

AZ OTKA ÁLTAL TÁMOGATOTT KUTATÁS EREDMÉNYEINEK RÉSZLETES ISMERTETÉSE

Az öregedő európai társadalmakban mind nagyobb jelentőséget kapnak az élettani öregedés folyamatával kapcsolatos, ill. az öregedéshez kötődő kóros folyamatokra irányuló gerontológiai kutatások. A társadalmi korfa öregedő tendenciája hazánkban különösen fontos, mivel nálunk az idősödő korosztály biológiai (funkcionális) öregedési üteme gyorsabb, mint a legfejlettebb országokban. A testtömeg hosszú távú változására jellemző mindkét fő trend, a középkorúak elhízásra, ill. az idősek anorexiára való hajlama rontja az egészségi állapotot és rövidíti a várható élettartamot. (Utóbbi jelentős izomvesztéshez, azaz sarcopeniához vezet, mert a rendszeresen előforduló alultápláltsággal járó periódusokban az izomtömeg számottevően csökken, amelyet a normális táplálkozás során az idős szervezet nem képes visszanyerni.) Kombinációjuk, a még jelentős zsírraktárak mellett megjelenő izomsorvadás, az ún. sarcopeniás obesitas esetén szinergista módon hatva különösen nagy népegészségügyi kockázatot jelentenek¹. A folyamatok háttérében feltételezett, a kialakulásukban — legalábbis részben — felelősnek tartható energetikai szabályozási folyamatok megismerése és megértése ezért bír nagy jelentőséggel. A jelen kutatási program célja az volt, hogy az energiaforgalom- és a testtömeg-szabályozásban domináns szerepet játszó neuropeptidek hatásainak korfüggő változásait tisztázzuk és a befolyásolás lehetséges célpontjait megismerhessük.

A kutatási tervben foglalt alapvető, alább felsorolt hipotéziseink tesztelését különböző korú és tápláltsági állapotú patkánycsoportokban eredményesen elvégeztük:

- 1) Az öregedés során a katabolikus és anabolikus regulatórikus peptidek energetikai hatásai jellegzetes korfüggő hullámzásokat mutatnak, amelyek középkorúakban az elhízás, késő öregkorban az anorexia és a fogyás (elsősorban izomvesztés, sarcopenia) kialakulását segítik elő.
- 2) Az egyes peptidek hatásai az energiaháztartás különböző paramétereire a korrallal eltérő ütemben és irányban változnak, ami az öregedési folyamat jellegzetességének tekinthető.
- 3) A tápláltsági állapot és ezáltal a testösszetétel megváltoztatása ezeknek az öregedéssel járó szabályozási folyamatoknak a sebességét jelentősen módosítja: az elhízás gyorsítja, a kalóriarestrikció lassítja.

A 3 éves program során létrehozott állatcsoportokban lehetőségünk nyílt nemcsak a tápláltsági állapot egyik legfontosabb szignálmolekulája, a döntően zsírszöveti eredetű leptin és az általa a hypothalamus nucleus arcuatusában befolyásolt domináns katabolikus és anabolikus peptidek (melanocortinok és a neuropeptid Y (NPY)) hatásainak mérésére, hanem **ki tudtuk terjeszteni** a vizsgált jelenségek tesztelését **más peptidekre is, megerősítve ezzel alapvető következtetéseinket.**

Az öreg, különböző tápláltsági állapotú (normálisan táplált és kalória restrikciós 24 hónapos!, ill. zsíros tápon elhízlalt, korábban öregedő 18 hónapos) állatcsoportok létrehozása hosszú időt vett igénybe. Az ilyen öreg állatoknak a vártnál nagyobb spontán és műtéti mortalitása (pl. nagy nyári meleg miatt), továbbá az eredmények nagy szórása miatt több ismételésre volt szükség, ezért a mérések egy része, ezzel az adatok kiértékelése, a különböző korcsoportok összehasonlítása elhúzódott. Így a **pályázat összes eredményének folyóiratcikk formájában történő publikálása részben a pályázat lezárását követően várható.** Eredményeink egy részének közlése már folyamatban van, más része rövidesen benyújtásra kerül. Kérem, hogy legyen lehetőség a minősítési eljárásban későbbi módosításra a következő két év közleményeinek figyelembevételével.

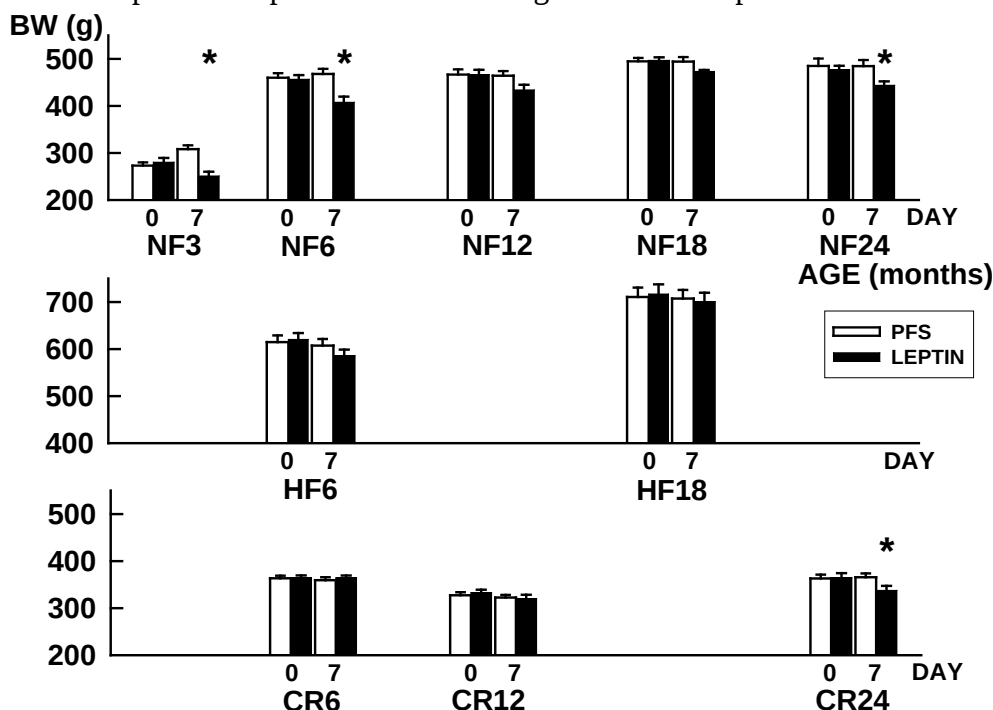
Legfontosabb eredményeink

1. Korfüggő változások az energiaháztartás regulatórikus peptidjeinek hatásaiban

1.1. Katabolikus peptidek: leptin

Vizsgálatainkban kimutattuk, hogy a **leptin** és a centrális katabolikus hatások közvetítésében részt vevő **melanocortinok anorexigén hatása** – monoton csökkenés helyett – **jellegzetes korfüggő hullámfázist mutat: a középkorúakban csökken, öregkorban újra felerősödik.**

A **leptin** 7 napos intracerebroventricularis infúziójának anorexigén hatása minden vizsgált korcsoportban szignifikáns maradt, de a fiatal felnőtt kortól (normál táplálású 3 hónapos állatok, NF3) kezdve fokozatosan mérséklődött az öregedő korcsoportig (18 hónapos, NF18), majd a legöregebb (24 hónapos, NF24) állatokban a hatás meglepő módon újra felerősödött: az infúzió alatti kumulatív táplálékfelvétel az NF3 állatokban a kontrolljukhoz képest 54%-kal csökkent, ez a gátlás 20 % alá csökkent az NF18 csoportig, míg az NF24 csoportban 39 %-ra emelkedett. A peptid **hipermetabolikus hatásai** (a szívfrekvencia, mint az anyagcsere indikátora, ill. a maghőmérséklet növekedése) ezzel szemben eltérő mintát mutattak: **fokozatosan csökkentek a korral, késői emelkedés nélkül.** A peptid agykamrai injekciójának akut hipermetabolikus hatását és annak korfüggő csökkenését az oxigénfogyasztás kalorimetriás mérésével is megerősítettük. A leptin katabolikus hatásainak változását összességében a leptin infúzió által előidézett testtömegcsökkenés mértéke jól tükrözte (1. ábra). Erre a hatásra nézve a **középkorú és öregedő állatok (NF12, NF18) leptinrezisztenciát** mutattak, míg az **öreg NF24 csoportban a leptin újra szignifikánsan csökkentette a testtömeget.** Ugyanezt támasztotta alá, hogy a zsírtömeg indikátoraként használt retroperitoneális zsírtömeg ugyancsak kizárólag a 3, 6 és 24 hónapos korcsoportban csökkent szignifikánsan a leptin infúziót követően.



1. ábra: Különböző korú normál táplálású (NF), zsírdús diétán (HF) vagy kalória-restrikciós étrenden (CR) tartott patkányok testtömege (BW) 7-napos intracerebroventricularis leptin vagy pirogénmentes fiziológus sóoldat (PFS) infúziójának 0. és 7. napján. A csillag a kontroll (PFS) és a leptinnel kezelt csoportok 7. napon mért BW értéke közötti szignifikáns különbséget jelzi.

Pétevári et al., Peptides (közlésre elküldve)

1.2. Katabolikus peptidek: melanocortinok

A **melanocortinok** közé tartozó pro-opiomelanocortin származék, az alpha-melanocyta stimuláló hormon (alpha-MSH) 7-napos intracerebroventricularis infúziójának anorexigén hatása hasonlóképpen változott a korral, mint ahogy azt az akut injekciók eredményeképpen korábban megfigyeltük és leírtuk. A gyors testsúly-gyarapodású, erős orexigén tónusú juvenilis (2 hónapos növendék, NF2) állatokhoz képest, amelyekben a zsírtömeg még minimális volt, erősebb táplálékfelvétel- és testtömeg-csökkentő hatást láttunk a nagyobb retroperitonealis és epididymalis zsírtömeggel rendelkező fiatal felnőtt NF3 csoportban, majd a középkorú, nagyon magas zsírtömegű NF12 csoportokban a hatás jelentősen mérséklődött (a táplálékfelvételük nem is csökkent szignifikánsan), végül azonban a súlycsökkenés maximálisra fokozódott az NF24 állatokban, amelyek egyébként még mindig magas zsírtartalommal rendelkeztek, viszont szignifikánsan kisebb volt bennük az izomtömeg indikátorként vizsgált m. tibialis anterior izom mérete (öregkori sarcopenia megjelenésére utal).

A melanocortinok (agonisták és antagonisták) akut intracerebroventricularis injekció által kiváltott anyagcsere- és hőszabályozási hatásának elemzésekor megállapítottuk, hogy az induló maghőmérséklet (függ a környezeti hőmérséklettől) döntően befolyásolja a hatás mértékét, ezért a melanocortin-érzékenység vizsgálatához minden, különböző korú és tápláltsági állapotú csoportban külön meg kellett határoznunk a termoneutralitás határát mozgásukban részlegesen korlátozott (nyugalmi anyagcseréjű) állatokban. (A termoneutralitás alsó határán biztosíthattuk azt a minimális 37,5-37,8 °C kiindulási (nyugalmi) maghőmérsékletet, amely a hőszabályozási válaszreakciók vizsgálatára a legalkalmasabb. Az ennél magasabb kiindulási maghőmérséklet a válaszreakciót progresszíven mérsékli, ill. eltörli.) Azonos, szubtermoneutrális környezeti hőmérsékleten elvégzett méréseink szerint az **akut alpha-MSH injekció anyagcsere-hőszabályozási hatása a táplálékfelvételi hatásokra emlékeztető korfüggő mintázatot mutatott**: a növendék állatokban mérsékelt, a fiatal felnőttben erős, a középkorú csoportban nem szignifikáns, öreg patkányokban pedig újra erősebb (szignifikáns) volt. **Ezzel szemben 7 napos melanocortin infúzió adása során** szabadon mozgó patkányokban azt tapasztaltuk, hogy **az anorexigén és a hipermetabolikus hatások** (a maghőmérséklet és az anyagcsere változásait tükröző szívfrekvencia biotelemetriás regisztrációja, párhuzamos mérősorozatban az oxigénfogyasztás kalorimetriás mérése) **korral eltérő ütemben változtak: már középkorú (NF12) patkányokban fokozott**, a fiatalabbakénál szignifikánsan nagyobb anyagcsere- és maghőmérséklet-emelkedést figyeltünk meg, ami magyarázhatja, hogy a hiányzó anorexigén hatás ellenére ebben a korcsoportban is kimutatható volt testtömeg-csökkenés. **Öreg (NF24) állatokban — a leptininfúzió hatásával ellentétben — a melanocortin az anyagcsere-maghőmérséklet növelése tekintetében is hatékonyabbnak bizonyult**, ezért a felerősödött anorexiás hatással társulva a következményes testtömeg-csökkenés náluk volt a legkifejezettebb.

Összegezve, fent részletezett adataink felvetik **középkorúakban** az ismert leptinrezisztencia mellett, de tőle függetlenül is a **centrális melanocortinok csökkent anorexigén hatásának szerepét az elhízás kialakulásában** (hiszen az alpha-MSH-t centrálisan adagoltuk), továbbá vizsgálataink alapján **először merül fel a leptin és a melanocortin rendszer fokozott katabolikus hatásának lehetséges szerepe az időskori anorexia és sarcopenia megjelenésében.**

Az energiaháztartás szabályozása szempontjából fontos tényező a perifériás szövetek, különösen az izomszövet energia/hőtermelő képessége. Az izomszövet energiatermelő folyamatai elsődlegesen a mitochondriumaiban lokalizáltak, ezért egyes mitochondriális gének [proliferator-activated receptor-gamma coactivator-1-alpha (PGC-1-alpha), peroxisome proliferator-activated receptor-gamma (PPAR-gamma)] transzkripciójának kvantitatív RT-PCR (quantitative reverse

transcription polymerase chain reaction) módszerrel történő vizsgálata fontos adatokat szolgáltat a perifériás hő/energia-termelő képesség változásairól. Salzburgi kollaborátorunkkal, Barbara Kofler professzorral (Paracelsus Orvostudományi Egyetem, Gyermekgyógyászati Klinika Kutatólaboratóriumának vezetője) együttműködve munkacsoportunk ezért célul tűzte ki, az **in vivo kísérletek eredményeit in vitro vizsgálatokkal kiegészítve**, a fent ismertetett különböző korú (NF2, NF3, NF12, NF24), 7-napos laterális agykamrába adott alpha-MSH, ill. kontroll (fiziológiás só) infúziós kezelésen átesett hím Wistar patkány izomszövet mintáiban az energiatermelés szempontjából kulcsfontosságú mitochondriális enzimek (PGC-1-alpha, PPAR-gamma) expressziójának meghatározását. Elvégeztük a mitochondriális gének mennyiségi (copy number) meghatározását is.

Eredményeink azt mutatták, hogy **a mitochondriális DNS mennyisége (copy number)** kontroll patkányokban 12 hónapos korig emelkedett, majd 24 hónapos korra csökkent. Az alpha-MSH kezelés fiatal csoportok esetében növelte, középkorú és öreg patkányok esetében (amelyekben pedig in vivo melanocortin hatásra a hipermetabolikus hatás nagy mértékben felerősödött és hozzájárult a testtömeg csökkenéséhez) inkább csökkentette ezeket az értékeket.

Az energiatermelő enzimek ko-aktivátorának (**PGC-1-alpha**) **génexpressziója** a fiatal korcsoportokban (2, 3 hó) magasabb, a középkorú és öreg csoportokban (12, 24 hó) alacsonyabb volt. Ezek az arányok az alpha-MSH-val kezelt csoportokban is megmaradtak, azonban a **középkorú állatokban centrális melanocortin hatásra kis növekedés (javulás) mutatkozott**, amely azonban előzetes vizsgálatainkban nem érte el a statisztikailag szignifikáns mértéket. Ez a jelenség **megerősíti azt a megfigyelésünket, hogy az alpha-MSH infúzió hipermetabolikus hatása** a fiatal felnőttekhez képest **középkorú patkányokban kifejezetten erős** volt és az alpha-MSH összegzett katabolikus (testtömeg csökkentő) hatásaira különösen erősen reagáló öreg korcsoportban sem növekedett tovább.

Az inzulinhatás szempontjából kiemelt jelentőségű **PPAR-gamma génexpressziója** a legfiatalabb patkányokban volt a legmagasabb. Már a fiatal felnőtt korcsoporttól kezdve megfigyelhető volt ezen a téren egy csökkenés, amely középkorú és öreg patkányokban nem mérséklődött tovább. A centrális alpha-MSH infúzióval kezelt juvenilis csoportban a PPAR-gamma expresszió számottevően visszaesett, bár az irodalmi adatok szerint a centrális melanocortin hatásra az inzulin érzékenység inkább növekszik, csak perifériás alpha-MSH hatásra mutattak ki inzulinérzékenység csökkenést.

Eddigi eredményeink a perifériás energiatermelés tekintetében megerősítették azon megfigyeléseket, amelyek szerint öreg korcsoportokban az energiatermelő képesség csökken. Eredményeink ugyanakkor felvetik a centrális melanocortin rendszer aktiváló szerepét a perifériás energiatermelésben, különösen középkorú korcsoportokban. Tisztázni kell ugyanakkor a centrális/perifériás melanocortin hatás szerepét, befolyásának irányát az inzulin hatásában.

1.3. Katabolikus peptidek: centrális corticotropin rendszer

A **melanocortin rendszerre vonatkozó eredményeink mechanizmusának pontosabb megismerése érdekében kiterjesztettük vizsgálatainkat downstream mediátora**, a centrális katabolikus hatás közvetítésében fontos **hypothalamicus corticotropin rendszer** egyik legfontosabb peptidje a corticotropin-releasing factor (CRF) **hatásainak tesztelésére** is.

Az alpha-MSH akut hatásainak jellegzetes korfüggő változásával ellentétben, intracerebroventricularis CRF injekciót követően mind az akut anorexigén, mind a kalorimetriával mért akut hipermetabolikus és hipertermiás hatás a korral egyenletesen, folyamatosan csökkenő tendenciát mutatott, öreg állatokban már nem volt szignifikáns.

A **CRF 7-napos intracerebroventricularis infúziójának energetikai hatásaiban jelentkező életkorfüggő mintázat viszont számottevő egyezést mutat a melanocortin agonista katabolikus hatásainak** hasonló körülmények között vizsgált **változásaival**. A fiatal felnőtt NF3 csoport mérsékelte, ám szignifikáns anorexigén és hipermetabolikus válaszkészségével szemben a **középkorú** (NF12)

állatokban a CRF anorexigén hatása **elmaradt**, így a még kimutatható hipermetabolikus hatások ellenére az infúzió összességében nem hozott létre fogyást. Ezzel szemben az **öreg** (NF24) patkányok **erős anorexigén és megtartott hipermetabolikus** hatást, és ennek eredményeként számottevő fogyást mutattak.

A CRF akut és krónikus katabolikus hatásainak eltérő dinamikájú korfüggő változása magyarázható azzal, hogy az akut hatásainak mediálásáért az 1-es típusú, a krónikusakért inkább a 2-es típusú corticotropin receptorokat tartják fontosnak, tehát kísérleteink alapján a **CRF centrális akut és krónikus hatásainak korfüggő változásaiban receptorainak eltérő szerepét feltételezhetjük.**

1.4. Katabolikus peptidek: cholecystokinin

A tápláltsági állapotot tükröző leptin mellett a másik fontos perifériás szignálpeptid az anorexigén **cholecystokinin (CCK)**, amely inkább az aktuális táplálkozási állapot, a jóllakottság érzésének mediálásában fontos, hatásának közvetítésében szerepet tulajdonítanak a nervus vagus perifériás CCK-1 receptorainak és a leptinnek is a n. vagus afferens neuronjaiban². A CCK intracerebroventricularis adás esetén is jóllakottság érzést vált ki állatkísérletes modellekben a CCK-2 receptorok aktivációján keresztül^{3,4}. A centrálisan adott CCK lázszerű maghőmérséklet-emelkedést is okoz: fokozza a hőtermelést és csökkenti a hőleadást, amelyhez a betegség magatartás részeként anorexia kapcsolódik⁵. Saját kísérleteink során kimutattuk, hogy a patkányokhoz hasonlóan, **egerek** (melyek a génmanipulált egértörzsek kutatási szempontból igen nagy jelentősége okán fontos kísérleti irányt jelentenek) **is láz-szerű hipertermiával válaszolnak a centrálisan alkalmazott CCK adagolásra, amelyhez a betegség-viselkedés más komponensei, az inaktivitás és anorexia is társul.** Mindezek az adatok a CCK-2 receptor komplex szerepére utalnak az anyagcsere-szabályozás folyamataiban. Idős korban mind a plazma CCK szintjének, mind a CCK hatékonyságának növekedéséről számoltak be, amelynek szerepe lehet az időskori anorexia és következményes sarcopenia kialakulásában⁶. Nem ismert azonban, hogy a CCK akut anorexigén hatása is mutat-e a melanocortinokéhoz hasonló korfüggő hullámozást, ugyanis ezt középkorúakban még nem tesztelték. A CCK hipermetabolikus hatásának korfüggő változását sem vizsgálták. **Kutatásainkat ezért kiterjesztettük a CCK akut katabolikus hatásainak komplex korfüggő vizsgálatára.**

Saját eredményeink alapján, a **perifériásan**, intraperitoneálisan **injektált CCK**-adását követően a centrális anorexigén melanocortinoknál leírtakhoz hasonló korfüggő mintát kaptunk: a növekedésben lévő (nagy energiaigényű) feltehetően nagy orexigén tónussal bíró juvenilis csoportban csökkent, fiatal felnőttben erős válaszkésztséget, majd **középkorú állatokban csökkent anorexigén hatást észleltünk, elősegítve ezzel a középkorú korcsoportban az elhízás kialakulását.** A CCK-hatás **öreg**ekben újra felerősödik, hozzájárulva az időskori anorexia magyarázatához.

A **centrálisan**, intracerebroventricularisan **adott CCK anorexigén és hipermetabolikus/hipertermiás hatásai** viszont a fenti mintával **nem párhuzamosan változnak**: az életkorral fokozatosan csökkennek. Ezek az adatok arra utalnak, hogy a **kétféle CCK-receptor különböző szerepet játszik az energiaháztartás szabályozásában és annak korfüggő eltéréseiben.**

1. 4. Az anabolikus neuropeptid Y

Míg a korábbi irodalmi adatok az NPY orexigén hatásának fokozatos korfüggő csökkenésére utaltak, a projekt során végzett méréseink azt mutatták, hogy az intracerebroventricularis NPY injekciót követő első órában a fiatal felnőtt (NF3-4) állatokéhoz képest erősebb táplálékfelvétel-fokozódás alakult ki a náluk idősebb (NF6) és középkorú (NF12) csoportban. A különbség a három órás megfigyelési periódusban fennmaradt. Noha a középkorú állatok testtömege nagyobb volt, a napi tápfelvételük nem különbözött jelentősen a fiatalabbakétól, ehhez viszonyítva is kimutatható a

mérsékelten nagyobb peptidhatás, ami csak az öreg (NF24) állatokban csökkent szignifikánsan. Ez utóbbi öreg korcsoport sem tápfelvételében, sem testtömege tekintetében nem tért el az NF12 csoporttól. (Így a napi tápfelvétel vagy testtömeg különbözősége nem magyarázhatja az NPY-ra adott eltérő válaszkészséget a középkorú, ill. öreg korcsoportokban.)

Tehát az eddigiekben vizsgált négy fontos katabolikus rendszer (leptin, melanocortinok, corticotropin és perifériás CCK) anorexigén hatása jellegzetes korfüggő mintát mutat: középkorú állatokban csökken, öregekben nő. Ezzel szemben a középkorúakban fokozott, NPY által kiváltott orexigén hatás öregekben megszűnik. Ezek a megfigyelések hozzájárulhatnak a középkorúakban megfigyelt elhízás, ill. az időskori anorexia és fogys/sarcopenia magyarázatához.

A legfontosabb katabolikus mediátorok anorexigén és hipermetabolikus/hipertermiás hatásai az életkorral nem párhuzamosan változnak, ami feltehetően szintén a szabályozási folyamatok öregedéssel bekövetkező jellegzetességének tekinthető.

2. A tápláltsági állapot módosító szerepe az energiaháztartás regulatórikus peptidjeinek korfüggő hatás-változásaiban

2.1. Leptinhatások változása a testösszetétel függvényében

A leptin termelődése elhízottakban fokozódik, katabolikus hatása viszont csökken, ez a leptinrezisztencia pedig további testtömeg-növekedést okoz. A középkorúak elhízását kísérő leptinrezisztencia hátterében önmagában az öregedést is etiológiai tényezőnek tartják. Kísérleteinkben 6 hetes koruktól kalóriarestriktív (CR) vagy zsírdús diétán (HF) tartott állatokban azt vizsgáltuk, milyen mértékű a kor, ill. a testösszetétel szerepe a leptin anorexigén, ill. hipermetabolikus hatásainak változásaiban.

A **zsírdús táplálás felgyorsította** és fokozta a **leptinrezisztencia kialakulását**, HF állatokban 7-napos intracerebroventricularis leptin infúzió nem csökkentette a testtömeget (1. ábra). A rezisztencia **előbb**, azaz 6 hónapos korban (HF6) a leptin **hipermetabolikus/hipertermiás hatásának eltűnésében jelentkezett, később**, 18 hónapos állatokban (HF18) teljessé vált, **az anorexia hiányában is** megnyilvánult. A fenti jelenséget a leptin akut metabolikus/hőszabályozási hatásaira (koordinált, azaz oxigénfogyasztás-emelkedéssel és hőleadás-csökkenéssel járó, a környezeti hőmérséklettől függő hipertermia) vonatkozóan kalorimetriás méréssel is igazoltuk. A leptinrezisztencia tehát mind elhízott középkorú, mind normál táplálású öregedő-öreg csoportokban elsősorban a leptin hipermetabolikus hatását érinti. (A leptin által kiváltott anorexia az öregedő-öreg korcsoportokban megtartott, sőt a legöregebb csoportban felerősödik v.ö. 1.1.)

Tartós kalóriarestriktív segítségével a test zsírtartalmát alacsonyan tartva, mind középkorú, mind öreg patkányokban **fokozott leptinérzékenységet** találtunk, méréseink alapján a kalóriarestriktív **szignifikánsan fokozta a leptininfúzió/injekció szívfrekvencia és testhőmérséklet alapján jelzett hipermetabolikus hatásait minden életkorban**. Nem alakult ki valódi leptinrezisztencia még valóban öreg, 24 hónapos (CR24) állatokban sem. A más kutatócsoportok által is leírt, kísérleteinkben a fiatal és középkorú CR6 és CR12 állatokban a leptin anorexigén hatására kimutatott rezisztencia ilyen állatokban csupán látszólagos (az éhezési állapot által aktivált orexigén mediátorok fokozott tónusa, pl. az NPY fokozott expressziója túlsúlyba kerülhetett az exogén leptin anorexigén hatásával). **Meglepő módon a leptin anorexigén hatásának felerősödését igazoltuk öreg CR24 állatokban, akárcsak korábban az NF24 állatok esetén. Ez megerősítette a leptin anorexigén hatásának időskori fokozódására vonatkozó megfigyelésünket.** A CR24 állatokban megjelenő anorexia az erőteljes

hipermetabolikus hatással együtt összességében kifejezett katabolikus hatást eredményezett, a testtömeg szignifikáns csökkenéséhez vezetett (1. ábra).

Tehát az elhízás csökkenti, a kalóriarestrikción fokozza a leptin hatékonyságát, különösen idős korban. Ez aláhúzza az életmódi tényezők jelentőségét. **A leptin anorexigén és hipermetabolikus hatásai szétváltnak, a tápláltsági állapottal változó testösszetétel (HF vagy CR) elsősorban a hipermetabolizmust befolyásolja.**

2.2. Centrális melanocortinhatás változása a testösszetétel függvényében

A melanocortinok centrális katabolikus hatása a különböző energetikai paraméterek tekintetében nemcsak a kor, hanem a testösszetétel függvényében is differenciáltan változik. **Kalóriarestrikción mellett a leptinhez hasonlóan fokozott érzékenységet figyeltünk meg** (alpha-MSH injekció/infúzió hipermetabolikus hatása nőtt CR6 és idősebb CR csoportokban). Az elhízás mellett kialakuló **leptinrezisztencia ellenére a melanocortin rendszer érzékenysége** (alpha-MSH hipermetabolikus hatásai) **részben megtartott** maradt, ami a melanocortin rendszert a leptintől független módon aktiváló mechanizmusok jelentőségét húzza alá.

2.3 Perifériás cholecystokininhatás változása a testösszetétel függvényében

A leptin kapcsán észleltekkkel ellentétben, a HF6 csoporthoz képest HF18 állatokban az alpha-MSH katabolikus hatása nem csökkent tovább, sőt bizonyos paraméterek tekintetében inkább növekedést mutatott, ami arra utal, hogy a zsírdús táplálás által felgyorsuló öregedési folyamatok az öregkori hatásfokozódást is előrébb hozhatják. Utóbbi feltételezésünket a perifériás CCK injekciója anorexigén hatásának vizsgálatával alá tudtuk támasztani. A CCK fent bemutatott korfüggő változásait ugyanis a tápláltsági állapot/testösszetétel is befolyásolhatja, amit korábban még nem vizsgáltak.

Megfigyeléseink szerint a CCK-érzékenységet is jelentős mértékben befolyásolja a testösszetétel: **zsírdús diéta egyrészt már fiatalabb (6 hónapos HF6) életkorban előidézte a középkorú (12 hónapos NF12) csoportban látott (fent bemutatott) CCK-rezisztenciát.** Másrészt meglepő módon viszont az **elhízott középkorú csoportban (HF12) előrehozta az egyébként az öreg (NF24) állatokban újra megjelenő fokozott CCK-érzékenység kialakulását.** A kialakult anorexia elsődlegesen az izomszövet vesztesét segíti elő, felgyorsítva a sarcopenia kialakulását. Az elhízás által kiváltott regulatorikus eltérések, így elhízott középkorú csoportban a CCK korábban felerősödő hatékonysága elősegíti az időskori anorexia és következményes sarcopenia kifejlődését. Tartós **kalóriarestrikción** alkalmazásával a **középkorúak CCK-rezisztenciája megelőzhető.**

Mindez azt is jelenti, hogy **a testösszetétel megváltoztatása (zsírdús táplálás vagy kalóriarestrikción) nemcsak a leptinrezisztenciát befolyásolhatja, hanem a centrális és perifériás peptiderg reguláció megváltoztatásával, az öregedés sebességét, az elhízás, ill. a késő öregkori sarcopeniás fázis megjelenését is felgyorsíthatja vagy lassíthatja.**

Kapcsolódó vizsgálatok, perspektívák

Eddigi eredményeinket hím Wistar patkányok vizsgálatával nyertük. Nőstény állataink testtömegének és táplálékfelvételének a hímekétől eltérő korfüggő változását figyeltük meg, ezért tervezzük méréseinket nőstényekben is elvégezni és a hímek válaszreakcióival összehasonlítani. Előzetes eredményeink szerint a CRF injekciót követő akut anorexigén hatás hím állatokban kimutatott korral egyenletesen csökkenő tendenciájával szemben a nőstények minden korcsoportjában szignifikáns

táplálékfelvétel-gátlás mutatkozott. A nemi különbségek háttérben az eltérő testtömeg fejlődés szerepe, illetve endokrin, elsősorban anorexigén ösztrogén hatások feltételezhetőek.

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

Ismert, hogy a CCK hatásának közvetítésében fontos szerepet játszanak capsaicin-érzékeny abdominalis afferens vagus rostok, amelyek sok információt szállítanak a n. tractus solitarii felé, ahonnan többek között a hypothalamus magokat befolyásoló összeköttetések is származnak. Korábbi vizsgálatainkban azt találtuk, hogy abdominalis vagus afferensek kis dózisú, átmeneti capsaicin-deszenzitizációja után patkányban az éhezésre kialakuló hipometabolizmus (ami katabolikus rendszerek szuppresszióját, esetleg anabolikusok erősödését jelenti) mérsékeltebb, ami fokozott testsúlyvesztést eredményez⁷. Hasonlóképpen mérsékeltebb éhezési hipometabolizmusra utal a capsaicin receptorára, a TRPV1 receptorra nézve knockout egerekben az a megfigyelés, hogy cirkadián hőmérsékleti változásaik nappali (inaktív periódus) mélypontjai az éhezés során kevésbé csökkentek, mint a vad-típusú egerekben⁸. Ennek alapján tervezzük a regulatórikus peptidekkel kapcsolatos vizsgálatokat különböző korú TRPV1 hiányos egértörzsön is elvégezni, valamint orexigén és anorexigén peptidek hypothalamusbeli expressziójának (ill. receptoraik expressziójának) vizsgálatával az öregedési folyamatokban elsődlegesen érintett peptideket kimutatni és élettani eltérésekre, perifériás ingerekre adott változásaik korfüggését keresni.

A kutatási programban szereplő melanocortinok nemcsak az anyagcserét szabályozzák, hanem a szívfrekvencia bemutatott növelése mellett befolyásolják a szimpatikus idegrendszert és a vérnyomást. Ennek jelentőségére utal, hogy a melanocortin rendszer kiemelt szerepét feltételezik a hipertonia kutatására kifejlesztett spontán hipertenzív (SHR) patkányokban. Az SHR állatok testtömege és energiabevitele elmarad a normotenzív kontrollokétól. Testtömegük még zsírdús diétával sem éri el a normál táplálású kontrollokét. Ezek a megfigyelések ezen patkányok energia-homeosztázisának szabályozási zavarára utalnak, amelyben feltételezhetjük a katabolikus melanocortinok túlműködésének szerepét. Komplex vizsgálati lehetőségeinket kihasználva nyert előzetes eredményeink igazolni látszanak feltételezésünket.

IRODALOMJEGYZÉK:

- ¹Sakuma K, Yamaguchi A: Sarcopenic Obesity and Endocrinal Adaptation with Age. *Int J Endocrinol* 2013: 204164 (2013)
- ²de Lartigue G., Barbier de la Serre C., Espero E., Lee J., Raybould H.E.: Leptin resistance in vagal afferent neurons inhibits cholecystokinin signaling and satiation in diet induced obese rats. *PLoS One*. 7: e32967. (2012)
- ³Gibbs J, Young RC, Smith GP: Cholecystokinin decreases food intake in rats. *J Comp Physiol Psychol* 84:, 488-495 (1973)
- ⁴Mercer LD, Le VQ, Nunan J, Jones NM, Beart PM: Direct visualization of cholecystokinin subtype 2 receptors in rat central nervous system using anti-peptide antibodies. *Neurosci Lett* 293: 167-170. (2000)
- ⁵Szelényi Z, Barthó L, Székely M, Romanovsky AA: Cholecystokinin octapeptide (CCK-8) injected into a cerebral ventricle induces a fever-like thermoregulatory response mediated by type B CCK-receptors in the rat. *Brain Res* 638: 69-77 (1994)
- ⁶MacIntosh CG, Morley JE, Wishart J, Morris H, Jansen JB, Horowitz M, Chapman IM: Effect of exogenous cholecystokinin (CCK)-8 on food intake and plasma CCK, leptin and insulin

- concentrations in older and young adults: evidence for increased CCK activity as a cause of the anorexia of aging. *J Clin Endocrinol. Metab* 86: 5830-5837 (2001)
- ⁷ Garami A, Balaskó M, Székely M, Solymár M, Pétervári E: Fasting hypometabolism and refeeding hyperphagia in rats: Effects of capsaicin desensitization of the abdominal vagus. *Eur. J. Pharmacol.* 644 (1-3): 61-66 (2010)
- ⁸ Kanizsai P, Garami A, Solymár M, Szolcsányi J, Szelényi Z: Energetics of fasting heterothermia in TRPV1-KO and wild type mice. *Physiol Behav.* 96(1):149-54. (2009)