	7,15 \pm 0,36	24,92 \pm 0,65
d, l-Amfetamin	2	212,67 \pm 4,14	160,33 \pm 3,50	6,33 \pm 0,59	25,67* \pm 0,96
	5	217,00 \pm 2,53	170,00 \pm 2,18	0,00***	20,67 \pm 1,08*
α -MT + d, l Amfetamin	5	216,38 \pm 4,11	166,08 \pm 4,29	4,50 \pm 0,54***	25,25 \pm 1,09*
Szatietin	15	199,15 \pm 5,12	152,00 \pm 7,08	0,88 \pm 0,40***	9,80 \pm 2,86***
α -MT + Szatietin	15	208,18 \pm 6,17	159,05 \pm 4,85	0,92 \pm 0,57***	8,85 \pm 3,02***

n = 15

Amfetamin 10 perccel a táplálék előtt adva

α -MT = α -metilparatirozin 60 mg/kg, i. p., 6 órával a táplálék előtt adva

* p < 0,05

*** p < 0,001 Student t teszt 2 mintás

Szelektívebb ezeknél a csak dopaminerg mechanizmus serkentése útján ható mazindol (Kruk és Zarindast, 1976), mely szerkezetében már jelentősen különbözik az amfetamintól (lásd 19. ábra). A mazindol dependencia-kapacitása mindazonáltal az amfetaminéhoz hasonló.

A farmakológiai vizsgálatok arra vallanak, hogy a szerotonerg mechanizmus is fontos szerepet játszik a táplálékfelvétel regulációjában. E hatásmóddal fejtik ki anorexiás hatásukat a para- és vagy meta-helyzetben szubsztituált amfetamin származékok, köztük a fenfluramin, mint legismertebb vegyület.

Lényeges különbség van a központi idegrendszeri hatás spektruma szempontjából a katekolaminerg és szerotonerg hatásmódú anorektikumok között. Míg az előbbieket stimuláló vegyületek, fokozzák a motilitást, serkentő hatásúak a különböző viselkedési tesztekben, növelik az alpanyagcserét és többé-kevésbé perifériás szimpatikus izgató hatást is kifejtenek, addig a szerotonerg tónus fokozása útján ható vegyületek a viselkedési tesztekben gátló hatást fejtenek ki, nem befolyásolják az anyagcserét és nincsenek amfetamin-szerű perifériás hatásai. A fenfluramin erős anorexiás hatását és amfetamintól eltérő hatásmódját bizonyítja a 20. táblázat. Látjuk, hogy alfa-MT előkezelés, mely az amfetamin táplálékfelvételt gátló hatását jelentős mértékben antagónizálja (lásd 11. táblázat) a fenfluraminnal szemben hatástalan.

Az amfetamin és fenfluramin hatásspektrumának különbözőségét bizonyítja a már előzőleg bemutatott 9. ábra, melyből kitűnik, hogy az amfetamin, anorexiás hatású adagokban a dózistól függően emeli a patkányok oxigénfogyasztását, míg a fenfluramin a táplálékfelvételt teljesen gátló adagban (lásd 9. ábra) sem befolyásolja az anyagcserét.

20. táblázat

*A fenfluramin anorexiás hatása 96 órán át éheztetett patkányokon
Intracerebroventrikuláris adagolás*

Kezelés	Dózis μg/állat	Felvett táplálék (g) ± S.E.M.	
		1 óra alatt	24 óra alatt
Fiziológiás só	—	8,06 ± 0,92	22,16 ± 0,88
Fenfluramin ⁺	100	6,62 ± 0,57	18,38 ± 1,32***
Fenfluramin	250	4,50 ± 0,74**	20,25 ± 1,77**
Fenfluramin	500	0,67 ± 0,67***	20,92 ± 1,90**
α-MT + Fenfluramin ⁺⁺	500	1,15 ± 0,70***	24,08 ± 1,11**

n = 15

⁺ Az állatok a fenfluramint a táplálék előtt 10 perccel kapták.

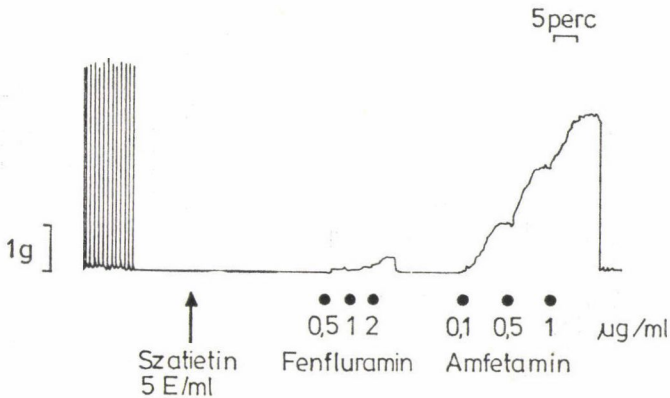
⁺⁺ α-MT = α-metilparatirozin 60 mg/kg, i. p. 6 órával a táplálék előtt adva.

** p < 0,01

*** p < 0,001 Student t teszt 2 mintás

A szatietin preparátumok hatása mind az alfa-MT előkezelés befolyását (19. táblázat), mind az anyagcserére kifejtett hatását (9. ábra) tekintve eltér az amfetaminétól és a fenfluraminéhoz hasonlít.

Megjegyzésre érdemes, hogy ha a 10–50 E/mg hatékonyságú preparátumainkat vesszük figyelembe és ezek intracerebroventrikuláris hatékonyságát a fenfluraminéval (lásd 20. táblázat) egybevetjük, a még nem homogén szatietin preparátumok is 5–25-ször hatékonyabbnak bizonyulnak a táplálékfelvételt gátló hatás tekintetében, mint a fenfluramin.



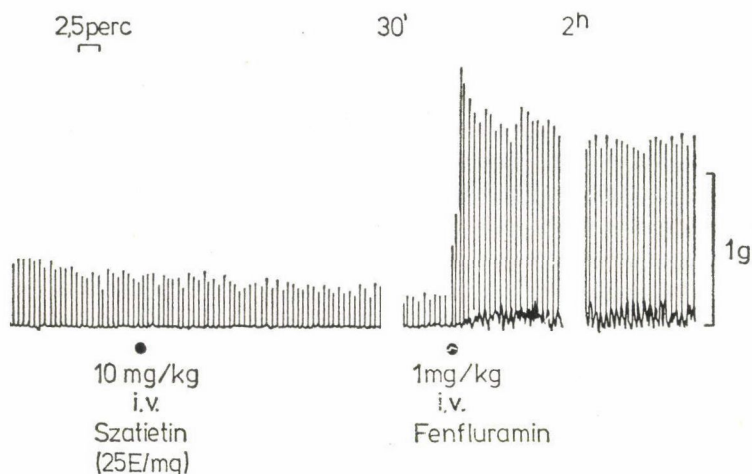
22. ábra Az amfetamin noradrenalin felszabadító hatása és a szatietin, valamint fenfluramin hatástalansága macska izolált pislogóhártya készítményen. Téringerléssel kiváltott kontrakciók demonstrálják a szerv működését a gyógyszeres kísérlet előtt

A szatietin sajátos, mind az amfetamintól, mind a fenfluramintól eltérő hatásmódját izolált szerveken bizonyíthatjuk. Az amfetamin, mely anorexiás hatását elsősorban noradrenalin felszabadító képességének köszönheti, minden agyi és perifériás noradrenerg végkészüléken kifejti ezt a hatását. A 22. ábra mutatja pl. egy tisztán noradrenerg beidegzésű szervben, a macska izolált pislogóhártyáján, az amfetamin jellegzetes hatását. A szervfürdőhöz kumulatív módon adott amfetamin hatására noradrenalin áramlik ki a végkészülékből, ezért az izomzat tartósan kontrahál. A fenfluraminnak, csakúgy mint a szatietinnek, nincs ilyen hatása.

A fenfluramin, mely noradrenerg szervben hatástalan, erőteljesen facilitálja a neuromuszkuláris junkciót olyan átkapcsoló helyeken, amelyek szerotonin transzmisszióval dolgoznak. Ha spinális patkányon a n. tibialis profundus ingerlésével váltjuk ki és in situ regisztráljuk a m. tibialis anterior kontrakcióit, olyan működést vizsgálunk, melyben egy szerotonerg átkapcsolóhely aktiváló szerepet játszik.

A szatietin ezen a teszten is hatástalan, mint azt a 23. ábra mutatja. A fenfluramin azonban, mely erősen fokozza a szerotonin kiáramlást, 1 mg/kg i. v. adagban erőteljesen növeli az izomösszehúzódások erejét és ez a hatás nagyon tartós.

A 22. és 23. ábrán bemutatott kísérletek világosan bizonyítják, hogy a jelenleg gyógyszerként használt fogyasztszerek mindkét csoportja szükség-



23. ábra Szatietin és fenfluramin hatásának összehasonlítása Maj (1976) spinális patkányon kidolgozott módszerével. A n. tibialis profundus ingerlésével (10 V, u msec, 1 Hz, 0,5 percenként) váltjuk ki a m. tibialis anterior kontrakcióit

szerűen sok mellékhatással rendelkezik, hiszen az amfetamin típusú anorexiás szerek, minden katekolaminerg mechanizmust, a fenfluramin típusú fogyasztszerek pedig minden szerotonerg mechanizmust facilitálnak. Az anorexiás hatás szelektivitásának hiánya a vegyületek hatásmódjából elkerülhetetlenül következik.

A szatietin azonban éppen abban különbözik a terápiában használt anorektikumoktól, hogy szelektíven hat a táplálékfelvétel agyi szabályozására. Bármely konkrét transzmitter, vagy modulator anyaghoz kötődik is hatékonysága, ezt a rendszert nem általában befolyásolja, hanem csak a „táplálkozási központ”-nak a „táplálkozási aktív góc”-nak nevezett átkapcsoló helyeken. Szelektivitása miatt az endogén anorexiás anyag a ma használt fogyasztszerekhez képest gyakorlati szempontból is komoly haladást jelenthet.

A szatietin-kutatás perspektívája

Miután nem empiria, hanem a táplálkozási aktív góc élettani sajátosságainak vizsgálatából fakadó megfontolás vezetett a szatietin felfedezéséhez reményünk van arra, hogy a bonyolult táplálkozási magatartás szabályozásának középpontjában álló, a periféria és az agy közötti összeköttetés biztosításában meghatározó szerepet játszó láncszem vált a kutatás tárgyává.

A szatietinnek a periféria állapotváltozását szignalizáló, a táplálkozási aktív góc izgalmi állapotát meghatározó szerepe mellett szól, hogy

I) a gélkromatogramon azonos helyen megjelenő, szatietin-aktivitásúnak bizonyult anyag jelenlétét sikerült bizonyítani minden eddig vizsgált emlős állat (marha, ló, kutya, macska, nyúl, tengerimalac, patkány), szárnyas (liba), valamint az ember vérében;

II) jelentős mennyiségű aktív anyag volt kivonható minden, eddig kvantitatív analízis tárgyává tett szérumból (ember, marha, ló);

III) a szatietin, bármely szérumból állítottuk is elő, erős és nagyon tartós anorexiás hatást fejtett ki;

IV) a szatietin hatásának közvetlen agyi támadáspontja van.

A szatietin hatásmódjának finomabb analízise, az anyag iránt érzékeny agyi neuronok detektálása, azok lokalizációjának meghatározása, a szatietin konkrét hatása ezeknek a neuronoknak az aktivitására, stb., még előttünk áll. Az eddigi vizsgálatokból azonban a leglényegesebb sajátosság, az anorexiás hatás szelektivitása, egyértelmű bizonyítást nyert.

A szatietin nem befolyásolta patkányok feltétlen elhárító reflexes viselkedését, új, időleges kapcsolat építését, megszerzett időleges kapcsolat retencióját, az állatok szexuális aktivitását, hőszabályozását, vérnyomását, sőt még a vízfelvétel gátlását sem tudtuk kimutatni.

A szatietin hatásának szelektivitását bizonyítja továbbá az anyag teljes hatástalansága a periférián. Még nagy adagok sem mutattak hatást az izolált szíven, különböző érpreparátumokon, egér, patkány, ill. tengerimalac vas deferens készítményen, macska pislogóhártyán, tengerimalac bélen, ill. Auerbach plexus-longitudinális izom készítményen, stb.

A szatietin anorexiás hatásának ilyen mértékű szelektivitása alapján arra kell következtetnünk, hogy csak azok a neuronok rendelkeznek a szatietin felismerésére alkalmas receptorokkal, melyek a táplálékfelvétel szabályozásának szolgálatában állnak az agyban. Ezzel a megközelítéssel első ízben jutunk egy fontos funkciót irányító agyi „központ” konkrét definiálásának lehetőségéhez, mivel úgy fogalmazhatunk, hogy a „*táplálkozási központ*”, a „*táplálkozási aktív góc*” *szatietin-érzékeny neuronok összessége*.

Ha a szatietin példája alapján általánosítva a „központ”-ot ingerlékenységükben endogén anyaggal szelektíven szabályozott neuronok összességéként határozzuk meg, ez a definíció nyilvánvalóvá teszi, hogy ezeknek a neuronok-

nak nem kell szükségszerűen anatómiailag lokalizálható halmazattal elhelyezkednie, a „központ” az elemek akármilyen diffúz eloszlása esetén is teljesítheti funkcióját.

A további kutatások szempontjából lényeges, hogy ami a táplálkozási magatartásban szabályozva van, az a nyugalmi állapot, a „szatiétinnel telített központ” állapota; az az állapot, amikor az ember és az állat nem igényel táplálékfelvételt, „jóllakott”. Nyilván a gasztrointesztinális rendszer megfelelő mennyiségű és minőségű tápanyaggal történő telítése eredményezi, még később pontosan megismerendő mechanizmussal, hogy a szatiétinnek a „központ” számára érzékelhető, felismerhető formája, azaz a specifikus receptorral kapcsolódó „aktív” forma, olyan mennyiségben válik szabaddá a vérben, amely a „központ” szatiétin telítettségére vezet. Ezt az objektív történést az egyed, szubjektíve a „jóllakottság” érzéseként éli meg. A kellő mennyiségű és minőségű táplálék elfogyasztása, mely a szatiétin rendszer segítségével a további táplálékfelvételt megszünteti, egyszersmind beindítja az emésztési folyamatot, a felvett tápanyag értékesítését, elraktározását, eliminálását. Vagyis fokozatosan újra kiürül a gasztrointesztinális rendszer, változik a miljö enteriőr, mely a szabad szatiétin vérkoncentrációjának időarányos csökkenéséhez vezet. Ezáltal fokozatosan felszabadul a szatiétin hatása alól a „táplálkozási központ” és ezt az objektív állapotot „éhségként” éli meg az állat és az ember.

Ahhoz, hogy a munkahipotézis helyességét igazolhassuk, meg kell pontosan ismernünk a szatiétin-rendszert a vérben, a prekuzort, a végső aktív jelző molekulát, az aktiválódási mechanizmust és az enzimeket, melyek a folyamatban részt vesznek. A szatiétin-rendszer teljes megismerése viszont egy életfontosságú „pszichés hajtóerő” materiális bázisának teljes felderítésére szolgálathatja az első példát. Ebben rejlik, véleményem szerint, a szatiétin további kutatásának elsődleges értelme. Természetesen, olyan fontos élettani folyamat, mint a táplálékfelvétel, lényegi szabályozásának konkrét, anyagi megismerése, mind a folyamattal kapcsolatos anomáliák (anorexia, polifágia) megértése, mind azok tudatos és eredményes befolyásolása szempontjából új lehetőségeket nyithat az orvosi gyakorlat számára.

IRODALOM

- Alskog, E. és Hoebel, B. G.*: Science **182**, 166, (1973).
Anand, B. K. és Brobeck, J. R.: Yale Biol. Med. **24**, 123, (1951).
Barger, G. és Dale, H. H.: J. Physiol. Lond. **41**, 19, (1910).
Booth, D. A.: Nature, **217**, 869, (1968).
Brobeck, J. R.: Yale J. Biol. Med. **20**, 545, (1948).
Bulatao, E. és Carlsson, A. J.: Amer. J. Physiol. (London) **59**, 107, (1924).
Cannon, W. B. és Washburn, A. L.: Am. J. Physiol. **29**, 444, (1912).
Fonberg, E.: Acta neurobiol. Exp. **34**, 435, (1974).
Freed, W. J., Perlow, M. J. és Wyatt, R. C.: Science, **206**, 850, (1979).
Gibbs, J., Young, R. C. és Smith, G. P.: J. comp. physiol. Psychol. **84**, 488, (1973a).
Gibbs, J., Young, R. C. és Smith, G. P.: Nature, **245**, 323 (1973b).
Grossman, S. P.: Science, **132**, 301, (1960).
Grossman, S. P.: Int. J. Neuropharmacol. **3**, 45, (1964).

- Haller, A.: *Elementa Physiol.* **6**, 185, (1776).
- Harris, S. C., Ivy, A. C. és Searle, L. M.: *JAMA*, **134**, 1468, (1947).
- Hetherington, A. W. és Ranson, S. W.: *Anat. Rec.* **78**, 149, (1940).
- Issekutz, B. és Issekutz, B. jr.: *Naunyn-Schmiedeberg's Archiv. f. exp. Path. Pharmacol.* **199**, 306, (1942).
- Kennedy, G. C.: *Proc. roy. Soc. B.* **140**, 578, (1953).
- Knoll, Berta: *Orvostudomány*, **27**, 59, (1976).
- Knoll, J.: The theory of active reflexes. *Akadémiai Kiadó, Budapest*, p. 131. (1969).
- Knoll, J.: Psychotomimetic effects of amphetamines. In: *Amphetamines and related compounds*. (Ed.: E. Costa), Raven Press, New York, pp. 761—780, (1970).
- Knoll, J.: Modulation of learning and retention by amphetamines. In: *Pharmacology and the future of man. Proc 5th Int. Cong. Pharmacology, San Francisco, 1972*, Karger, Basel, pp. 55—68, (1973).
- Knoll, J.: *Neuroscience Letters, Suppl.* **1**, 55, (1978).
- Knoll, J.: A Korányi Sándor Társaság Tudományos ülései, XVI, 29, (1979a).
- Knoll, J.: *Physiol. Behav.* **23**, 497, (1979b).
- Knoll, J.: Highly selective peptide-chalones in human serum. In: *Modulation of neurochemical transmission*. (Ed.: E. S. Vizi) Pergamon Press, *Akadémiai Kiadó, Budapest*, pp. 97—125, (1980).
- Knoll, J.: *Kémiai Közlemények*, **50**, 57, (1978).
- Knoll, J. és Knoll, B.: *Arzneimittel-Forsch.* **3**, 330, (1958).
- Knoll, J. és Knoll, B.: *Arch. int. Pharmacodyn.* **148**, 200, (1964).
- Knoll, J. és Knoll, B.: *Int. J. Neurol.* **10**, 198, (1975).
- Knoll, J., Kelemen, K. és Knoll, B.: *Acta Physiol.* **9**, 99, (1956).
- Kruk, A. L. és Zarrindast, M. R.: *Br. J. Pharmacol.* **58**, 367, (1976).
- Leibowitz, S. F.: Brain catecholaminergic mechanisms for control of hunger. In: *Hunger: Basic mechanisms and clinical implications*. (Ed.: O. Novin). Raven Press, New York, pp. 1—32 (1976).
- Morgane, P. J.: *Am. J. Psychol.* **201**, 420, (1961).
- Nathanson, H. H.: *JAMA*, **108**, 528, (1937).
- Prinzmental, M. és Bloomberg, W.: *J. Am. med. Ass.* **105**, 2051, (1935).
- Reichelt, K. L., Foss, I., Trygated, O., Edminson, P. D., Johansen, J. H. és Boler, J. B.: *Neuroscience*, **3**, 1207, (1978).
- Smith, G. P. és Gibbs, J.: *Pharmac. Biochem. Behav.* **3**, Suppl. 1. 135, (1975).
- Stellar, E.: *Psychol. Rev.* **61**, 5, (1954).
- Ungerstedt, U.: *Acta Physiol. Scand. Suppl.* **367**, 95, (1971).
- Williams, R. H., Daughadey, W. H., Bogers, W. F., Asper, S. P. és Towery, D. T.: *Ann. Intern. Med.* **29**, 510, (1948).