

F48783 A depresszió és a hypothalamo-hypophysis-mellékvese tengely, különös tekintettel a vazopresszin szerepére

IN67249 A hypothalamicus vazopresszin elválasztás szerepe a depresszió-szerű tünetek kialakulásában

Az Egészségügyi Világszervezet legújabb adatai szerint a modern társadalmakat gazdaságilag leginkább sújtó betegségek listáján az első öt betegség mentális természetű. Az első helyen áll az unipoláris, a negyediken a bipoláris depresszió, így érthető, hogy ennek a betegségnek a kutatása nagyon fontos. A nagyszámú rendelkezésre álló gyógyszer ellenére a depresszió kezelése nem tekinthető megoldottnak, az antidepresszánsok csak mintegy két hét után kezdenek hatni és sok a terápiarezisztens eset. Ismert a depresszió szoros kapcsolata a stresszel, a hypothalamo-hipofízis-mellékvese (HHM) tengely aktivációval, így legújabb kutatások a stresszszabályozás befolyásolásán keresztül kívánnak pozitív terápiás hatást elérni. Vizsgálatainkban arra a kérdésre kerestük a választ, hogy a vazopresszin, mint fontos HHM tengely szabályozó molekula, képes-e jótékonyan befolyásolni a depressziós tünetek kialakulását. A klinikai kutatások előfázisának tekintett állatkísérletes modelleket alkalmaztunk és vizsgálatainkat jórészt természetes mutációval vazopresszin hiányossá vált Brattleboro patkányokon végeztük.

I. Első vizsgálataink arra irányultak, hogy a vazopresszin hiánya Brattleboro patkányban "kevésbé depressziós" patkányt idéz-e elő?

Beállítottuk és Brattleboro patkányainkon elvégeztük az állatok általános állapotát vizsgáló teszteket (izomerő-wire suspension, mozgáskoordináció-rotarod, mozgékonyág-openfield) és megállapítottuk, hogy a vazopresszin hiánya nem befolyásolta az állatok általános állapotát, azaz ezen állatok alkalmasak magatartási tesztekre. Cukor preferencia tesztben sikerült igazolnunk, hogy a vazopresszin hiányában jobban kedvelik a patkányok a cukros vizet, ami hedóniás állapotokra utal. Kényszeres úszás tesztben a vazopresszin hiányos állatok kevesebb időt töltöttek immobilis helyzetben, ami arra utal, hogy kevésbé lennének depressziósok. A dexametazon szupressziós teszt is alátámasztotta, hogy vazopresszin hiányában jobban érzékenyek az állatok a dexametazon hatásra, ami szintén egy kevésbé depressziós patkányra utal. Mindezen eredményeinket a **Hormones and Behaviour** című lapban közzétettük (2007) és több konferencián beszámoltunk róla.

-12. Biológiai Pszichiátriai Konferencia, Luhacovice, **Csehország 2005.** június 15-18 (meghívott előadás)

-XXV CINP Congressus, Chicago, **USA, 9-13 July, 2006** (meghívott előadó)

-6th World Congress on Stress, Vienna, **Austria, 11-13 October 2007** (Symposium rendező)

-Medbio-2008& third Industry Academia Meet, 14-16 february, **2008**, Bhopal, **India**
(meghívott előadó)

Az ellentmondó irodalmi eredmények szükségessé tették a kényszeres úszás teszt alaposabb vizsgálatát: imipraminnal (antidepresszáns) sikerült validálni a tesztet és azt is kimutatni, hogy az ACTH emelkedés csökken a teszt végén, de a kortikoszteron emelkedés nem változik ezekben az állatokban. További, Wistar patkányokon végzett vizsgálataink során a teszt körülményeinek hatását vizsgáltuk a lebegéssel töltött időre, mint fő vizsgált paraméterre és a párhuzamos HHM tengely változásokat is nyomon követtük. Különböző súlyú állatok magatartását vizsgáltuk különböző vízmélység esetén, illetve a világosban és sötétben végzett kísérletek hatását is összehasonlítottuk, valamint a víz hőmérsékletének hatását is feltérképeztük. Az eredményeket kiértékeljük és 1 éven belül tervezzük közzéadni. Reményeink szerint ez a hiánypótló alapmű számos kutatót segít majd eligazodni a megfelelő kísérleti paraméterek kiválasztásában.

II. Következő célkitűzésünk az volt, hogy a vazopresszin szerepét depressziót létrehozó állapotokban is megvizsgáljuk.

A szaglőlebens eltávolítására (OBX) a SOTE Farmakológiai tanszékével közösen végeztünk előzetes teszteléseket Wistar patkányokon annak megállapítására, mely paraméterek tekinthetők megfelelő depresszió-szerű elváltozásoknak. Az állatok állatános paramétereiben (izomerő-wire suspension, mozgáskoordináció-rotarod) nem találtunk változást, ami alkalmassá teszi ezeket az állatokat magatartás tesztekben történő vizsgálatra. Az openfield tesztben sikerült igazolnunk a hiperlokomóciót, amit kiterjedten használnak antidepresszánsok tesztelésére, mivel ez egyszerűen mérhető paraméter és a gyógyszerek csökkentik. Mindemellett a humán gyakorlatban megfigyelhető klinikai szimptomákkal csekély az összefüggése. Sikerült igazolnunk az emelkedett kortikoszteron szintek kialakulását is, ami irodalomból ismert és összefügg a depressziós betegekben is megfigyelt fokozott HHM tengely aktivitással. Sem a cukort preferencia tesztben, sem a szorongás mérésére alkalmazott emelt keresztpalló tesztben (EPM), sem a depresszió-szerű tünetek monitorizálására szolgáló kényszeres úszás tesztben nem találtunk különbséget az álműtött és OBX-es csoport között. Így arra a következtetésre jutottunk, hogy az OBX nem tekinthető igazán jó depresszió modellnek, ezért a Brattleboro patkányok ebben a modellben való tesztelését nem végeztük el. Erről a negatív eredményről egy hazai konferencián számoltunk be.

- XI. MITT Konferencia, **Szeged, 2007**. január 24-27 (poszter)

Krónikus megjósolhatatlan stresszt (CMS) is alkalmaztunk Brattleboro patkányokon és előzetes eredményeinkről a **Clinical Neuroscience** című havilapban adtunk számot. A

kontrollokban a krónikus enyhe stressz létrehozta a jellemző szomatikus (súlynövekedés elmaradása, csecsemőmirigy beolvadás) és endokrin (nyugalmi plazma ACTH és kortikoszteron, valamint hipofízis első lebeny POMC mRNS szint emelkedés) változásokat. Várakozásunkkal ellentétben a vazopresszin hiánya egyik változást sem befolyásolta. Eredményeink arra utaltak, hogy vagy a vazopresszin nem elengedhetetlen a krónikus stressz által előidézett HHM tengely elváltozások kialakulásához, vagy a Brattleboro állatainkban a vazopresszin szerepét valamilyen más kompenzáló tényező (pl. CRH) veszi át. Az in situ hibridizációs vizsgálatok végzése/értékelése jelenleg is folyik, így ezen kísérletből származó magatartási és HHM tengelyre vonatkozó eredményeink teljes közzétevése 1-2 éven belül várható.

A gyerekkori szeparáció depressziót okozó hatásának jobb megértéséhez az azonnali hatásokat is tanulmányoztuk. Úgy találtuk, hogy a 10 napos kispatkányban egyszeri 24 órás anyai elválasztásra jelentős ACTH és kortikoszteron emelkedés jön létre, azonban az ACTH emelkedés vazopresszin hiányában elmarad. Mind a vazopresszin perinatális HHM szabályozásban betöltött szerepe, mind az ACTH és kortikoszteron válasz különválása olyan fontos és érdekes eredménynek tűnt, hogy számos további vizsgálatot végeztünk ebben az irányban. Első eredményeinket az **Endocrinology** című újságban közzétettük. Megállapítottuk, hogy nem csak egyféle stresszben, hanem az anyai szeparációtól merőben különböző stimulus, a hipnorm injekció esetén is látható a vazopresszin ACTH elválasztásban betöltött fontos szerepe, de az ACTH és kortikoszteron szekréció disszociációja is. Ez a jelenség nem korlátozódik a 10 napos korra, hanem mind az 5, mind a 20 napos patkányokban megfigyelhető, azaz az egész perinatális periódusra jellemző. Az ACTH és kortikoszteron szekréció disszociációja nem a két hormone időbeli eltérő lefutásának következménye, és nem magyarázható teljesen a vazopresszin hiányos állatokban megfigyelhető ACTH iránti mellékvese érzékenység növekedéssel. További kísérleteinkben felnőtt és 10 napos vazopresszin hiányos állat HHM aktivációját hasonlítottuk össze éter belélegzés stresszének hatására. Azt tapasztalhattuk, hogy míg perinatálisan a vazopresszin ACTH elválasztást szabályozó szerepe igen jelentős, addig felnőtt korra ez a hatás eltűnik. Ezzel ellentétben a vazopresszin hiánya a kortikoszteron válaszokban egyik korban sem követhető nyomon. Eredményeinket a **Stress** című folyóiratba küldtük el közzétevése céljából. Hasonló összehasonlító vizsgálatot végeztünk a kannabinoid agonista WIN 55,212-2 felhasználásával, mely eredményeket a **J Neuroendocrinol.** újságba küldtük el közzétevése céljából. A nőstény és hím kispatkányok adatait összehasonlítva kiderült, hogy kisebb különbség megfigyelhető a nemek között, bár az éretlen szexuális tengely miatt általában a kispatkányok nemével nem szoktak foglalkozni. A nemi különbségek a mechanizmusokat nem érintették (a vazopresszin ACTH

elválasztást szabályozó szerepe fontos mindkét nemből és az ACTH és kortikoszteron szekréció disszociációja is mindkét nemből megfigyelhető), de már perinatálisan kimutatható egy aktívabb HHM tengely jelenléte a nőstényekben (emelkedett ACTH és kortikoszteron szintek). Ezen eredményeket Smolenicében mutattuk be és a konferencia kapcsán az **Annals of New York Academy of Sciences**-ben fog megjelenni 2008-ban.

- Ninth symposium on Catecholamines and Other neurotransmitters in stress, Smolenice, **Slovakia 2007**. június 16-21 (meghívott előadás)

A gyermekkori anyai szeparáció felnőttkori hatásait is tanulmányoztuk Brattleboro patkányokban. Azt találtuk, hogy a 10 napos kispatkányok anyjuktól való egyszeri, 24 órás elválasztása csak enyhe, tendenciózus változásokat idéz elő felnőtt korban. Bár ezek a tendenciák (csökkent táplálékfelvétel, fokozott szorongás az EPM tesztben és emelkedett depresszió-szerű magatartás a kényszeres úszás tesztben, valamint emelkedett nyugalmi kortikoszteron szintek) a vazopresszin hiányos állatokban nem jelentkeztek, mégsem mondhatjuk egyértelműen, hogy a vazopresszin védő hatású volt. Ezért szükségesnek tartottuk egy korábbi időpont vizsgálatát is, amikor feltehetőleg még a kompenzáció nem alakul ki és az anyai szeparáció hatásai kifejezettebbek lehetnek. Ezen kiegészítő vizsgálatot 2007 folyamán végeztük el, a magatartási eredményeket már feldolgoztuk, és sikerült igazolnunk a vazopresszin védő hatását. Mivel az agyminták feldolgozása még folyamatban van, ezért az eredmények közzétevése 1-2 éven belül várható.

III. Következő célkitűzésünk volt annak megállapítása, hogy az antidepresszáns kezelés rendezi-e a Brattleboro patkányokban megfigyelhető, depresszióra jellemző elváltozásokat?

Ehhez 4 héten keresztül ozmótikus minipumpa segítségével folyamatos escitalopram (antidepresszáns) kezelést kaptak az állatok és a 2. héttől magatartási teszteket végeztünk rajtuk. Sikerült megerősíteni, hogy a vazopresszin hiányos állatok kevésbé szoronganak az emelt keresztpalló (EPM) tesztben, illetve kevésbé tekinthetők depressziósoknak a kényszeres úszás tesztben (FST), de az escitalopram hasonló hatásúnak tűnt ezekre a paraméterekre. Ezzel ellentétben az escitalopram hatására kialakult POMC mRNA emelkedés a Brattleboro patkányokban nem volt kimutatható. Ez is alátámasztja korábbi nézetünket, miszerint a vazopresszin depresszióban betöltött szerepe nincs szoros összefüggésben a HHM tengelyre gyakorolt hatásával, így antidepresszáns gyógyszerként valószínűleg inkább a V1a receptor antagonisták kerülhetnek szóba. Nemzetközi együttműködésben az agyminták különféle szerotonerg marker irányába PCR elemzésre kerültek, az eredmények függvényében a közzétevése 2 éven belül kerülhet sor.

IV. Időközben a pályázat nemzetközi együttműködéssel egészült ki.

Először olyan magatartási-stressz modellt kerestünk, ahol a vazopresszin szerepe egyértelműnek tekinthető mind a depresszió-szerű tünetek kivédésében, mind a HHM tengely aktiváció csökkentésében. Ehhez számos stimulust alkalmaztunk és eredményeinket az **Endocrinology** című újságba küldtük el közlésre. Megállapítottuk, hogy a vazopresszin felnőtt korban stressz-specifikusan hat a HHM tengely működésére, de ez nem függ a stressz fajtájától (enyhe-erős, fizikai vagy emocionális). A felnőtt állatokban is kimutatható volt az ACTH és kortikoszteron válasz disszociációja.

Mivel fenti vizsgálataink is arra utaltak hogy a vazopresszin nem a HHM tengely működésén keresztül hat a depresszióra, ezért megvizsgáltuk azt a felvetést, hogy a nucleus paraventricularis hypothalamiban (PVN) extracellulárisan ürülő vazopresszin lehet-e a kapocs a stressz és az érzelmek között. A PVN-be ültetett mikrodialízis mintavevő segítségével megállapítottuk, hogy a Brattleboro patkányokban a hiányzó vazopresszint valószínűleg az oxytocin emelkedés pótolja. Ez a pótlás azonban nem teljes, mivel kiesik a vazopresszin paracrin szerepe, ami segíti az oxytocin szintek alap állapotra történő visszatérését. Ez az emelkedett oxytocin direkt mellékvese hatáson keresztül emelkedett kortikoszteron szinteket tarthat fenn, melynek ismertek a magatartásra gyakorolt hatásai is. Ezen eredményeket az **Eur. J. Neuroscience** újságba küldtük el közlésre.

Hasonló vizsgálatokat végeztünk a supraopticus mag (SON) vonatkozásában is, mely eredmények kiértékelése még folyamatban van (a dialízis minták mérése Münchenben történik), és közlésük 1-2 éven belül várható.

A perinatális korban kapott meglepő eredményeink hatására nemzetközi együttműködésünket erre a területre is kiterjesztettük és megvizsgáltuk, hogy a kispatkányok katekolaminerg rendszerét hogyan befolyásolja a vazopresszin hiánya. Az elképzelésünkkel ellentétben nem találtunk kompenzációs katekolamin emelkedést sem a mellékvese tartalmát sem a plazmaszinteket vizsgálva. Ezeket az eredményeket Smolenicében mutattuk be és a konferencia kapcsán az **Annals of New York Academy of Sciences**-ben fog megjelenni 2008-ban.

- Ninth symposium on Catecholamines and Other neurotransmitters in stress, Smolenice, **Slovakia 2007**. június 16-21 (díjazott poszter)

Kérem, az értékelésnél vegyék figyelembe, hogy 6 cikk már elküldésre került és további 5 közlése 2 éven belül várható.