

Egyetemi doktori értekezés (Ph.D.) tézisei

**Capsaicin és receptorai, neuropeptidok: szerepük hőszabályozási és
más energetikai folyamatokban.**

Dr. Garami András

Programvezetők: Prof. Dr. Szelényi Zoltán

Prof. Dr. Pintér Erika

Témavezető: Prof. Dr. Székely Miklós

Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar,

Kóréletani és Gerontológiai Intézet

Pécs, 2010.

1. Bevezetés

Az energetikai folyamatok és azok szabályozása többtényezős, komplex folyamat. Emlősökben az energetikai egyensúly döntően két szabályozási kör, illetve azok egymásra való folyamatos kölcsönhatása révén valósul meg. Egyik közülük a szervezet hosszútávú, míg a másik rövidtávú szükségleteit szolgálja, amelyek egymástól nem választhatók el és – mint arról a későbbiekben még szó lesz – szoros egységet alkotnak.

A hosszútávú szabályozás minden homeoterm állatban jelen van és a szervezet tápláltsági állapotával írható le, nevezetesen, a különböző energiaraktárakban tárolt metabolizálható szubsztrátok (úgy mint zsír, glikogén, fehérje) mennyiségével arányos. Az egyensúlyi állapot eredője tehát a csont- és vízmentes testsúly (energiatartalom), amely a táplálékfelvétel (energiabevitel) és az anyagcsere (energiafelhasználás) arányának felel meg. Pozitív irányú hosszútávú egyensúly-eltolódás (pl. megnövekedett táplálékbevitel csökkent anyagcserével) anabolikus állapotot jelent, a negatív irányú eltolódással, vagyis katabolikus állapottal szemben. Ezen a szabályozási körön belül megkülönböztetünk egyrészt visszatérő, epizódikus változásokat, amelyek az aktuális táplálkozási állapotból erednek és befolyásolják a táplálékfelvételt éhség-, illetve jóllakottságérzeten keresztül: az energiaforgalom ennek megfelelően aktuálisan csökken, illetve növekszik. Másrészt a tápláltsági állapotból eredő tartósabb hatásokat (pl. obezitás, kachexia) különböztetünk meg, amelyek meghatározzák az epizódikus változások szintjét, ugyanakkor éhség és jóllakottság a tápláltsági állapottól valamennyire független tényezőként is megjelenhetnek^{1,2}. Ennek megfelelően a táplálékfelvétel rövidtávú szabályozása (táplálkozási állapot) nem kizárólag a tápláltsági állapottól függ, hanem magától a táplálékfelvételi aktustól is, vagyis éhség és jóllakottság elhízottakban és kórosan soványokban egyaránt kialakulhat. A fentiekből az is nyilvánvaló, hogy az egyensúly anabolikus irányba való hosszútávú eltolódása (pl. túlzott táplálékfelvétel nem kellően fokozott anyagcserével) obezitáshoz, a katabolikus irány túlsúlya pedig (pl. kórosan emelkedett anyagcsere nem kielégítő táplálékfelvétellel) kachexiához vezet.

A rövidtávú szabályozás célja a kalorikus stabilitás fenntartása. Ez a rendszer a homeotermiás élőlények sajátossága, a hőmérsékletszabályozás két legfontosabb autonóm effektor tényezőjének, a hőleadásnak és az anyagcsérének az egyensúlyán alapul, rajtuk keresztül a testhőmérséklet fenntartásáért felelős. A fiziológiás maghőmérséklet (T_c) az előbbiekben említett egyensúly stabilitásának köszönhetően viszonylag szűk tartományon, néhány tized Celsius fokon belül ingadozik^{3,4}. Ennek megfelelően csökkent vagy emelkedett hőleadás (pl. hő-, ill. hideghatásra) az anyagcsere hasonló mértékű kompenzatórikus kisebbbédését vagy növekedését eredményezi. Ellenkezőleg, az anyagcsere elsődleges változásai a hőleadás megfelelő mértékű és irányú kompenzatórikus eltolódásához vezetnek a homeotermia és a rövidtávú energiaegyensúly fenntartása érdekében. Az egyensúly eltolódása hipotermiához, vagy hipertermiához vezet, ami olyan esetekben alakulhat ki, amikor a fokozott hővesztés vagy hőterhelés nem kompenzálható⁵. Az előbbi, passzív egyensúlyhiányokkal szemben, a hőszabályozási „set-point” értékének direkt megváltozása az egyensúly aktív, központi eltolódásában nyilvánul meg⁶. Az egyik ilyen esetben a testhőmérséklet emelkedik, amit láznak nevezünk és kialakulhat például endotoxin hatására patkányokban⁷; vagy a T_c csökken, vagyis anapirexia jelenik meg, például centrális serotonin hatására juhokban⁴. Mind a láz, mind pedig az anapirexia a hőszabályozási effektorok koordinált változásain keresztül valósul meg: lázban a megnövekedett hőtermelés és csökkent hőleadás, anapirexia esetén csökkent hőtermelés és fokozott hőleadás együttes kombinációján keresztül. Meg kell említeni azonban,

hogya a hőszabályozási set-point elméletet napjainkban megkérdőjelezzük⁸. Az új nézet elveti a set-point fogalmát, helyette az egyes termoeffektorok aktiválási küszöbének különbözőségét hangsúlyozza és ezzel a különbséggel magyarázza a hőszabályozási válaszokban fellelhető eltéréseket, amelyek megjelenhetnek koordinált vagy inkoordinált reakció formájában egyaránt^{8,9}.

A két energetikai szabályozási kör egymással – az anyagcserén keresztül – szoros kapcsolatban van. Egyrészt a táplálkozási vagy a tápláltsági állapot változásai befolyásolják a hőszabályozási egyensúlyt: példa erre az éhezés-indukálta hipometabolizmus és hipotermiára való hajlam^{10,11}, éppúgy mint a posztprandiális hipermetabolizmus és hipertermia, továbbá a diéta-indukálta termogenezis és a táplálkozás termikus hatása egyaránt^{12,13}. Másrészt a hőmérséklet-szabályozás direkt változásai is befolyásolják a táplálkozási állapot tényezőit, példaként említhető a hideg környezetben való fokozott táplálékfelvétel: ebben az esetben a túlzott hőleadást a homeotermia fenntartása érdekében fokozott anyagcsere kompenzálja, amelynek biztosításához emelkedett táplálékbevitel szükséges a viszonylag állandó testsúly megőrzéséhez¹⁴. Hideghatással ellentétesen, lázzal járó betegségekre anorexia jellemző¹⁵ – bár a lázas hypophagia nem a hőmérséklet függvénye.

A komplex energetikai szabályozási rendszer egyes tényezői szelektíven befolyásolhatók, ezzel az egyik szabályozási kör funkcionális változását eredményezve, ez azonban a másik szabályozási kör másodlagos eltéréseiben is megnyilvánul. Az egyes körök szabályozása gyakran egymást átfedi és a regulátor faktorok (pl. neurotranszmitterek, neurális tényezők) gyakran hasonlóak, vagy azonosak.

2. Célkitűzések, tervezett vizsgálatok

Jelen munkában a bevezetőben tárgyalt hőszabályozási jelenségek bizonyos specifikus – fiziológiai szempontból jelentős – részleteinek tanulmányozását tűztük ki célul állatkísérletes modellekben (patkányban és egérben). A bevezetőben bemutatott komplex energetikai szabályozási rendszer résztvevői közül, laboratóriumunk metodológiai profiljának megfelelően vizsgáltuk mind a hosszútávú szabályozási rendszer (testsúly, táplálékfelvétel, anyagcsere), mind pedig a rövidtávú szabályozási rendszer (testhőmérséklet, hőleadás, anyagcsere) tényezőit, illetve azok specifikus körülmények közötti változásait. A kísérletes tervek két, egymással szoros kapcsolatban lévő témakör köré csoportosultak.

Az egyik közülük a capsaicin (CAP)-szenzitív neurális afferensek és a tranziens receptor potenciál vanilloid (TRPV)-1 ioncsatorna komplex energetikai folyamatokban játszott szerepének jobb megértését célozta: tanulmányoztuk jelentőségüket különböző hőszabályozási és táplálkozási folyamatokban. Ezek alapján az energetikai folyamatok neurális, illetve TRPV1 csatornától függő afferens szaráról igyekeztünk képet alkotni, nevezetesen arról, hogy ezekben a folyamatokban a perifériáról a központi idegrendszerbe beérkező információ szállításában részt vesznek-e az előbbi tényezők, és ha igen, hogyan.

A másik témakör célja a perifériáról már beérkezett információ centrális feldolgozásának, a komplex energetikai szabályozási folyamatok egyik leglényegesebb központi idegrendszeri összetevőjének tanulmányozására irányult: a „pro-opiomelanocortin – melanocitastimuláló hormon (MSH) – melanocortin” rendszer jelentőségét vizsgáltuk patkányokban, endogén agonistája, az α -MSH hőszabályozási és anorexigén hatásain keresztül. Elemeztük a centrális α -MSH hatásait a különböző hőszabályozási effektorokra, továbbá spontán és éhezés-indukálta táplálékfelvételre. Arra kívántunk fényt deríteni, hogy a legfontosabb katabolikus szabályozási rendszer

milyen termoeffektorokon keresztül hozza létre hőszabályozási hatásait. Vizsgáltuk, hogy intraperitoneális (IP) CAP deszenzitizáció befolyásolja-e a centrálisan adott anabolikus és katabolikus peptidek (neuropeptide Y, NPY és α -MSH) hatásait.

3. Anyagok és módszerek

3.1. Kísérleti állatok, tartásuk

Kísérleteink nagy részében Wistar patkányokat használtunk. A patkányokat egyesével, kevés faforgáccsal bélelt műanyag ketrecekben tartottuk, ahol standard rágcsálótáp és csapvíz *ad libitum* rendelkezésükre állt, kivéve az éhezéssel kombinált kísérleteket. Az állat-szobákban a sötét-világos ciklusok 12 óránként váltották egymást, a világos ciklus reggel 6:00-kor kezdődött. A környezeti hőmérsékletet (T_a) 23-26°C között tartottuk. Rendszeres súlyméréssel és a kísérleti-ketrecekhez való alapos szoktatással az állatokat a kísérleti körülményekhez adaptáltuk. Egy-egy állaton alkalmanként több mérést is végeztünk (pl. éheztetés + újraetetés + α -MSH hatás hasonlítása), majd az utolsó vizsgálat után urethan túlaltatás történt, szükség szerint *post mortem* vizsgálattal. A kísérletek elvégzése során az alapvető állatkísérletes etikai normák betartásán túl, a Pécsi Tudományegyetem Állatkísérleti Etikai Bizottságának engedélyére és az országos ajánlásokra (BA 02/2000-13/2006) is támaszkodtunk.

A külföldön (Systemic Inflammation Laboratory, Trauma Research, St. Joseph's Hospital and Medical Center, Phoenix, Arizona, USA) levezetett kísérletekben használt hím Wistar patkányok és tengerimalacok tartása lényegesen nem különbözött az előbbieken leírtaktól, ezek a kísérletek a St. Joseph's Hospital Animal Care and Use Committee által jóváhagyott protokollok alatt kerültek elvégzésre.

Bizonyos kísérletekben C57BL/6 vad típusú és *Trpv1* génkiütött (knockout, KO) hím egereket használtunk. Az egereket egyesével, műanyag dobozokban tartottuk 26-28°C-on (termoneutrális), vagy 23-25°C-on (hűvös) T_a -n. A sötét-világos ciklusok megfeleltek az első bekezdésben leírtaknak. Az éhezési kísérletek kivételével standard rágcsálótáp és csapvíz *ad libitum* rendelkezésükre állt. A kísérleteket a Magyar Állatvédelmi Törvények betartásával, a Pécsi Tudományegyetem Állatetikai Bizottsága által jóváhagyott protokollok (BA 02/2000-13/2006) keretében hajtottuk végre.

3.2. Műtétek

A műtéteket ketamin + xylazol keverékkel (78 + 13 mg/kg, IP) indukált narkózisban végeztük. Fertőzések megelőzésére 2 mg gentamycint adtunk IP. A narkózis a műtét típusától [intravénás (IV) kanül implantáció, intracerebroventrikuláris (ICV) kanül implantáció, perivagális CAP kezelés, IP radiotransmitter implantáció] függetlenül azonos volt. Az implantált, lezárt-végű kanüloket a tarkótájéon vezettük ki. Műtét után általában minimum egy teljes hetet vártunk bármilyen következő beavatkozásig (ICV injekció, éheztetés, újabb műtét: pl. IP transmitter implantáció után ICV kanül beépítése, stb.), kivéve a lipopolysaccharida (LPS) adását, amit 3-4 nappal a műtét után végeztünk.

A külföldön végrehajtott műtéteknél a patkányok és tengerimalacok jobb vena jugularis-ába, a kísérlet előtt 5-7 nappal, ketamin + xylazine + acepromazine (55.6, 5.5, illetve 1.1 mg/kg, IP) narkózisban IV kanült implantáltunk. Fertőzések megelőzésére 1.1 mg/kg enrofloxacint adtunk IP. Ugyanezen műtét során, a tengerimalacok hasüregébe miniatűr adatgyűjtő műszert implantáltunk (Subcue Dataloggers, Calgary, Canada), T_c monitorizálás céljából.

3.3. Anyagcsere, hőleadás és maghőmérséklet mérése

Az anyagcsere patkányokban Kipp-Noyons diaferometer segítségével határoztuk meg az anyagcsere-kamrán átáramló levegőből folyamatosan vett minta gázanalízise alapján. Egyes kísérletekben – kísérleti körülmények tekintetében az előbbivel megegyező, ugyancsak indirekt calorimetria elvén alapuló – más anyagcsere meghatározásra alkalmas berendezéseket használtunk: Oxymax (Columbus Inc., Columbus, OH), Small Animal System (Sable Systems, Las Vegas, NV).

A T_c -t a colonba legalább 10 cm mélyen bevezetett, míg a hőleadási állapotot jellemző bőrhőmérsékletet (T_s) a farok bőréhez erősített réz-konstantán termoelemekkel mértük. A hőleadási állapot jelzésére egy, laboratóriumunk korábbi munkái során kidolgozott, és azóta számos más szerző által is átvett, indexszámítási módszert használtunk, amely index akár gyorsan változó T_a mellett is jól alkalmazható és újabban „heat loss index”-ként (HLI) használatos:

$$HLI = T_s - T_a / T_c - T_a$$

A formula alapján belátható, hogy a HLI értékei mindig 0-1 között ingadoznak, a nullához közeli HLI értékek csökkent, az egyhez közelítők fokozott hőleadási állapotra utalnak.

A termoelemekkel (esetenként kanül-toldalékokkal) felszerelt vagy IP miniatűr adatgyűjtővel implantált éber állatokat kísérleti-ketrecekbe helyeztük, amelyben megfordulni nem tudtak, de egyébként szabadon mozoghattak. Előzetes szoktatás eredményeként ez nem jelentett komoly stresszhelyzetet az állatoknak: tapasztalatunk szerint testhőmérsékletük alig tért el az azonos napszakban, és hasonló T_a -n szabadon mozgó állatok telemetriásan mért értékétől (legfeljebb néhány tized °C-kal volt magasabb). Anyagcsere-mérés esetén a kísérleti ketreccel együtt nyíltrendszerű anyagcsere-kamrába helyeztük őket, amelynek hőmérsékletét vízfürdő, vagy inkubátor szekrény segítségével tartottuk állandó szinten, illetve szükség szerint változtattuk. A kanüloket, termoelemeket a hermetikusan zárt (levegővel átáramoltatott) kamra szigetelhető nyílásán vezettük ki: a kanülon keresztül a mérések közben, az állat számára észrevétlenül, annak megzavarása nélkül juttatunk be anyagokat. Az ilyen mérésekkel nyert hőmérsékleti és anyagcsere adatokat folyamatosan regisztráltuk.

Más kísérletekben az állatok T_c -ét és általános lokomotoros aktivitását telemetriás módszerrel folyamatosan monitoroztuk. Ez a módszer nem tette lehetővé az anyagcsere és a T_s mérését, viszont szabadon mozgó állatokon hetekig lehetett megfigyeléseket végezni. A műtéileg IP implantált radiotelemetriás transmitter (ER-4000 modell VMFH, Minimitter, Sunriver, OR) jelei számára az állat műanyag doboza alatti fém lap szolgált antennaként, az adatokat komputeren tároltuk. Ez a módszer tette lehetővé a cirkadián hőmérsékleti változások analízisét is.

3.4. Lázkeltés módja, vénás anyagadás, kanülok

Lázkeltésre bakteriális LPS-t [*E. Coli* (Sigma-Aldrich)] használtunk, amit a vena jugularis-ba műtéileg preimplantált pp10 polietilén (Portex), vagy szilikon (Baxter) kanülon át adtunk, 10 µg/kg dózisban. A vénás kanült 3-4 nappal a kísérlet előtt implantáltuk. LPS adásakor az éber állatok zárt anyagcsere-kamrákban voltak, a pirogént a vénás kanül kivezetett toldalékán keresztül adtuk be 0,5 ml 0,9% NaCl-ben, az állat számára észrevétlenül (a kontroll állatok 0,5 ml pirogén-mentes 0,9% NaCl oldatot kaptak).

Hasonló vénás kanült használtunk a TRPV1 antagonistá AM517 (100 µg/kg) és capsazepine (CPZ; 65.5 µmol/kg), illetve vivőanyagaik bevitelére. Ezekben a kísérletekben az oldatokat az előzőekben leírtakhoz hasonló toldalékon keresztül, 2 percen át, 167 µl/min rátával infundáltuk.

3.5. Agykamrai injekció, ill. infúzió módszerei

A centrális α -MSH adás hatásait, az anyag ICV injektálását követően tanulmányoztuk. A narkotizált patkányok jobb laterális agykamrájába 22-gauge rozsdamentes vezetőkanült építettünk be $A = -1.0$ mm, $L = 1.5$ mm, $V = 3.8$ mm paraméterekkel. A vezetőkanülbe illeszthető belső 28-gauge injektáló tűn keresztül legfeljebb heti egyszeri gyakorisággal adtuk be az α -MSH-t (2, 5, vagy 10 μ g), NPY-t (2 μ g) vagy vivőanyagát 5 μ l térfogatú oldatban. Az injekciót pp10 kanül-toldalékon keresztül adtuk be, az állat megzavarása nélkül.

3.6. Abdominális, perivagális deszenzitizáció (CAP előkezelések)

Lokális, hasüregre korlátozódó deszenzitizáció elérésére IP CAP (Sigma-Aldrich) előkezelést használtunk. A CAP-t (96% alkoholban oldva, majd hígítás után 10% alkohol, 10% Tween-80 és 0,9% NaCl különböző CAP koncentrációt tartalmazó oldatát) frakcionáltan, kis dózisban (2 + 3 mg/kg, azaz 5 mg/kg összdózis) injektáltuk a hasüregbe, reggel 9:00, illetve délután 3:00 órákor. Ez csak és kizárólag az abdominális afferenseket károsította^{16,17}, és a hatás néhány (2-3) hétig tartott megbízhatóan, de kb. a 6. hét után fokozatosan megszűnt. Főként a kemo- és mechanoszenzitív elemek károsodása lehetett fontos, mivel az abdominális hőérzékeny idegvégződések fiziológias jelentősége kicsi és károsodásuk feltehetően nem jár élettani következményekkel – az ilyen kezelésnek nem voltak szisztémás hatásai.

Perineurális CAP deszenzitizáció esetén, 3-4 cm-es középvonali laparotómias feltárásból, közvetlenül a rekesz alatt egy 3-4 mm széles vattacsíkot fűztünk az oesophagus elülső és hátsó felszínén futó vagus-törzs köré. A vattát egy vékony, puha polietilén lemezzel választottuk el a környező szövetektől, majd friss, 1%-os CAP oldattal itattuk át. Húsz perc után óvatosan távolítottuk el a vattacsíkot, hogy a környezetet CAP-nel ne szennyezzük, ügyelve arra, hogy ne okozunk mechanikus vagus sérülést. A műtéti területet 0,9% NaCl oldattal alaposan átöblítettük, majd ezt felitattuk, a lemezt is eltávolítottuk és a sebet rétegesen zártuk. A kontroll állatokat CAP nélküli vivőanyaggal kezeltük.

3.7. Éheztetés és újratáplálás, a táplálékfelvétel és a testsúly mérése

Éheztetés során a táplálékot (de nem a vizet) reggel 9:00 órákor elvettük a patkányoktól, de továbbra is a ketrecükben tartottuk őket. A táplálékot 120 vagy 48 órára (esetenként csak 24 órára) vontuk meg és mértük súlyvesztésüket. Egyes állatcsoportokban anyagcsere-kamrában vizsgáltuk az éheztetett patkányok anyagcsere állapotát (nyugalmi anyagcsere és T_c) az éhezés különféle fázisaiban. Más csoportokban csupán az éhezés-okozta napi testsúlyvesztést vizsgáltuk. A táplálék visszaadását követően az állatok szabadon mozogtak ketrecükben és 3 órán át 30 percenként mértük testsúlyuk növekedését, ami (eltekintve az egyidejű vízfelvételtől, vizelettel és széklettel történő veszteségtől) megközelítően utalt a táplálékfelvétel dinamikájára. Mértük a 3 óra alatt fogyasztott táp mennyiségét is, valamint esetenként a következő 21 óra táplálékfelvételét és testsúlyváltozásait (a 24 órás érték kiszámításához).

Más kísérletekben az állatokat standard rágcsálótáp helyett portáphoz szoktattuk, a táplálékfelvétel mérésénél a kumulatív portáp-fogyasztást Feed-Scale mérleggel (Columbus Inc., Columbus, OH) folyamatosan 3, illetve további 21 órán keresztül meghatározott időintervallumonként komputeren regisztráltuk. A spontán táplálékfelvétel meghatározásakor a mérés este 18:00 órákor, az aktív, sötét ciklus kezdetekor indult, míg az éheztetés-indukálta újraetetési táplálékfelvételi kísérleteket reggel 9:00 órákor indítottuk.

Egerekkel végzett kísérleteinkben, a táplálékmegvonás legalább egy héttel az IP radiotransmitter implantációt követően, reggel 9:00 órakor kezdődött, és hűvös T_a esetén 48, termoneutrális T_a esetén 72 órán keresztül tartott. A hosszabb (72 órás) éheztetés lehetővé tette az állatok energetikai változásainak hosszabb idejű megfigyelését anélkül, hogy a testsúlyvesztés mértékét jelentősen súlyosbította volna.

3.8. Statisztikai próbák

A statisztikai értékelés ANOVA repeated measures, one-way ANOVA és megfelelő *post hoc* analízis, illetve Student t-teszt segítségével történt, az adott kísérlet mintájától függően. Az eredmények mindenhol, mint átlag \pm S.E.M. vannak feltüntetve.

4. Eredmények

4.1. CAP-szenzitív abdominális vagális afferens rostok szerepe endotoxin által kiváltott polifázisos lázban

Vehikulum IV injektálásának nem volt hatása sem a perineurálisan, vagy IP CAP előkezelt, sem pedig az áloperált, vagy IP vivőanyaggal előkezelt kontroll állatok testhőmérsékletére. Az áloperált patkányokban a LPS hatására kialakuló lázgörbe hasonló volt a tipikus trifázisos lázhoz, amely a kontroll (IP vivőanyaggal előkezelt) állatokban is létrejött: a T_c emelkedése kb. 35 perccel a LPS injektálását követően kezdődött és később a jellegzetes 3 fázisú lázgörbe lefutásának megfelelően alakult. Perineurálisan CAP előkezelt patkányokban a láz lefutása különbözött az áloperált állatok esetében találtaktól, a harmadik fázis ugyanis attenuáltnak tűnt (habár ez statisztikailag nem mutatkozott szignifikánsnak). Mindazonáltal, a láz kialakulásának kezdetét a perineurális CAP deszenzitizáció nem befolyásolta. Ez pedig különbség az IP CAP előkezelt állatokkal szemben, amelyekben főként a lázgörbe első fázisában figyeltünk meg a T_c emelkedésének késését és csökkent kifejeződését, míg a további lázfázisok lefutása változatlan volt.

4.2. CAP-szenzitív abdominális afferensek szerepe táplálékfelvétel és éhezés alatti energetikai folyamatokban

Az IP deszenzitizált állapot *per se* nem okozott sem tartós emelkedést, sem tartós csökkenést a napi táplálékfelvételben, nem befolyásolta a súlygyarapodás mértékét sem: az IP CAP előkezelt állatok napi táplálékfelvétele és napi súlygyarapodása hasonló volt a kontrollokéhoz. Az állatok egy részénél a súlygyarapodás kismértékű növekedése megfigyelhető volt 1-2 napig a CAP kezelést követően.

A táplálék 48 órás megvonása esetén a testsúlycsökkenés $7,3 \pm 0,6\%$ -nak adódott kontroll, míg $9,0 \pm 0,3\%$ -nak CAP deszenzitizált patkányok esetében; 120 órás éheztetés során ezek az értékek $15,8 \pm 1,0\%$, illetve $18,9 \pm 0,4\%$ voltak. A deszenzitizált állatok tehát szignifikánsan ($p < 0,05$, t-teszt), körülbelül 20%-kal több súlyt vesztek a kontrolloknál. Mindkét csoport a súlyvesztés kissé több mint felét visszanyerte az újraetetés első napján; a deszenzitizált állatok többet nyertek vissza elvesztett súlyukból.

Más állatcsoportokon a nappali nyugalmi T_c és anyagcsere értékeket vizsgáltuk kontroll és deszenzitizált patkányokban a 48 vagy 120 órás éheztetés előtt és azoknak végén, továbbá 1 nappal a 120 órás éheztetés után. Mind az anyagcserében, mind pedig a T_c -ben szignifikáns csökkenés volt megfigyelhető az éhezési időszak késői periódusában. Újraetetés során az anyagcsere és a T_c is órákon belül normalizálódott, jóval a súlyvesztés visszanyerése előtt, a két csoport között itt sem találtunk szignifikáns különbséget.

Két további állatcsoport anyagcsere vagy testhőmérséklet változásait 10 napon keresztül folyamatosan (éjjel-nappal) regisztráltuk, melyben benne foglaltatott 120 órás éheztetés. Annak érdekében, hogy az éheztetés-indukálta hipometabolizmust eredményesebben vizsgálhassuk, ez utóbbi kísérletekben az anyagcsere méréseket szubneutrális (20°C) T_a -n végeztük. A fentiekben ismertetteknek megfelelően, éhezés hatására mind a nappali, mind pedig az éjszakai nyugalmi anyagcsere csökkenését figyeltük meg a kontroll és IP CAP deszenzitizált patkányokban egyaránt. Ezen körülmények között azonban, az éheztetés 5. napjára, kimutatható volt a nyugalmi anyagcsere éhezés-indukálta szignifikánsan kifejezettebb csökkenése kontrollokban az IP CAP deszenzitizáltakhoz képest. A respirációs hányados (éjszakai: $0,97 \pm 0,01$, nappali: $0,91 \pm 0,02$) minden állatban csökkent az éhezés során ($0,71 \pm 0,02$), ami a zsírégetés dominanciájára utalt. A kontroll és deszenzitizált állatok respirációs hányados értékei között szignifikáns különbség nem mutatkozott.

Más szabadon mozgó állatcsoportokban éhezés hatására a testhőmérséklet fokozatos csökkenése következett be kontrollokban, amely előbb a nappali, majd az éjszakai T_c értékek csökkenésében nyilvánult meg. Az IP CAP deszenzitizált állatok esetében a nappali csökkenés minimális és fluktuáló volt, míg az éjszakai T_c normális maradt egészen az éhezés utolsó napjáig. Ezen szubneutrális körülmények között az éhezés késői fázisában (4-5. nap) mind az éjszakai maximum, mind pedig a nappali minimum T_c értékek szignifikánsan alacsonyabbak voltak kontrollokban, mint IP CAP deszenzitizáltakban.

Az újraetetés első 3 órája alatt, 48 órás éheztetés után, az IP deszenzitizált patkányok szignifikánsan ($p < 0,05$, t-teszt) többet ettek ($6,2 \pm 0,6$ g) a kontrolloknál ($4,4 \pm 0,3$ g), míg a rákövetkező 21 órában a deszenzitizált állatok táplálékfelvétele volt a kisebb, mintha egyfajta kompenzáló mechanizmus fejlődött volna ki a korábbi „túlevésnek” eredményeként. Hasonló eredményeket találtunk a 120 órás éhezés esetében is. Meglepő, hogy a 21 órás kisebb mértékű táplálékfelvétel ellenére is, a deszenzitizált patkányok súlygyarapodása szignifikánsan meghaladta a kontrollokéét, amiért feltehetően a fogyasztott táplálék és víz lassabb bélrendszeri transzportja tehető felelőssé. A korai 3 órás időszakkal ellentétben, ebben a periódusban a táplálékfelvétel és a testsúly változásai nem futottak párhuzamosan a két csoportban.

Újraetetés során, a hosszabb ideig éheztetett és jobban lefogyott állatok nem ettek gyorsabban, vagy többet, mint azok, amelyek rövidebb ideig éheztek. A hosszabban éheztetett állatok frakcionális súlygyarapodása (akár g-ban, akár a kiindulási testsúly %-os értékében kifejezve) nem volt nagyobb, a rövidebb ideig éhezőknél és a 3 órás kumulatív súlynövekedés is hasonló volt. Mindazonáltal, hosszú- és rövidtávú éhezés esetén egyaránt, a CAP deszenzitizált állatok testsúlya gyorsabban növekedett a kontrollokéhoz képest, mutatván, hogy rögtön az újraetetés kezdetétől a deszenzitizált patkányok többet ettek, mint a kontrollok. Mégis, a jóllakottság érzete kialakult (az evés abbamaradt), mielőtt a teljes súlyvesztés normalizálódott volna, vagyis a jóllakottság inkább az elfogyasztott táplálék mennyiségétől (és a következményes gyomor feszüléstől) függött, mintsem a visszanyert testsúly mértékétől.

A testsúly visszanyerésének, 48 órás éheztetést követő 3 órás újraetetés alatti frakcionális analízise során azt találtuk, hogy az legkifejezettebb az első 30 percben mind a deszenzitizált, mind pedig a kontroll állatok esetében. A két csoport között ebben a periódusban szignifikáns különbség mutatható ki: a deszenzitizált patkányok többet ettek. Az ezután következő súlygyarapodások jóval kisebb mértékűek voltak, a két csoport közötti szignifikáns különbség nélkül. Annak ellenére, hogy a kezdeti különbség a 3 órás periódus végéig megmaradt, a kumulatív súlygyarapodás a deszenzitizált ($6,0 \pm 0,8\%$) és kontroll állatok ($5,0 \pm 0,5\%$) között nem mutatott

szignifikáns különbséget, habár a 3 órás kumulatív táplálékfelvételi értékek különböztek. A hosszabban tartó éheztetés esetén hasonló mintázatot találtunk, kivéve, hogy a táplálékfelvétel újraetetés alatti, korai növekedése kisebb mértékű volt, ugyanakkor tovább tartott mindkét állatcsoportnál. A hosszabban éheztetett állatoknál a deszenzitizált és kontroll patkányok súlygyarapodása közötti különbség nemcsak az első, hanem a második 30 percben is szignifikáns volt, a kumulatív testsúly növekedés ebben az esetben ugyancsak szignifikánsan ($p < 0,05$, t-teszt) nagyobb volt a deszenzitizált állatokban ($6,3 \pm 0,5\%$), mint a kontrollokban ($4,3 \pm 0,5\%$). Nyilvánvalóan, a deszenzitizáció az első étkezés mértékének, mintsem az éhezés utáni össz-táplálékfogyasztásnak, vagy táplálkozási időtartamnak, a fokozódásában nyilvánulhat meg.

4.3. A TRPV1 ioncsatorna szerepe éhezésben

Általánosságban azt találtuk, hogy hidegben, 48 órás és termoneutrális T_a -n, 72 órás éhezés során egerekben a T_c -ben bekövetkezett változásokra a nappali minimum értékek progresszív csökkenése volt jellemző, az éjszakai maximum értékek éhezés előtti szinten való megtartottsága mellett. A lokomotoros aktivitás változásai a T_c -vel párhuzamosan alakultak mind nappal, mind éjszaka.

A *Trpv1* KO egerekhez képest a vad típusú egerek nappali hipotermiája a 48 órás éheztetés során sokkal kifejezettebb volt, továbbá, az éhezés 72 órára való hosszabbításával tovább progrediált. A *Trpv1* KO egerekben a lokomotoros aktivitás második csúcserőke – az éhezés második napján – szignifikánsan magasabbnak bizonyult az első csúchoz viszonyítva ($p < 0,05$, HSD-teszt). Esetükben ez az aktivitásbeli fokozódás feltehetően hozzájárult ahhoz, hogy normál T_c -üket még az éhezés harmadik napján is fenn tudták tartani. Az éjszakai aktivitás a vad típusú egerekben is fokozódott táplálékmegevonás hatására, de az éhezés második, illetve harmadik napján nem mutatott további emelkedést.

A két genotípus lokomotoros aktivitási értékeinek elemzésekor arra is fény derült, hogy míg a *Trpv1* KO egerekben az éjszakai T_c és aktivitás-fokozódás kezdete időben egybeesett és nem sokkal a sötét ciklus előtt bekövetkezett, addig a vad típusú egerekben az éjszakai T_c és aktivitás-emelkedés időben fokozatosan előrébb tolódott és már jóval a sötét ciklus előtt bekövetkezett. A napi ciklusok átlagos időtartama éheztetés előtt, illetve alatt 24-25, illetve 24 órának adódott *Trpv1* KO esetén, vad típusúakban ezek az értékek 23-25, illetve 17 órának feleltek meg.

Újraetetés során az egerek T_c -e azonnal emelkedni kezdett és visszatért normál értékéhez a korábbi napon regisztrált aktuális T_c értékétől függetlenül. Ez az emelkedés genotípustól függetlenül rendkívül gyorsan bekövetkezett, az egerek 30-50 perc alatt normotermiássá váltak. A T_c újraetetés alatti éles emelkedését egyik egércsoportban sem követte az aktivitás fokozódása, utalván arra, hogy a T_c gyorsan kialakuló rendeződésének hátterében jelentősen felfokozott hőtermelés állhat.

4.4. A TRPV1 ioncsatorna szerepe a normális testhőmérséklet fenntartásában

Termoneutrális környezetben ($T_a = 26$ °C), 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ AMG517 (szelektív TRPV1 antagonist) IV infúziója a T_c szignifikáns emelkedését okozta patkányokban, míg a vívőanyag infundálása a T_c -re nem volt hatással.

A termoneutrális T_a -nak köszönhetően a mozgásukban részlegesen korlátozott állatoknak mindkét autonóm termoeffektoruk (hőleadás, anyagcsere) igénybevételére lehetőségük volt, biztosítva számunkra a hipertermia mechanizmusának tanulmányozását. Azt találtuk, hogy AMG517 hatására a T_c emelkedésével egyidőben a

hőleadás csökkenése és az anyagcsere fokozódása egyaránt létrejött. Ugyanakkor a vivőanyag egyik termoeffektorra sem volt hatással.

4.5. A proton aktiváció gátlásának szerepe a TRPV1 antagonisták indukálta hipertermia kialakulásában

Tengerimalacokban, 65,5 $\mu\text{mol/kg}$ CPZ IV infúziója a T_c szignifikáns emelkedését okozta: $0,5 \pm 0,1^\circ\text{C}$, $p < 0,005$. Amikor azonban ugyanezt a dózisú CPZ-t (65,5 $\mu\text{mol/kg}$), szintén IV, patkányoknak infundáltuk nem regisztráltunk változást sem a T_c -ükben, sem pedig a HLI-ükben. Utóbbi azért jelentős, mert a bőrerek konstriktója az első hideg-elleni autonóm védekezési mechanizmus, ezért a legérzékenyebb paramétere a TRPV1 antagonisták által indukált hipertermiás reakciónak.

4.6. Centrálisan adott α -MSH koordinált energetikai hatásai

A spontán táplálékfelvétel, 3 hónapos patkányokban, szignifikáns csökkenést mutatott α -MSH centrális injektálását követően az aktív, sötét ciklus első 4 órájában. A kezelt állatok a következő 24 órán belül sem zárkóztak fel táplálékfelvételükben a kontollokhoz. A 2 és 5 μg -os dózis egyformán effektív volt, 10 μg α -MSH esetén a szuppresszió valamelyest kifejezettebbnek bizonyult.

Éheztes-indukálta újretetés vizsgálatához az 5 μg -os dózist használtuk. Azt találtuk, hogy 24 órás éhezés utáni újretetés során a centrálisan α -MSH kezelt állatok táplálékfelvétele szignifikánsan elmaradt a vivőanyaggal kezeltékétől.

A koordinált katabolikus hatás fennállásának tisztázására, a centrális α -MSH-indukálta testhőmérsékleti változásokat is regisztráltuk és azok időbeli lefolyásának dinamikáját az előbbieken találtakhoz hasonlítottuk. Azt találtuk, hogy 5 μg α -MSH ICV adása termoneutrális zóna alsó határán, vagy alatta ($T_a = 25^\circ\text{C}$, vagy alacsonyabb) a testhőmérséklet azonnali emelkedését okozza. Más kísérletekben, de hasonló időskálán ezzel egyidejűleg, 24 órás éheztesítést követő újretetés alatti frakcionált táplálékfelvétel az anyag azonos dózisának hatására szignifikánsan elmarad a kontrollokétól.

4.7. CAP-szenzitív abdominális afferensek szerepe a centrálisan adott NPY és α -MSH hatására kialakuló táplálékfelvételi változásokban

NPY 2 μg -jának ICV adása a táplálékfelvétel indukálásához vezetett az egyébként jóllakott állatokban. Ellentétben azonban az éhezés-indukálta hiperfágiával és testsúlyvisszanyeréssel, sem a NPY hatására bekövetkező táplálékfelvétel fokozódás, sem az általa indukált kumulatív/frakcionális testsúlygyarapodás nem volt szignifikánsan nagyobb deszenzitizált patkányokban a kontrollokhoz képest. További érdekes eredmény, hogy a nappali 3 órás „túlevési” periódust kompenzatorikus (az ICV vivőanyaggal kezelt patkányokhoz képest) csökkent táplálékfelvétel követte a rákövetkező 21 órában, de a deszenzitizált és nem deszenzitizált csoportok között nem volt kimutatható különbség. A NPY korai hatásai kvalitatíve hasonlóak voltak a 48 órás éhezés során találtakhoz, az elfogyasztott táp abszolút mennyisége azonban lényegesen kisebb volt. A hipofágiának köszönhetően a 24 óra alatt bekövetkező testsúlyváltozások különböztek: az éheztesített patkányokkal szemben a NPY-val kezelt állatok testsúlya inkább csökkent.

A korábban találtaknak megfelelően ICV α -MSH az éhezés-indukálta táplálékfelvétel redukcióját okozta az újretetés során mind a deszenzitizált, mind a kontroll állatokban. Az anorexigén hatás mértékében nem mutatkozott szignifikáns különbség a deszenzitizált és kontroll csoportok között.

5. Megbeszélés

5.1. CAP-szenzitív abdominális vagális afferensek és láz

A 4.1. bekezdésben ismertetett adatok alapján levonható a következtetés: az IP és perivagális CAP deszenzitizáció LPS-indukálta lázat befolyásoló hatása különböző, amennyiben utóbbi a polifázisos lázgörbe első fázisát nem attenuálja. Ez a különbözőség egyértelműen bizonyítja, hogy a korai LPS-re adott lázválasz kialakulásában a CAP-szenzitív vagális afferens rostok nem játszanak szerepet, továbbá, hogy az IP CAP nem a nervus vagus-on keresztül fejt ki lázmódosító hatását. Laboratóriumunk korábbi eredménye, miszerint mind IP, mind perivagális CAP deszenzitizáció befolyásolja a posztprandiális hipertermia lefolyását alátámasztja ugyan, hogy a vagális afferens rostok valóban részt vesznek a hasüregben végbemenő folyamatokkal kapcsolatos hőszabályozási válaszok szabályozásában, mégis a bakteriális endotoxin másféle, a vagális afferenseket nem érintő utakon keresztül alakítja ki hatását, például a májon keresztül^{18,19}.

Következtetésül levonhatjuk tehát, hogy míg a különböző, láztól független hőszabályozási és energetikai szabályozási folyamatokban fontos szerepet betöltő szubsztrátok, faktorok (nutriensek, gasztrointesztinális hormonok, ozmotikus hatások, feszülés, stb.) által keltett kemonociceptív és mechanikus információ szállításában a nervus vagus fontos szerepet tölt be, és ezek a láztól független változások a táplálkozási állapothoz (pl. éhezés) és más, a gasztrointesztinális rendszert befolyásoló hatásokhoz történő metabolikus/termális adaptációban alapvetőek, addig lázban az afferens vagális rostok szerepe alárendelt jelentőségű.

5.2. CAP-szenzitív abdominális vagális afferensek: táplálékfelvétel és éhezés

Az IP CAP deszenzitizált és kontroll állatok éheztetés utáni újraetetésekor talált különbség – a CAP előkezelt állatok kifejezettebb hiperfágiája és súlygyarapodása – alapján levonható a következtetés: az abdominális afferensek kizárólagos, lokalizált károsodása a jóllakottságérzet gyengülését eredményezi. Tekintvén, hogy ez a típusú deszenzitizáció a fiziológiás hőszabályozást nem károsítja^{16,17}, a hatás nem magyarázható hőmérsékleti abnormalitásokkal. Az az eredmény, hogy a jóllakottságérzet később a CAP előkezelt állatokban is létrejött, arra utal, hogy az abdominális – feltehetően vagális – afferensek által szállított (a gasztrointesztinális/hepatikus rendszerből származó feszülési-, vagy kemoreceptorokat ingerlő) jelek sokkal inkább az egyszeri táplálékfelvétel mértékét (meal size), mintsem annak időtartamát, vagy a tápfogyasztás egészét befolyásolják és a CAP-szenzitív folyamatok nem kizárólagosak.

Az abdominális afferensek CAP-indukálta károsodása, *per se*, nem okozott éhségérzetet és nem is gátolta azt, de attenuálta a jóllakottságérzetet. A deszenzitizált és kontroll állatok spontán testsúlygörbéjének összehasonlítása azt sugallja, hogy az ezeken a rostokon szállítódó jóllakottsági szignáloknak legfeljebb mérsékelt és átmeneti befolyása lehet a táplálékfelvétel szabályozására. Feltételezhető, hogy spontán táplálékfelvétel esetén a „meal size” mindvégig fokozott volt és a túlzott táplálékbeviteli epizódokat a CAP előkezelt patkányok csökkent táplálékfelvételi frekvenciája kompenzálta, ezt azonban a jelen kísérletsorozatban nem állt módunkban regisztrálni.

Az IP CAP deszenzitizált állatokban az újraetetés első 3 órájában megfigyelt hiperfágiát, a rákövetkező 21 órában relatív, kompenzatórikus hipofágia követte. Ez feltehetően a szokatlan mértékű és idejű gyomorfenésülés által kiváltott erős és tartós jóllakottsági szignálok jelenlétével magyarázható²⁰.

Azt az érdekes eredményt találtuk, hogy a hosszabb idejű táplálékmevönást követően az újraetetés első periódusaiban a táplálékfelvétel mértéke nem haladta meg a rövidebb éheztes után regisztráltakat. Ez pedig meglepő, mert laboratóriumunk korábbi munkái alapján ismert, hogy nagy dózisú NPY vagy orexin ICV adásának hatására az itt találtaknál sokkal nagyobb mértékű frakcionált és kumulatív súlygyarapodás is kiváltható^{21,22}. A „meal size” tehát nem mechanikusan limitált, hanem éhezési és jóllakottsági szignálok alapján szabályozott. A közölt eredmények bizonyítják, hogy a hosszabb táplálékmevönás nem okoz fokozottabb éhségérzetet, annál, ami már az éheztes első 48 órájában kialakul.

Az éhezési szignálok (és nem egyszerűen a jóllakottsági szignálok hiánya) nemcsak az éheztes követő táplálékfelvételhez, hanem az éheztes alatti energiaforgalom szuppressziójához is (mintegy inverz posztprandiális hipermetabolizmus) és a T_c csökkenéséhez is hozzájárulhatnak^{10,11}. Az IP CAP által okozott vagális károsodás eredményeként feltehetően kialakulhat az energiaforgalom éhezteshez való adaptálódásának zavara és a normális hipometabolizmus elégtelensége. Táplálékmevönás során, a nyugalmi anyagcsere jellegzetesen az éheztes második fázisban kezd csökkenni²³, vagyis relatíve későn – ennek a folyamatnak a szuppressziója magyarázhatja a deszenzitizált patkányok éheztes alatt kialakuló fokozatosan felerősödő súlyvesztését.

Az éhező patkányokban a következetesen kialakuló hipometabolizmus és hiperfágiára való hajlam az energiaegyensúly anabolikus irányba való eltolódásának felel meg. Az IP CAP deszenzitizált állatokban, a kontrollokhoz hasonlóan, a táplálék megvonása ezen anabolikus energiaegyensúlyi mintázat létrejöttében nyilvánult meg, az újraetelési hiperfágia valóban kifejezettebb volt. Hipotermia is kialakult, az indirekt kalorimetria módszerével a hipometabolizmus is kimutatható volt. Szabadon mozgó állatokban 24 órás folyamatos regisztráció szubneutrális T_a -n sikeresen regisztrálni tudtuk az IP CAP deszenzitizált állatok kontrollokhoz képest szignifikánsan csökkent mértékű nyugalmi hipometabolizmusát és hipotermiáját az éheztes késői fázisában. A defektív hipometabolizmus (avagy rendellenes relatív hipermetabolizmus) pedig lehetővé teszi egy relatíve magas T_c kialakulását, továbbá hozzájárulhat az IP CAP deszenzitizált állatokban talált fokozottabb testsúlyvesztéshez is éheztes során.

Összefoglalva, előbbieik alapján azt a következtetést vonhatjuk le, hogy az IP CAP deszenzitizált állatok éheztes alatti súlyvesztése fokozottabb, utalva bizonyos, vagális afferenseken át szállítódó éhezési szignálok szerepére (amelyek normál esetben hipometabolizmus kialakulásához vezetnének). Ugyanakkor, újraetetés során a deszenzitizált állatok többet ettek és súlyvesztésük nagyobb arányát nyerték vissza, ami bizonyos vagálisan szállítódó jóllakottsági szignálok károsodott funkciójára utal (amelyek normál esetben negatív feedback mechanizmusokat aktiválnának). Utóbbi szignálok csak rövidtávon érvényesítik hatásukat és sokkal inkább a „meal size”-t, mintsem az össz-táplálékfelvételt befolyásolják; hosszútávon a deszenzitizált és kontroll állatok táplálékfelvétele és súlygyarapodása hasonló.

5.3. A *TRPV1* ioncsatorna és éheztes

A *Trpv1* KO és a vad típusú egerek éheztesre adott válaszreakcióinak különbözősége két részre bontható: egyrészt, a táplálék megvonásának hatására kialakuló T_c csökkenés vad típusú egerekben szignifikánsan nagyobb mértékű volt, másrészt ezekben az egerekben éheztes alatt a cirkadián T_c és aktivitás emelkedések kialakulása a sötét ciklus kezdetéhez képest időben egyre előrébb tolódott. Ez utóbbi időbeli eltolódás lehetséges magyarázata a cirkadián pacemaker újraindítása – a normál esetben táplálékfelvételhez kapcsolt – aktivitásbeli anticipáció által. Tekintvén, hogy

jelen tanulmányban a jelenség folyamatosan fenntartott 12-12 órás sötét-világos ciklus fennállása mellett következett be, feltételezhető, hogy az éhezés során gyorsan kifejlődő energetikai elégtelenség a táplálékfelvételi szükséglet erős siettetéséhez vezetett, ezzel a fő pacemaker stimulusainak hatását az éjszaka során jelenlévőknek maszkírozva. A *Trpv1* KO egerek éheztetés során megfigyelt csökkent mértékű hipotermiája megfelel az IP CAP deszenzitizált (azaz hasüregre lokalizálódó TRPV1 ioncsatorna funkcióhiányos) patkányok éheztetése során talált károsodott energetikai adaptációs készségnek. A T_c -nek az inaktív periódusban bekövetkező jellegzetes csökkenése kifejezettebb volt vad típusú egerekben, mint *Trpv1* KO társaikban. Ez arra utal, hogy a TRPV1 ioncsatorna befolyásolja az éhezéshez való energetikai adaptációt – a csatorna jelenlétének hiányában a hipometabolikus periódusok attenuáltak.

Az éheztetés hatására indukált – mindkét genotípusú egércsoportban kialakuló, de különböző mértékű – nappali hipotermia létrejötté alapján általánosságban elmondhatjuk: a 4.3. bekezdésben ismertetett eredményeink megerősítik egyrészt – a táplálék megvonására kialakuló energetikai változások tekintetében – más szerzők által korábban leírtakat, másrészt – a TRPV1 ioncsatorna éhezésben betöltött funkciójának tekintetében – az IP CAP deszenzitizált állatok éheztetése során találtakat.

5.4. A TRPV1 ioncsatorna és normális hőszabályozás

Az AMG517 hatására bekövetkező hipertermia tanulmányozása során azt találtuk, hogy a T_c emelkedésének létrejöttében mindkét hideg-elleni védekezésben szerepet játszó autonóm termoeffektor (hőleadás, anyagcsere) megváltozása részt vesz. Koordinált hőszabályozási reakciónak megfelelően, termoneutrális T_a -n, a hipertermia a hőleadás csökkenésének és az anyagcsere egyidejű fokozódásának eredményeként jön létre. Előbbiek valószínűtlenné teszik az egyes effektorokra irányuló specifikus hatást, helyette a testhőmérséklet szabályozás afferens vagy centrális részének érintettségét támasztják alá. Az antagonista hatására bekövetkező változás azt jelenti, hogy az anyag feltehetően egy tónusosan aktív állapotban lévő szabályozási rendszer működésének gátlása alapján fejtette ki – jelen esetben T_c emelkedést kiváltó – hatását^{17,24}.

Eredményeinkből azt a következtetést vonhatjuk le, hogy a TRPV1 ioncsatorna *in vivo* tónusosan aktív állapotban van. Ez a tónusos aktiváltsági állapot folyamatos gátlás alatt tartja a hideghatással szembeni védekezésben szerepet játszó, autonóm effektor tényezőket (hőkonzerválás, hőtermelés), ezen keresztül a T_c -t fiziológiás tartományban tartva. Az ioncsatorna aktivitásának felfüggesztésével, azaz TRPV1 antagonista adásával, a hőkonzerválási és hőtermelési hőszabályozási folyamatok felszabadulnak tónusos gátlásuk alól, ami hipertermiához vezet. Ez közreműködhet abban is, hogy CAP deszenzitizált állatokban az éhezési hipometabolizmus mérsékeltebb (relatív hipermetabolizmus).

5.5. A TRPV1 ioncsatorna tónusos aktiváltsági állapotáért felelős faktorok

Amikor CPZ azonos dózist, azonos módon infundáltuk tengerimalacoknak és patkányoknak, azt találtuk, hogy míg előbbieken ez a TRPV1 antagonista szignifikáns mértékű hipertermiát okozott, utóbbiakban termoregulatórikus szempontból hatástalannak bizonyult. A CPZ termális hatásának e két fajban való összehasonlításával a protonok szerepét vizsgáltuk a TRPV1 ioncsatorna *in vivo* tónusos aktiváltsági állapotának fenntartásában.

A TRPV1 csatorna hővel, protonokkal és molekuláris ligandokkal aktiválható²⁵, utóbbiakat összefoglaló néven vanilloidoknak nevezzük, közéjük tartoznak a korábban említett CAP, resiniferatoxin és endovanilloidok is. Amennyiben a proton aktivációs mód gátlása jelentős szerepet játszik a TRPV1 antagonisták által indukált hipertermia

létrehozásában, vagy más szavakkal a TRPV1 ioncsatorna *in vivo* tónusos aktiváltsági állapotának fenntartásában, akkor azt várhatnánk, hogy a tengerimalacok sokkal érzékenyebbek lesznek a CPZ hipertermiás hatásával szemben, mint a patkányok. Az elvárás alapja, hogy patkányokban a CPZ nem blokkolja a TRPV1 ioncsatorna proton aktivációs módját, ebben a módban a CPZ 50%-os inhibitoros koncentrációja $> 40000 \text{ nM}^{26}$, ezzel szemben tengerimalacokban a CPZ viszonylag erősen gátolja a TRPV1 ioncsatorna protonok általi aktivációját (50%-os inhibitoros koncentráció = 355 nM^{27}). A hő és vanilloidok általi aktivációs módokat a CPZ patkányokban és tengerimalacokban egyaránt gátolja^{26,27}.

Elvárásainknak megfelelően azt találtuk, hogy tengerimalacokban, amely fajban a CPZ blokkolja a proton aktivációs módot, hipertermiát indukált, míg patkányokban, amely fajban a CPZ nem gátolja a proton aktivációs módot, hatástalannak bizonyult. Következtesül levonhatjuk, hogy a TRPV1 ioncsatorna proton aktivációs módjának gátlása kulcsfontosságú a TRPV1 antagonisták indukálta hipertermia kialakulásában, amely teljes összhangban van más szerzők korábbi eredményeivel²⁸. Mindez pedig arra utal, hogy a TRPV1 ioncsatorna tónusos aktiváltsági állapotának fenntartásáért *in vivo* a proton aktivációs mód felelős.

5.6. Az α -MSH és az energetikai folyamatok

Exogén, centrálisan injektált α -MSH felnőtt patkányokban mind a spontán, mind pedig az éheztetés által indukált táplálékfelvétel dóziszfüggő csökkenését okozta. Ez az eredmény megfelel a más szerzők által korábban leírtaknak^{29,30}. A nappali, éheztetés nélküli táplálékfelvétel mértékében az anyag hatására nem következett be változás, aminek oka, hogy a patkányok inaktív, világos ciklus alatti tápfogyasztása, *a priori*, alacsony³¹, annak további szignifikáns mértékű csökkenése a jelen tanulmányban alkalmazott módszerekkel nem volt kimutatható. Ezzel ellentétben, az aktív, éjszakai ciklus spontán táplálékfelvételében, ami rágszálókban kifejezett mértékű³¹, továbbá a nappali, de éheztetéssel indukált táplálékfelvételében az irodalmi adatoknak megfelelően szignifikáns csökkenést találtunk.

A termoneutrális zóna alsó határának megfelelő T_a -n centrális α -MSH adása a T_c szignifikáns emelkedését okozta a kontrollokhöz képest. A termoregulatórikus és anorexigén hatások időbeli lefolyásának összehasonlításával egyértelműen igazoltuk a energetikai szabályozási szempontból koordinált (katabolikus) reakció fennállását az irodalmi adatoknak megfelelően^{29,32}. A talált hipertermia megerősíti egyes szerzők által leírt eredményeket³³, ellentétben áll azonban a mások által közölt antipiretikus hatásról beszámoló adatokkal³⁴. Meg kell jegyeznünk azonban, hogy bizonyos állatokban a hipertermia kialakulásának latenciája és annak mértéke lényegesen különbözött az átlagtól. Feltételezhető, hogy ebben a perifériáról beérkező, az aktuális hőszabályozási állapotról informáló maghőmérsékleti és bőrhőmérsékleti szignálok különböző dominanciája lényeges szerepet játszott.

Összefoglalva, fiatal felnőtt korcsoportú patkánymodellben demonstráltuk a centrális α -MSH hatására bekövetkező koordinált katabolikus (időben egybevágó anorexigén és hipertermiás) energetikai reakciót, egyúttal meghatározván a későbbi tanulmányainkban használt optimális dózist.

5.7. CAP-szenzitív abdominális afferensek és az NPY-val illetve α -MSH-val kapcsolatos táplálkozási energetika

Kísérleteinkben sikeresen reprodukáltuk az irodalmi adatok alapján már ismert NPY hatására akutan kialakuló hiperfágiát³⁵ és szubakutan létrejövő hipofágiát²². Azt találtuk, hogy IP CAP deszenzitizált patkányok normális (a vivőanyaggal előkezelttől nem

különböző) táplálékfelvételi választ adnak exogén NPY és α -MSH adását követően. Levonhatjuk tehát azt a következtetést, hogy IP CAP deszenzitizáció után a komplex energetikai szabályozás centrális elemei nem károsodnak: elvárásainknak megfelelően az IP CAP előkezelés kizárólag az abdominális afferenciában okozott eltéréseket^{16,17}. A vagális jóllakottsági szignálok hiánya nem befolyásolta a NPY, illetve α -MSH centrális adása esetén kialakuló – az irodalmi adatoknak megfelelő hiperfágiás^{22,35}, illetve hipofágiás^{29,30} – táplálékfelvételi választ. A jóllakottság/éhség létrejöttében és fenntartásában tehát más (nem vagális) szignálok fontos szerepet játszanak.

6. Erdemények összefoglalása

1. A LPS-re adott polifázisos lázválasz létrehozásában a CAP-szenzitív abdominális vagális afferens rostok nem játszanak szerepet, az IP CAP deszenzitizáció nem a nervus vaguson keresztül fejt ki hatását.

2. Az IP CAP deszenzitizáció fokozza az éhezés során kialakuló testsúlycsökkenést, ugyanakkor fokozza az éhezést követő újratápláláskor bekövetkező korai testsúlynövekedést, ami vagális éhezési, illetve jóllakottsági szignálok meglétére is utal.

3. *Trpv1* KO egerekben az éhezésre kialakuló hipotermia kevésbé kifejezett, mint vad típusú társaikban, továbbá cirkadián testhőmérsékleti és aktivitási ritmusuk is eltolódik. A csökkent hipotermia megfelel az IP CAP deszenzitizáció során tapasztaltaknak.

4. A TRPV1 antagonistá AM517 hipertermiát okoz, ami – koordinált hőszabályozási reakciónak megfelelően – a hőleadás csökkenésének és a hőtermelés fokozódásának az eredményeként jön létre. A TRPV1 ioncsatorna *in vivo* tónusosan aktivált állapotban van, folyamatos gátlás alatt tartja a hideg-elleni védekezésben szerepet játszó autonóm termoeffektorokat (hőleadás, hőtermelés), ezáltal fenntarva a fiziológiai testhőmérsékletet.

5. CPZ hipertermiás hatásának kialakulásához elengedhetetlenül szükséges a TRPV1 ioncsatorna proton aktivációs módjának gátlása. Hipertermia csak abban az esetben (fajban) jön létre, ha a CPZ blokkolja a TRPV1 ioncsatorna protonok általi aktivációját (pl. tengerimalacokban). Ez arra utal, hogy a TRPV1 ioncsatorna *in vivo* tónusosan aktivált állapotának fenntartásáért a protonok felelősek.

6. Az ICV adagolt α -MSH az éhezést követő újratáplálást és az éjszakai spontán táplálékfelvételt dózisfüggő módon mérsékli, ezzel együtt a T_c -t megemeli, ami egy koordinált katabolikus energetikai reakció.

7. A vagálisan szállítódó éhezési, illetve jóllakottsági szignálok hiánya nem befolyásolja a NPY vagy α -MSH centrális adása után kialakuló táplálkozási választ.

7. Köszönetnyilvánítás

Ezúton szeretnék köszönetet mondani a Pécsi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Kar Kórleletani és Gerontológiai Intézet Professzor Urainak és minden dolgozójának a jelen munka lebonyolításában nyújtott minden segítségükért.

Köszönöm továbbá Dr. Andrej A. Romanovsky Igazgató Úrnak kitartó türelmét, támogatását és iránymutatását a külföldön végrehajtott tanulmányok során.

Végül, köszönöm feleségemnek és családomnak végtelen türelmüket és odaadó támogatásukat.

8. Irodalomjegyzék

1. Székely, M. & Szelényi, Z. *Curr Protein Pept Sci* **6**, 327-353 (2005).
2. Székely, M., Pétervári, E. & Szelényi, Z. *Front Biosci* **9**, 2746-2763 (2004).
3. Blatteis, C.M. *Int J Biometeorol* **44**, 31-43 (2000).
4. Bligh, J. *J Therm Biol* **23**, 143-258 (1998).
5. Szelényi, Z. & Hinckel, P. *Pflugers Arch* **409**, 175-181 (1987).
6. Bicego, K.C., Barros, R.C. & Branco, L.G. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol* **147**, 616-639 (2007).
7. Székely, M. & Szelényi, Z. *Acta Physiol Acad Sci Hung* **53**, 265-277 (1979).
8. Romanovsky, A.A. *Am J Physiol* **292**, R37-46 (2007).
9. Romanovsky, A.A. *Am J Physiol* **287**, R992-995 (2004).
10. Schwartz, M.W., Dallman, M.F. & Woods, S.C. *Am J Physiol* **269**, R949-957 (1995).
11. Porte, D., Jr., Baskin, D.G. & Schwartz, M.W. *Nutr Rev* **60**, S20-29; discussion S68-84, 85-27 (2002).
12. Cannon, B. & Nedergaard, J. *Physiol Rev* **84**, 277-359 (2004).
13. Rothwell, N.J. & Stock, M.J. *J Physiol* **328**, 371-377 (1982).
14. Bing, C. et al. *Am J Physiol* **274**, R62-68 (1998).
15. Lennie, T.A. *Physiol Behav* **64**, 475-481 (1998).
16. Dogan, M.D. et al. *Br J Pharmacol* **143**, 1023-1032 (2004).
17. Steiner, A.A. et al. *J Neurosci* **27**, 7459-7468 (2007).
18. Romanovsky, A.A. *Front Biosci* **9**, 494-504 (2004).
19. Li, Z. & Blatteis, C.M. *J Endotoxin Res* **10**, 39-53 (2004).
20. Paintal, A.S. *J Physiol* **126**, 255-270 (1954).
21. Székely, M., Pétervári, E., Balaskó, M., Hernádi, I. & Uzsoki, B. *Regul Pept* **104**, 47-53 (2002).
22. Székely, M., Pétervári, E., Pákai, E., Hummel, Z. & Szelényi, Z. *Neuropeptides* **39**, 103-115 (2005).
23. Cherel, Y., Burnol, A.F., Leturque, A. & Le Maho, Y. *Metabolism* **37**, 1033-1039 (1988).
24. Gavva, N.R. et al. *J Neurosci* **27**, 3366-3374 (2007).
25. Tominaga, M. et al. *Neuron* **21**, 531-543 (1998).
26. Gavva, N.R. et al. *J Pharmacol Exp Ther* **313**, 474-484 (2005).
27. Savidge, J. et al. *Neuropharmacology* **43**, 450-456 (2002).
28. Lehto, S.G. et al. *J Pharmacol Exp Ther* **326**, 218-229 (2008).
29. Forbes, S., Bui, S., Robinson, B.R., Hochgeschwender, U. & Brennan, M.B. *Proc Natl Acad Sci U S A* **98**, 4233-4237 (2001).
30. Hwa, J.J., Ghibaudi, L., Gao, J. & Parker, E.M. *Am J Physiol* **281**, R444-451 (2001).
31. Strubbe, J.H. & Woods, S.C. *Psychol Rev* **111**, 128-141 (2004).
32. Voisey, J., Carroll, L. & van Daal, A. *Curr Drug Targets* **4**, 586-597 (2003).
33. Raible, L.H. & Knickerbocker, D. *Pharmacol Biochem Behav* **44**, 533-538 (1993).
34. Sinha, P.S., Schioth, H.B. & Tatro, J.B. *Brain Res* **1001**, 150-158 (2004).
35. Raposinho, P.D. et al. *Mol Cell Endocrinol* **185**, 195-204 (2001).

PUBLIKÁCIÓK JEGYZÉKE

Az értekezés alapjául szolgáló publikációk listája

Referált folyóiratban megjelent közlemények:

A. Garami, M. Balaskó, M. Székely, M. Solymár, E. Pétervári: Fasting hypometabolism and refeeding hyperphagia in rats: effects of capsaicin desensitization of the abdominal vagus. *Eur. J. Pharmacol.* (2010) (*in press*) (doi: 10.1016/j.ejphar.2010.07.002)

IF: 2.787 (2008)

A. Garami, Y. P. Shimansky, E. Pakai, D. L. Oliveira, N. R. Gavva, A. A. Romanovsky: Contributions of different modes of TRPV1 activation to TRPV1 antagonist-induced hyperthermia. *J. Neurosci.* 30: 1435-1440 (2010)

IF: 7.452 (2008)

E. Pétervári, M. Balaskó, A. Garami, S. Soós, M. Székely: Suppression of food intake by intracerebroventricular injection of alpha-MSH varies with age in rats. *Acta Physiol. Hung.* 96 (4): 483-7 (2009)

IF: 0.491 (2008)

A. A. Romanovsky, M. C. Almeida, A. Garami, A. A. Steiner, M. H. Norman, S. F. Morrison, K. Nakamura, J. J. Burmeister, T. B. Nucci: The transient receptor potential vanilloid-1 channel in thermoregulation: a thermosensor it is not. *Pharmacol. Rev.* 61 (3): 228-61. (2009)

IF: 21.936 (2008)

P. Kanizsai, A. Garami, M. Solymár, J. Szolcsányi, Z. Szelényi: Energetics of fasting heterothermia in TRPV1-KO and wild type mice. *Physiol. Behav.* 96 (1): 149-54 (2009)

IF: 2.806 (2008)

N. R. Gavva, J. J. S. Treanor, A. Garami, L. Fang, S. Surapaneni, A. Akrami, F. Alvarez, A. Bak, M. Darling, A. Gore, G. R. Jang, J. P. Kesslak, L. Ni, M. H. Norman, G. Palluconi, M. J. Rose, M. Salfi, E. Tan, A. A. Romanovsky, C. Banfield, G. Davar: Pharmacological blockade of the vanilloid receptor TRPV1 elicits marked hyperthermia in humans. *Pain* 136 (1): 202-210 (2008)

IF: 6.030

E. Pétervári, A. Garami, E. Pákai, M. Székely: Effects of perineural capsaicin treatment of the abdominal vagus on endotoxin fever and on a non-febrile thermoregulatory event. *J. Endotoxin Res.* 11: 260-266 (2005)

IF: 2.791

Könyvfejezet:

A. Garami, M. C. Almeida, T. B. Nucci, T. Hew-Butler, R. N. Soriano, E. Pakai, K. Nakamura, S. F. Morrison, A. A. Romanovsky: Chapter 14. The TRPV1 channel in normal thermoregulation: What have we learned from experiments using different tools? In: *Vanilloid Receptor TRPV1 in Drug Discovery: Targeting Pain and Other*

Pathological Disorders, ed. by A Gomtzyan, C. R. Faltynek, N.J. Hoboken, Wiley, 2010, p. 351-402

Idézhető előadáskivonatok:

Garami A., Kanizsai P., Soós Sz., Székely M.: Effects of central alpha-melanocyte-stimulating hormone on thermoregulation in rats. Clin. Neurosci. / Ideggyógy. Szle. 60 (S1): 22 (2007)

Soós Sz., Garami A., Pákai E., Pétervári E.: The central effects of alpha-melanocyte-stimulating hormone on food intake in rats of various nutritional states. Clin. Neurosci. / Ideggyógy. Szle. 60 (S1): 59 (2007)

Soós Sz., Balaskó M., Cséplő P., Székely M., Garami A.: The effects of alpha-MSH on spontaneous food intake in rats. Acta Physiol. Hung. 94: 391 (2007)

Székely M., Balaskó M., Pétervári E., Garami A.: Analysis of the regulation of energy balance by intraperitoneal or perivagal capsaicin treatment. Acta Physiol. Hung. 94: 393-394 (2007)

Garami A., Pákai E., Székely M., Pétervári E.: Effects of capsaicin treatment on endotoxin-induced anorexia in rats. Acta Physiol. Hung. 93: 177-178 (2006)

Balaskó M., Pétervári E., Garami A., Soós Sz., Székely M.: Orexins in the complex regulation of energy balance. Acta Physiol. Hung. 93: 155 (2006)

Pétervári E., Garami A., Hartman M., Jech-Mihálffy A., Székely M.: Effect of environmental temperature on the development of postprandial hyperthermia. Acta Physiol. Hung. 93: 220-221 (2006)

Szelényi Z., Kanizsai P., Garami A.: Mechanism of normothermic periods occurring during fasting or on refeeding in mice – Biotelemetric studies. Acta Physiol. Hung. 93: 231 (2006)

Kanizsai P., Garami A., Hummel Z., Szelényi Z.: Changes of daily rhythms induced by repeated stress. Clin. Neurosci. / Ideggyógy. Szle. 59 (S1): 31-32 (2006)

Garami A., Pétervári E., Székely M.: The influence of alpha-melanocyte-stimulating hormone on food intake in rats. Acta Physiol. Hung. 92: 256-257 (2005)

Pétervári E., Garami A., Juhász Á., Székely M.: Effects of alpha-melanocyte-stimulating hormone on the regulation of body temperature. Acta Physiol. Hung. 92: 294-296 (2005)

Garami A., Pétervári E., Pákai E., Székely M.: The effects of perivagal or intraperitoneal capsaicin desensitization on postprandial hyperthermia and on endotoxin fever. Clin. Neurosci. / Ideggyógy. Szle. 58 (S1):33 (2005)

A jelölt egyéb publikációi

Referált folyóiratban megjelent közlemények:

A. A. Romanovsky, A. Garami: Prostaglandin riddles in energy metabolism: E is for excess, D is for depletion (Editorial). Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. 67 (2010) (in press)

IF: 3.272 (2008)

Balaskó M., Garami A., Soós S., Koncsecskó-Gáspár M., Székely M., Pétervári E.: Central alpha-MSH, energy balance, thermal balance, and antipyresis. J. Therm. Biol. (2010) (in press)

IF: 1.021 (2008)

Z. Vámos, A. Garami, S. Soós, M. Székely: Effects of a central alpha-MSH infusion on parameters of energy balance in young and old rats. Acta Physiol. Hung. 96 (1): 142-3 (2009)

IF: 0.491 (2008)

M. Solymár, P. Kanizsai, E. Pétervári, A. Garami, Z. Szelényi: Mechanism of fasting heterothermia and refeeding normothermia in mice. Acta Physiol. Hung. 96 (1): 125-6 (2009)

IF: 0.491 (2008)

Idézhető előadáskivonatok:

Solymár M., Garami A., Pákai E., Szelényi Z.: Comparison of energetics of short-term cold-acclimation in the rat and mouse biotelemetric studies. Clin. Neurosci. / Ideggyógy. Szle. 61 (S1): 58 (2008)

Pétervári E., Balaskó M., Garami A., Pákai E., Soós Sz., Székely M.: Central alpha-MSH infusion and parameters of energy balance in young and old rats. Clin. Neurosci. / Ideggyógy. Szle. 61 (S1): 51 (2008)

Garami A., Kanizsai P., Soós Sz., Balaskó M.: Telemetric investigation of febrile anorexia in capsaicin treated rats. Clin. Neurosci. / Ideggyógy. Szle. 60 (S1): 21 (2007)

Garami A., Hartman M., Pétervári E., Székely M.: Effects of alpha-MSH on food intake and temperature regulation in the rat. Clin. Neurosci. / Ideggyógy. Szle. 59 (S1): 23 (2006)

Kanizsai P., Garami A., Hummel Z., Szelényi Z.: Changes in dialy rhythmus under different stress situations (fasting, anaesthesia, laparotomy). Acta Physiol. Hung. 92: 267-268 (2005)

Pétervári E., Garami A., Székely M.: Central thermoregulatory effects of leptin. Clin. Neurosci. / Ideggyógy. Szle. 56/2 (5): 69-70 (2003)