

Általános bevezetés

A jelen pályázat keretében C57/BL6, valamint két különböző típusú génkiütött (TRPV1-KO és SSTR4-KO) egerek vizsgálatát végeztük biotelemetriás módszerrel (MINIMITTER) a maghőmérséklet és lokomotor aktivitás viselkedésének megismerése céljából. Az alkalmazott környezet hideg (4-5 °C), enyhén hűvös (23-24 °C) vagy semleges (27-28 °C) hőmérsékletű volt. Az állatokat normális rágcsálótápon vagy speciális zsírban gazdag tápon tartottuk. Utóbbi táp (TestDiet 58Y1) energiájának zsírtartalma 60% volt. Egyes kísérletekben 2-3 napos, illetve zsírdús tápon tartott elhízott (DIO) egerek esetében többhetes teljes éheztetést alkalmaztunk szabad vízfelvétel mellett.

Egy kísérletsorozatban ismételt hasi laparotomiát alkalmaztunk általános anesztéziában, amely beavatkozás mindenben megegyezett a biotelemetriás transzmitter hasüregbe történő implantációjánál alkalmazott eljárással. E kísérletek során különböző anyagok adását végeztük subcutan (sc) vagy intraperitoneális (ip) injekciók, illetve ip vagy intracerebroventrikuláris (icv) infúzió formájában (egér sztereotaxikus készülék, Narishige, Japán). Utóbbi esetében ALZET minupumpát alkalmaztunk, amit általános anesztéziában implantáltunk és az infúziót 3 vagy 7 napon keresztül alkalmaztuk. Egy kísérletben az ivóvízzel vittünk be anyagot.

A többi kísérletben normális súlyú, elhízott vagy génkiütött egerek hőregulációját, lokomotor aktivitását és testsúlyát vizsgáltuk rövidtávú teljes éhezés és újratáplálás során. További esetekben intracerebroventrikuláris (icv) vagy perifériás anyagbevitel hatásait vizsgáltuk az említett energetikai komponensekre. Még jelenleg is folyó és a jelen a közeljövőben megvalósítandó kísérletek során lázreakciót igyekeztünk kiváltani icv infúziókkal. Néhány hónapon belül ob/ob egerek éhezésre kapott energetikai válaszait kívánjuk analizálni és összehasonlítani a diétás elhízás alatt nyert most közlés alatt lévő eredményeinkkel.

Egy megfigyelés-sorozatban ortopédiai beteganyagban és egy kontrol betegcsoportban non-invazív vizsgálatot végeztünk a testhőmérséklet napszaki ingadozásainak megismerése céljából.

Az elért eredmények ismertetése

1. A biotelemetriás transzmitter általános anesztézia alatt történő ip implantációját követően jól ismert módon 4-6 napra van szükség a maghőmérséklet és aktivitás nokturnális típusú napszaki hullámozása amplitúdójának stabilizálódásához. Megfigyeléseink szerint az altatásban végzett álműtét (laparotomia) 4-6 naponként megismételt elvégzését követően ez az idő folyamatosan rövidül és a 2-3. napon stabilizálódik. Melatonin itatással sikerült a testhőmérséklet-hullámozás visszaállítását tovább rövidíteni, ugyanakkor krónikus perifériás methylprednisolon kezelés e ritmus visszaállítását lelassította. (1 eredeti közlemény)

2. Egerek 2-3 napos teljes éheztetése a testtömeg 15-20%-os csökkenése mellett a napszaki testhőmérsékleti hullámozások amplitúdójának növekedéséhez vezet úgy, hogy csupán az inaktív (nappali) maghőmérséklet csökken progresszív módon (28-30 °C-ig), míg az aktív (éjszakai) normothermia megmarad. Az éjszakai normothermiát az ugyanekkor kialakuló egyre növekvő fizikai aktivitás biztosítja az energiahányos állapotban. E vizsgálatokat megismételtük TRPV1-KO egereken is és azt találtuk, hogy utóbbiakban a nappali maghőmérséklet csökkenés jóval kisebb, mint a vad típusú állatokban. Továbbá a vad típusú egerekben a hőmérsékleti ritmus éhezés alatt több órával siet (az állat anticipálja a táplálék-

visszaadás idejét a korábbinál előbb kialakuló fokozott aktivitással), amely jelenség a TRPV1-KO egerekben nem látható. (megjelent eredeti közlemény)

3. Az egér energetikájának egy további aspektusa is látóterünkbe került, amikor a rövid távú hidegalkalmazkodás (4 °C-os hőmérsékletre) dinamikáját kezdtük el vizsgálni, kontrollként patkányt használva (utóbbiban ez a jelenség már ismert, bár telemetriás adatok még ebben a speciesben sem nagyon állnak rendelkezésre, de egerben még egyáltalán nem vizsgálták). Hidegben az egerek lokomotor aktivitása növekedett és a maghőmérséklet napszaki hullámzása megszűnt. Utóbbi csak 4-5 nap után tért vissza a korábbi szintre. Folyamatos methylprednisolon kezelés szignifikánsan felgyorsította a hidegadaptáció folyamatát (kongresszusi beszámoló).

4. A 2-3 napja éhező egér hypothermiás állapotában (reggel) visszaadott táp (re-feeding) hatására gyorsan (egy órán belül) normothermia alakul ki, ugyanakkor a fizikai aktivitás alig nő, vagy egyenes csökken. E jelenség (és az éhezés alatti "heterothermia") kvalitatíve nem módosul a hőtermelést (s így a normothermiát) biztosító ismert mechanizmusokat módosító eddig vizsgált anyagok tartós alkalmazásakor. A perifériás szimpatikus transzmisszió gátlása (guanethidin ismételt injekciója) alig változtatta az éhezésre kialakuló fokozott heterothermiát, míg az opiát-gátló naloxon vagy a didergést gátló mephenesin perifériás infúziója (ALZET minipumpa) szignifikánsan fokozta az éhezési heterothermia mértékét. (megjelent eredeti közlemény)

5. Mivel a refeeding alatt az intenzív rágással járó fokozott táplálékfelvétel részt vehet a normothermia gyors kialakulásában, ezért a fenti kísérletet megismételtük portáp és folyékony táp alkalmazásával is. Ekkor a re-feeding normothermia kialakulása valamivel lassabb volt, de az éhezés/újratáplálás többi energetikai hatása továbbra is megfigyelhető volt a lokomotor aktivitás növekedése nélkül. (kongresszusi beszámoló)

6. Zsírdús táp alkalmazásával (diet induced obesity, DIO egér) 3-4 hónap alatt kialakul a több mint 100%-os testsúlynövekedés. A zsírdús táp alkalmazása két napon belül emeli az átlagos maghőmérsékletet úgy, hogy az éjszakai maximum nem változik, csak a nappali minimum emelkedik (azaz csökken a napi maghőmérséklet-hullámzás amplitúdója). A lokomotor aktivitás közben nem változik, vagyis DIO táp hatására kialakuló elhízást az energia-felvétel fokozódása hozza létre. (beküldött eredeti közlemény).

7. DIO egerek – a normális testsúlyú egerekkel ellentétben - a teljes 3-4 hétig (!) képesek elviselni anélkül, hogy – a normális tápon tartott egereken általunk korábban megfigyelt progresszív nappali hypothermia kialakult volna, miközben testtömegük az elhízás előtti érték közelébe csökkent. A teljes éhezés elviselhetőségének határát megbízhatóan jelezte a nappali hypothermia kialakulása, mely után a re-feeding (újratáplálás) a normális tápon tartott egereken látott jelenség itt is kialakult; nevezetesen a maghőmérséklet néhány óra alatt normalizálódott, miközben az állatok lokomotor aktivitása alig változott. Ezt a kísérletet megismételtük középkorú (6-8 hónapos) és idősödő (11-12 hónapos) DIO egereken is hasonló eredménnyel. Az emberi elhízásban ismert jóval kisebb éhezési toleranciával szemben tehát egerekben az új, magas testtömeg megőrzésének az igénye nem figyelhető meg, de e jelenség hormonális hátterének megismerése további vizsgálatokat igényel. (beküldött eredeti közlemény)

8. Az elhízott egerek energetikájának további vizsgálata keretében az elhízás fennmaradását tartósan gátló ciliáris neurotrop faktor (CNTF, 720 ng/nap) 7-napos intracerebroventrikuláris (icv) infúzióját végeztük ALZET minipumpa alkalmazásával abból a célból, hogy az elhízás gátlásának alapjául szolgáló negatív energia-egyensúly paramétereit tanulmányozzuk. Az icv

kanül implantációja a jelen pályázat keretében beszerzett egér-stereotaxikus berendezés (Narishige) alkalmazásával történt. Eredményeink szerint CNTF icv infúziója átmenetileg csökkentette az egerek napi fizikai aktivitását és emelte a maghőmérsékletét, mely két tényező kombinációja egy lázreakciónak felel meg. Mivel ismert a CNTF jelentős anorexiás hatása, együttesen a peptid az ún. betegség-viselkedés jelenségét hozza létre elhízott egérben. Továbbá - váratlan megfigyelésként - az elhízás során kialakuló csökkent cirkadián maghőmérsékleti amplitúdó további redukcióját is tapasztaltuk a 7-napos infúzió ideje alatt. (beküldött eredeti közlemény)

9. Jól ismert a cholecystokinin (CCK) jóllakottságot kiváltó hatása rágcsálókban, korábbi vizsgálatainkban pedig bizonyítottuk a centrálisan adott CCK lázkeltő hatást is. Utóbbiról két felkért összefoglaló tanulmányunk jelent meg az elmúlt két évben (Szelényi, 2009, 2010). Mivel nincsen adat sem normális súlyú ill. elhízott egér centrális CCK által kiváltott lázreakciójáról, normális tápon tartott és DIO egerek agykamrájába CCK-8-t infundáltunk három napon át ALZET minipumpa segítségével. Eredményeink alapján a CCK-8 csökkenti a táplálékfelvételt és mérsékelt lázat vált ki normális és DIO egerekben is. (szerkesztés alatt lévő eredeti közlemény)

10. A TRPV1 receptorok éhezésben játszott szerepét TRPV1-KO egerek alkalmazásával a jelen pályázat keretében bizonyítottuk. A PTE ÁOK Gyógyszertani Intézettel való kollaborációban előkísérleteket végeztünk egy másik génkiütött (SSTR4-KO) egértörzsben. Kiderült ugyanis, hogy ez a somatostatin receptor fontos szerepet játszik capsaicin egyes hatásaiban és így érdekesnek kínálkozott ezen egértörzs energetikájának in vivo tanulmányozása. E kísérletek csak éppen megkezdődtek és a továbbiakban tervezzük ezen egerek biotelemetriás vizsgálatát diabetes mellitus-szal való kombinációban is, streptozotocin-model alkalmazásával. (kongresszusi közlés)

11. Nagy ortopédiai műtéten átesett betegekben a mag- és köpenyhőmérséklet napi hullámzásának amplitúdója 1-2 napig szignifikánsan csökken. Mivel klinikai körülmények között a környezeti viszonyok (léghőmérséklet, megvilágítás) nem standardizálhatók, kontrollálható, ezen eredmények csupán jelzés értékűeknek tekintetők, de mindenesetre hasonlóak az egérkísérletekben laparotomia után megfigyelt maghőmérsékleti válaszokhoz. (közlésre elfogadott eredeti közlemény)

12. Néhány hónap alatt várhatók azon egérkísérletek eredményei, amelyekben a 2011. januárban érkező genetikusan elhízott (ob/ob) egerek éhezés alatti energetikáját hasonlíthatjuk majd össze a DIO-egerek jelentős éhezési toleranciájával és hőregulációs változásaival.