

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

Dr. Garami András

Ph.D. hallgató

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.

Tartalomjegyzék

1. Bevezetés és irodalmi háttér

- 1.1. Az energetikai folyamatok általános jellemzői
- 1.2. Capsaicin (CAP) és a vanilloid receptorok szerepe az energetikai folyamatokban
- 1.3. Az alfa-melanocitastimuláló hormon (α -MSH) és más centrális neuropeptidok lehetséges szerepe

2. Célkitűzések, tervezett vizsgálatok

- 2.1. Célkitűzések
- 2.2. Tervezett vizsgálatok
 - 2.2.1. CAP-szenzitív abdominális vagális afferens rostok szerepének vizsgálata bakteriális endotoxin-indukálta polifázisos lázban
 - 2.2.2. CAP-szenzitív abdominális afferensek szerepének vizsgálata a spontán táplálékfelvételhez és az éhezéssel kapcsolatos energetikai folyamatokban
 - 2.2.3. A tranziens receptor potenciál vanilloid-1 (TRPV1) ioncsatorna szerepének vizsgálata éhezéssel kapcsolatos energetikai folyamatokban
 - 2.2.4. A TRPV1 ioncsatorna szerepének vizsgálata a fizioiógias testhőmérséklet fenntartásában
 - 2.2.5. A TRPV1 ioncsatorna tónusos aktivációjáért felelős tényező azonosítása
 - 2.2.6. Centrálisan adott α -MSH koordinált energetikai hatásainak részletes analízise
 - 2.2.7. CAP-szenzitív abdominális afferensek szerepének vizsgálata centrális NPY és α -MSH hatására kialakuló táplálékfelvételi változásokban

3. Anyagok és módszerek

- 3.1. Kísérleti állatok, tartásuk
- 3.2. Műtétek
- 3.3. Anyagcsere, hőleadás és maghőmérséklet mérése
- 3.4. Lázkeltés módja, vénás anyagadás, kanülök
- 3.5. Agykamrai injekció, ill. infúzió módszerei
- 3.6. Abdominális, perivagális deszenzitizáció (CAP előkezelések)
- 3.7. Éheztetés és újratáplálás, a táplálékfelvétel és a testsúly mérése
- 3.8. Statisztikai próbák

4. Eredmények

4.1. Stilisztikai megfontolások

4.2. Eredmények ismertetése

- 4.2.1. CAP-szenzitív abdominális vagális afferens rostok szerepe endotoxin által kiváltott polifázisos lázban
- 4.2.2. CAP-szenzitív abdominális afferensek szerepe táplálékfelvétel és éhezés alatti energetikai folyamatokban
- 4.2.3. A TRPV1 ioncsatorna szerepe éhezésben
- 4.2.4. A TRPV1 ioncsatorna szerepe a normális testhőmérséklet fenntartásában
- 4.2.5. A proton aktiváció gátlásának szerepe a TRPV1 antagonisták indukálta hipertermia kialakulásában
- 4.2.6. Centrálisan adott α -MSH koordinált energetikai hatásai
- 4.2.7. CAP-szenzitív abdominális afferensek szerepe a centrálisan adott NPY és α -MSH hatására kialakuló táplálékfelvételi változásokban

5. Megbeszélés

5.1. A kitűzött kutatási feladat

5.2. Eredmények megbeszélése, összefoglalás

- 5.2.1. CAP-szenzitív abdominális vagális afferensek és láz
- 5.2.2. CAP-szenzitív abdominális vagális afferensek: táplálékfelvétel és éhezés
- 5.2.3. A TRPV1 ioncsatorna és éhezés
- 5.2.4. A TRPV1 ioncsatorna és normális hőszabályozás
- 5.2.5. A TRPV1 ioncsatorna tónusos aktiváltsági állapotáért felelős faktorok
- 5.2.6. Az α -MSH és az energetikai folyamatok
- 5.2.7. CAP-szenzitív abdominális afferensek és az NPY-val illetve α -MSH-val kapcsolatos táplálkozási energetika

6. Az eredmények összefoglalása

7. Köszönetnyilvánítás

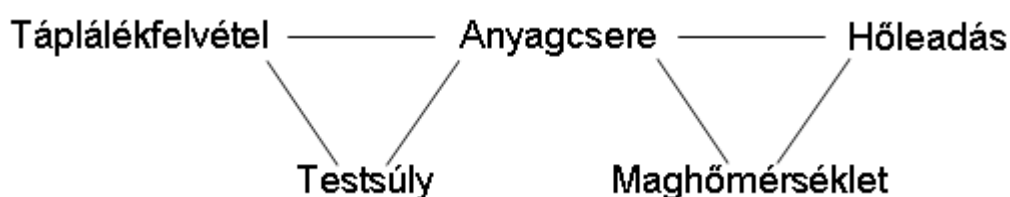
8. Rövidítések jegyzéke

9. Irodalomjegyzék

1. Bevezetés és irodalmi háttér

1.1. Az energetikai folyamatok általános jellemzői

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 (1. ábra). Egyik közülük a szervezet hosszútávú, míg a másik rövidtávú szükségleteit szolgálja, amelyek egymástól nem választhatók el és – mint arról a későbbiekben még szó lesz és az ábrán is látható – szoros egységet alkotnak.



1. ábra: Az energia-homeosztázis különböző tényezői között fennálló egyensúly sematikus ábrázolása. A táplálékfelvétel és az energiaforgalom határozza meg a testsúlyt a hosszútávú energetikai szabályozásban, míg az energiaforgalom és a hőleadás a maghőmérséklet meghatározásáért felelős a rövidtávú energetikai szabályozás keretében.

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 jóllakottságérzetten 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 megjelhetnek (Székely *et al.*, 2004; Székely &

Szelényi, 2005). 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 anyagcserének az egyensúlyán alapul, rajtuk keresztül a testhőmérséklet fenntartásáért felelős. A fiziológiás maghőmérséklet az előbbieken említett egyensúly stabilitásának köszönhetően viszonylag szűk tartományon, néhány tized Celsius fokon belül ingadozik (Bligh, 1998; Blatteis, 2000). Ennek megfelelően csökkent vagy emelkedett hőleadás (pl. hő-, ill. hideghatásra) az anyagcsere hasonló mértékű kompenzatórikus kisebbedését 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 kompenzálható (Szelényi & Hinckel, 1987). Az előbbi, passzív egyensúlyhiányokkal szemben, a hőszabályozási „set-point” értékének direkt megváltozása az egyensúly aktív, központi eltolódásában nyilvánul meg (Bicego *et al.*, 2007). Az egyik ilyen esetben a testhőmérséklet emelkedik, amit láznak nevezünk és kialakulhat például endotoxin hatására patkányokban (Székely & Szelényi, 1979); vagy a maghőmérséklet csökken, vagyis anapyrexia jelenik meg, például centrális serotonin hatására juhokban (Bligh, 1998). Mind a láz, mind pedig az anapyrexia a hőszabályozási effektorok koordinált változásain keresztül valósul meg: lázban a megnövekedett hőtermelés és csökkent hőleadás, anapyrexia esetén csökkent hőtermelés és fokozott hőleadás együttes kombinációján keresztül. Meg kell említeni azonban, hogy a hőszabályozási set-point elméletet napjainkban megkérdőjelezzük (Romanovsky, 2007). 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 (Romanovsky, 2004a, 2007).

Amint az az 1. ábrán látszik, 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 (Schwartz *et al.*, 1995; Porte *et al.*, 2002), éppúgy mint a posztprandiális hipermetabolizmus és hipertermia, továbbá a diéta-indukálta termogenezis (diet-induced thermogenesis) és a táplálkozás termikus hatása (thermic effect of food) egyaránt (Rothwell & Stock, 1982; Cannon & Nedergaard, 2004). 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 megőrzéséhez (Bing *et al.*, 1998). Hideghatással ellentétesen, lázzal járó betegségekre anorexia jellemző (Lennie, 1998) – 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 (részletekért ld. 1.2. és 1.3.).

1.2. Capsaicin (CAP) és a vanilloid receptorok szerepe az energetikai folyamatokban

A vanilloidok közül a legismertebb, az erőspaprikák többségének csipősségéért és irritáns hatásáért felelős CAP, vagy kémiai nevén: 8-methyl-N-vanillyl-6-nonenamide (Nelson, 1919). Először erről az anyagról nevezték el jelátviteli molekuláját a „capsaicin receptor”-t, amit a későbbiekben „vanilloid-1 receptor”-ra kereszteltek, napjainkban pedig „tranziens receptor potenciál vanilloid-1” csatornaként ismert.

A TRPV1 csatorna a tranziens receptor potenciál (TRP) szuperfamíliába tartozik, amelynek emlősökben kb. 30 tagja van, ezek 6 alcsoportba oszthatók, úgymint ankyrin (TRPA), canonical, melastatin (TRPM), polycystin, mucolipin és vanilloid receptorok. Közülük a hőhatásra aktiválódó TRPV1-4 és TRPM2, 4 és 5, valamint a hideghatásra aktiválódó TRPA1 és TRPM8 hőmérsékleti hatásokkal szemben mutatott különös

érzékenysége miatt a thermo-TRP csatornák közé sorolható (Patapoutian *et al.*, 2003; Dhaka *et al.*, 2006; Caterina, 2007). A thermo-TRP csatornák két kivételes tulajdonsággal bírnak: egyrészt aktiválódásukkor fokozódik a befelé irányuló nem-szelektív kation áramlás, következményesen a membránpotenciál növekszik, amely mechanizmus alátámasztja ezen csatornák perifériás (Okazawa *et al.*, 2002) és hipotalamikus (Hori *et al.*, 1999) termoszenzitivitásában betöltött szerepét. Másrészt, habár az egyes thermo-TRP csatornákra külön-külön egy viszonylag szűk hőmérsékleti aktiválási tartomány jellemző, együtt széles hőmérsékleti spektrumot fednek le a fájdalmas hideg ingerektől, fájdalmas meleg behatások érzékeléséig. Mindezek a tulajdonságok azt sugallják, hogy a thermo-TRP csatornák lehetnek a hőszabályozási rendszer azon régóta keresett elemei, amelyek a hőmérsékleti ingerek érzékeléséért felelősek. Tovább erősíti ezt a feltételezést, hogy a TRPV3 (Moqrich *et al.*, 2005), TRPV4 (Lee *et al.*, 2005) és TRPM8 (Bautista *et al.*, 2007; Colburn *et al.*, 2007; Dhaka *et al.*, 2007) ioncsatornák termorecepcióban betöltött fiziológiai szerepét már bizonyították. Nem tisztázott azonban, hogy előbbieik és a TRPV1 csatorna részt vesz-e – és ha igen, hogyan – a normál testhőmérséklet fenntartásában és annak szabályozásában.

A TRPV1 csatorna hővel, protonokkal és molekuláris ligandokkal aktiválható (Tominaga *et al.*, 1998), utóbbiakat összefoglaló néven vanilloidoknak nevezzük. Közéjük tartozik a korábban már említett CAP is, továbbá egy nála nagyságrendekkel hatékonyabb, szintén exogén vanilloid a resiniferatoxin (RTX), amely egyes *Euphorbia* növényfajokban fordul elő (Szállási & Blumberg, 1989). Előbbieken kívül meg kell említeni, hogy léteznek endogén vanilloidok is, ezeknek fiziológiai hőszabályozásban betöltött szerepe nem kellően tisztázott, annak ellenére sem, hogy közülük néhányra már kimutattak hipotermiás, illetve barna zsírszöveti termogenezist csökkentő hatást. Így például, az anandamide okozta hipotermiáról bebizonyosodott, hogy nem cannabinoid receptorok által mediált és feltehetően perifériás célpontokon keresztül jön létre (Di Marzo *et al.*, 2002). Oleoylethanolamide perifériás anyagadás esetén a testhőmérséklet csökkenéséhez vezet egerekben (Watanabe *et al.*, 1999), hipometabolizmushoz patkányokban (Proulx *et al.*, 2005). Végül, hasüregbe injektált N-arachidonoyldopamine szintén hipotermiát vált ki egerekben (Bisogno *et al.*, 2000).

Akut hőszabályozási hatások tekintetében az adatok döntő többsége exogén TRPV1 agonistákkal folytatott tanulmányokból származik. Akut *per os*, intravénás (IV), szubkután (SC), intramuszkuláris, intraperitoneális (IP), intratekális,

intracerebroventrikuláris (ICV), intrapreoptikus anyagadás esetén különböző állatfajokban (egér, patkány, tengerimalac, bizonyos mókusfélék, nyúl, vadászmenyét, kecske, macska, kutya) CAP és RTX hipotermiát okoz (Hori, 1984; Szállási & Blumberg, 1999; Szolcsányi, 2004). Más állatok, például a madárfajok érzéketlenek a CAP hipotermiás (és más, nem hőszabályozási) hatásával szemben (Pierau *et al.*, 1986; Szolcsányi *et al.*, 1986); ez a tulajdonság teszi képessé a madarakat, hogy csípős paprikát egyenek, egyúttal terjesszék annak magjait (Jordt & Julius, 2002). Termoeffektorok tekintetében a CAP-re vagy RTX-ra adott hipotermiás válaszban mind autonóm mechanizmusok, úgymint bőr-vazodilatáció, termoregulatórikus salivatio, hipometabolizmus (Szolcsányi & Jancsó-Gábor, 1973; Woods *et al.*, 1994), mind öröklött viselkedési mechanizmusok, például hidegpreferencia termográdiens apparátusban (Székely, 1986; Woods *et al.*, 1994; Almeida *et al.*, 2006), mind pedig tanult operáns viselkedési válaszok szerepet játszanak. Utóbbi megjelenhet fokozott pedál megnyomási frekvenciában, ha az a környezet lehűtését okozza, illetve csökkent pedál megnyomási frekvenciában, ha az a környezet fűtéséhez vezet (Hori, 1984).

Az akut hőszabályozási hatásokkal szemben a TRPV1 agonisták késői és ismételt krónikus adagolást követő hatásai összetettebbek, összefoglalóan a deszenzitizáció jelenségkörébe sorolhatók. A deszenzitizáció fogalmát eredetileg 1949-ben írták le (Jancsó & Jancsó, 1949), azóta általánosságban, CAP vagy RTX hatására kialakult, exogén vagy endogén vanilloidokkal és más – a TRPV1 csatornát expresszáló idegsejtet aktiváló, pl. fájdalmas hőhatás – stimulusokkal szemben mutatott neuronális inszenzitivitási állapot leírására használjuk (Szállási & Blumberg, 1999). A hatás időbeli és térbeli karakterisztikája több tényező függvénye: a kezelt állat életkora (újszülött, felnőtt), az adott anyag (CAP, RTX), annak dózisa, az anyagadás helye (centrális, perifériás) és módja (egyszeri, ismételt) együttesen határozzák meg a deszenzitizációs modell mintázatát. Előbbiek megfelelő kombinálásával létrehozható időben irreverzibilis vagy átmeneti; lokalizációjában szisztémás vagy testüregre korlátozódó, pl. IP deszenzitizáció.

A szisztémás deszenzitizáció legszélesebb körben vizsgált, patkányokban (Cabanac *et al.*, 1976), tengerimalacokban (Jancsó-Gábor *et al.*, 1970a), egerekben (Szelényi *et al.*, 2004) is leírt hőszabályozási hatása a különböző hőmérsékleti hatásokkal szembeni védekezőképesség mechanizmusa: hőterhelésnek kitéve a deszenzitizált állatok súlyos hipertermiával reagálnak, míg nem deszenzitizált társaik képesek megőrizni normál maghőmérsékletüket azonos körülmények között (Jancsó-Gábor *et al.*, 1970a, b;

Cabanac *et al.*, 1976; Obál *et al.*, 1980; Szolcsányi, 1983; Obál *et al.*, 1987; Szelényi *et al.*, 2004). A CAP-nel előkezelt állatok bőrhőmérséklete a hőterhelés során később kezd emelkedni és mindvégig alacsonyabb marad, mint a kontroll állatcsoporté (Obál *et al.*, 1980; Székely & Romanovsky, 1997). Ez pedig azt jelenti, hogy a bőr-vazodilatáció testhőmérsékleti küszöbe a deszenzitizált patkányokban magasabb. Viselkedési hőszabályozási válaszok, pl. a hőtől való menekülési lokomotoros válasz (Szolcsányi & Jancsó-Gábor, 1975) szintén károsíthatók szisztémás CAP előkezeléssel, mégis, a testhőmérséklet fenntartásának hiánya elsősorban a bőr-vazodilatáció elégtelenségével magyarázható. Ezt az is alátámasztja, hogy míg normál patkányok hővel szembeni védekezése jelentősen károsodik a farok amputációja után, CAP-deszenzitizált állatok hőterhelésre adott válaszára a farok elvesztése nincs lényeges hatással (Obál *et al.*, 1980). Meg kell említeni azt is, hogy – előbbiekkal ellentétben – hideghatásnak kitett deszenzitizált állatok hőszabályozási reakciói nem különböznek a kontrolloktól (Jancsó-Gábor *et al.*, 1970a; Szolcsányi & Jancsó-Gábor, 1973).

A CAP deszenzitizáció egy másik – laboratóriumunkban is kiterjedten használt – alkalmazási területe a lokalizált, hasüregre korlátozódó deszenzitizáció befolyásának tanulmányozása bakteriális lipopolysaccharida (LPS)-indukálta lázas állapotokban. Patkányokban ez a láz 10 µg/kg LPS IV injektálása után kb. 35 perccel kezdődik, 55-60. percnél tetőzik, ezután a maghőmérséklet csökken a láz második fázisáig, ami kb. a 90. perctől indul és csúcát a 110-120. perc tájékán éri el (Székely & Szelényi, 1979). Az előbbi bifázikus lázat gyakran egy harmadik fázis is követi kb. 5 órával később (Romanovsky *et al.*, 1998). A kialakulás gyors sebessége miatt a láz kifejlődésében joggal feltételezhető idegi (elsősorban a nervus vagus abdominalis-hoz kapcsolódó) afferensek részvétele (Székely *et al.*, 1997; Székely *et al.*, 2000). Valóban, subdiaphragmaticus truncalis vagotomia után a testhőmérséklet emelkedése elmarad interleukin-1 IP (Watkins *et al.*, 1995), illetve küszöbdózisú LPS IV injektálását követően (Romanovsky *et al.*, 1997). Előbbieket a vagális afferentáció hiányával magyarázzák, amely feltehetően a májból – a LPS elsődleges detoxikálási helyéről – származó információt szállítja. A sebészi vagotomia kémiai alternatívája a vagális rostok CAP-nel való roncsolása, amelynek során elsősorban a vékony, myelinhüvely nélküli kemonociceptív idegrostok károsodnak (Jancsó *et al.*, 1967; Jancsó *et al.*, 1977). Relatív kisdózisú IP CAP előkezeléssel, ami többek között a májból és hasüregből eredő és a nervus vagus-ban összefutó C-idegrostok lokális lézióját okozza, a LPS hatására bekövetkező láz részlegesen, elsősorban annak első fázisra korlátozódóan, kivédhető

(Székely *et al.*, 1997; Székely *et al.*, 2000). Fontos különbség a sebészi és kémiai előkezelések között, hogy, amíg előbbi a polifázisos lázgörbe harmadik fázisát is eltörli, utóbbinak kizárólag az első fázisra van megelőző hatása. Feltételezhető, hogy a harmadik fázis kialakításában efferens vagális rostok is részt vesznek (Székely *et al.*, 2000), amelyeket CAP előkezelés nem károsít. Ugyanakkor, a nervus vagus CAP-szenzitív afferens rostjai LPS-től független, fiziológias mechanizmusokban, például táplálkozási állapotokkal kapcsolatos hőszabályozási folyamatokban - nevezetesen a posztprandiális hipertermia bizonyos formáiban - is szerepet játszanak, amelyek IP CAP kezeléssel szintén befolyásolhatók, attenuálhatók (Ember *et al.*, 2000; Pétervári *et al.*, 2004). Ezeknek a rostoknak a stimulálása (pl. feszülés, nutriensek által) vagy blokádja (sebészi transectio, CAP deszenzitizáció által) befolyásolja a táplálékfelvételi viselkedést is, esetlegesen azon centrális mediátorok funkcióját, amelyeken keresztül a vagális szignálok hozzájárulnak a táplálkozási viselkedés és az energiaegyensúly szabályozásához (Székely, 2000; Székely & Szelényi, 2005). A rövidtávú szabályozási mechanizmusok változásai azonban nem extrapolálhatók egyszerűen a hosszútávú szabályozás mechanizmusaira: táplálékfelvétel után közvetlenül az anyagcsere fokozódik, rövidtávú táplálékmegegyezés az anyagcsere szignifikáns megváltozása nélkül a szubsztrátok felhasználásának megváltozásához vezet (Cherel *et al.*, 1988), míg hosszabb éhezés során a nyugalmi anyagcsere adaptív szuppressziója figyelhető meg (Cherel & Le Maho, 1991). Az utóbbi adaptációs folyamat részleteiben nem kellően tisztázott, annak ellenére sem, hogy hosszabb éhezés mind állatokban, mind emberekben bekövetkezhet és létrejön valamilyen adaptációs mechanizmus. Meg kell itt említeni, hogy az előbbi tanulmányokban (mind a LPS-indukálta láz, mind a táplálkozási állapotokkal kapcsolatos hőszabályozási folyamatok esetében) használt IP CAP előkezelés hatásai nem feltétlenül korlátozódnak a vagális afferensekre, hanem egyéb hasüregi idegekben (pl. nervus splanchnicus, nervus pelvicus) futó afferens rostokat is károsíthatnak. Ezért, míg ez az eljárás kiválóan alkalmas az abdominális afferentáció általános tanulmányozására, az előbbieken tárgyalt folyamatokban, specifikusan, a vagális afferens rostok szerepének vizsgálata az idegre kizárólagosan lokalizálódó, perivagális CAP kezeléssel lehetséges.

A TRPV1 ioncsatorna termoregulatórikus folyamatokban betöltött szerepének további hasznos vizsgálati módszere a csatornától genetikusan megfosztott, génkiütött, *Trpv1* knockout (KO) egerek hőszabályozási sajátosságainak vizsgálata. Ezekben az egerekben TRPV1 agonisták, úgymint CAP (Caterina *et al.*, 2000) és RTX (Steiner *et*

al., 2007) hatására nem alakul ki hipotermia, alátámasztva ezzel, hogy ez a jelenség valóban TRPV1 ioncsatornákon keresztül jön létre. A *Trpv1* KO egerek ugyancsak érzéktelenek vanilloidokkal indukált fájdalommal szemben, továbbá fájdalmas hőingerekre adott válaszreakciójuk is károsodott (Caterina *et al.*, 2000). Laboratóriumunk korábbi munkái során arra is fény derült, hogy a *Trpv1* KO egerek akut hőterhelés során a kontrollokhoz képest kifejezettebb hipertermiával reagálnak, normál testhőmérsékletüket bizonyos határokon belül mégis képesek megőrizni, ellentétben szisztémásan deszenzitized vad típusú társaikkal (Szelényi *et al.*, 2004). Fontos eredménye az előbbi tanulmánynak az is, hogy normál, azaz termoneutrális körülmények között a KO egerek cirkadián testhőmérséklet ingadozása kifejezettebb a vad típusúakénál, ami pedig a TRPV1 ioncsatornáknak a normál testhőmérséklet fenntartásában betöltött szerepére utal. Tekintvén, hogy a *Trpv1* KO egerekben a LPS-indukálta láz redukált (Iida *et al.*, 2005), míg a LPS-indukálta shock (beleértve hipotermiát is) kifejezettebb (Clark *et al.*, 2007), érdekes lehet annak vizsgálata, hogyan reagálnak ezek az egerek más hőszabályozási folyamatokban, amelyek ugyanazokon a termoeffektorokon keresztül jönnek létre, mint a LPS-indukálta testhőmérséklet változások (részletekért ld. 1.1.), például éhezésben, illetve éhezés-indukálta táplálékfelvételben.

Különböző gyulladással és rákos betegségek állatmodelljei alapján, napjainkban a TRPV1 ioncsatorna a fájdalomcsillapítók egy új generációjának ígéretes célpontjává vált (Szállási *et al.*, 2007). A gyógyszercégek nagy része rendelkezik egy TRPV1 antagonistával, mint analgetikumot kifejlesztő projekttel, ami a szelektív TRPV1 antagonisták számának robbanásszerű növekedéséhez vezetett. *In vivo* tesztelésük során azonban fény derült egy nemkívánatos mellékhatásra: az új szerek nagy része kemotípustól függetlenül különböző állatfajokban (patkány, egér, kutya, majom) szignifikáns hipertermiát okozott (Gavva *et al.*, 2007; Steiner *et al.*, 2007). A hipertermia szempontjából legerősebb TRPV1 antagonistá, az AMG0347 tesztelése során igazolódott, hogy a testhőmérséklet emelkedésében mindkét autonóm termoeffektor részt vesz (a hőleadás csökken az anyagcsere egyidejű fokozódása mellett), míg a hőszabályozási viselkedési válaszokra az anyagnak nincs hatása. Következésképpen feltételezhető, hogy a TRPV1 ioncsatorna *in vivo* tónikusan aktivált állapotban van, amely aktiváció tónikus gátlás alatt tartja azokat a szabályozási köröket, amelyek a hőtermelést és a hőkonzerválást fokozzák (Steiner *et al.*, 2007). Az ioncsatornát tónikus aktiváltsági állapotban tartó faktor mibenléte jelenleg még nem

tisztázott, annak azonosítása is jelen munka része volt (ld. 2.2.5. fejezet). A TRPV1 ioncsatornának a fizioológias testhőmérséklet fenntartásában betöltött szerepe az előbbi – TRPV1 antagonistákkal lefolyatott – tanulmányok alapján tehát megalapozottnak tűnik (Gavva *et al.*, 2007; Steiner *et al.*, 2007). Ahhoz azonban, hogy az AMG0347 kapcsán leírt eredményeket szélesebb körben általánosíthassuk, továbbá, hogy a tónikus aktiváló stimulus jellegére (hogy az endovanilloid, proton, vagy hő) fényt deríthessünk, szükséges lenne további szelektív TRPV1 antagonisták hipertermiát okozó hatásának hőszabályozási szempontból részletes, a különböző termoeffektorokra is kiterjedő vizsgálata.

1.3. Az alfa-melanocitastimuláló hormon (α -MSH) és más centrális neuropeptidek lehetséges szerepe

Ahogy az az előzőekben (ld. 1.1.) már láttuk, a komplex energetikai folyamatok egyes tényezői bizonyos körülmények között, egymástól függetlenül, külön-külön befolyásolhatók (pl. elsődlegesen a táplálékfelvételt, főleg az anyagcserét, vagy kizárólag a hőleadást módosítva), alapfunkciók tekintetében ezek az egymással szoros összhangban lévő folyamatok kihasználják az azonos vagy hasonló mediátor faktorokon keresztüli szabályozási lehetőség előnyeit. Ennek megfelelően, orexigén vagy anorexigén transzmitterek, amelyek a táplálékfelvétel szabályozásában alapvetőek, szerepet játszanak a hőszabályozásban, legalábbis, mint moduláló faktorok. Ugyanakkor, elsődlegesen a testhőmérséklet szabályozásában részt vevő transzmitterek vagy mediátorok befolyással vannak a táplálkozási folyamatokra. Ez a funkcionális sokoldalúság az energetikai folyamatok szabályozásában résztvevő orexigén és anorexigén neuropeptidekre is kiterjeszhető. Az anabolikus és katabolikus fogalmak azonban nem pontosan felelnek meg az orexigén és anorexigén kategóriáknak. Az anabolikus anyagok orexigének, ezen túlmenően csökkentik az anyagcserét is azért, hogy a szervezet energiatartalmát koordinált módon növeljék. Ellenkezőleg, a katabolikus anyagok anorexigének, egyúttal anyagcserét fokozók (Székely & Szelényi, 2005). Bizonyos anyagok (pl. bombesin, neurotensin) nem hoznak létre ilyen koordinált változásokat, hanem a táplálékfelvétel csökkentése mellett, az anyagcserét is szuppresszálják, ilyenkor a katabolikus jelzöt nem használhatjuk (Székely *et al.*, 2004). Ezek az anyagok nem tartoznak sem az anabolikus, sem a katabolikus anyagok csoportjába és nem tekinthetők alapvetőnek a komplex energetikai egyensúly szabályozása szempontjából. Az orexigén/anabolikus csoport legfontosabb képviselője,

egyben a legerősebb orexigén anyag, a nucleus arcuatus-ban termelődő, neuropeptide Y (NPY). Az anorexigén/katabolikus csoportban a legfontosabbak a melanocortin rendszer (ld. később), a corticotropin-releasing factor, a leptin és a cholecystokinin. Az ellentétes hatású rendszerek, közös centrális központokon keresztül, egymással szoros kölcsönhatásban állnak. Így például a zsírszövetben termelődő, ezáltal a szervezet zsírtartalmának perifériás szignáljaként funkcionáló leptin gátolja saját receptorának expresszióját (Mercer *et al.*, 1998), továbbá a hipotalamikus NPY és agouti-related protein [(AGRP), endogen melanocortin 3 és 4 receptor (MC3R és MC4R) antagonist] elválasztását (Ahima & Hileman, 2000), míg a MSH-melanocortin rendszer aktivációját fokozza (Forbes *et al.*, 2001). Általánosságban elmondható tehát, hogy az orexigén peptidek termelődése lecsökkent, míg az anorexigéneké fokozódott. Ezzel ellentétben a keringő leptin szintjének csökkenésekor a NPY expressziójának növekedése és a melanocortin rendszer aktivációjának egyidejű szuppressziója jön létre (Ahima *et al.*, 1999). Fontos megemlíteni, hogy az előbbieken bemutatott energetikai folyamatok szabályozásában a hasüregből származó vagális afferensek kiemelkedő jelenséggel bírnak: az általuk szállított energia metabolizmust serkentő/gátló információ a nucleus tractus solitarii-n keresztül anorexigén/orexigén centrális neuropeptidek működésére hatva befolyásolja a katabolikus/anabolikus energiaegyensúlyt (Székely, 2000).

Laboratóriumunk korábbi vizsgálatai igazolták, hogy a NPY jó példa a koordinált anabolikus hatás demonstrálására: ICV injektálás után a táplálékfelvétel fokozódását és egyidejűleg hipotermia (hipometabolizmus) kialakulását eredményezi (Székely & Szelényi, 2005). A koordinált anabolikus hatás definíciójának megfelelően, mindkét hatás – fokozott energiabevitel és egyidejű csökkent energiafelhasználás – a szervezet energiaraktárainak növelését segíti elő. A NPY termoeffektorokra is kiterjedő, részletes hőszabályozási hatásainak vizsgálata során kiderült, hogy azok nem koordináltak: a hipotermia kizárólag az anyagcsere csökkenésén keresztül jön létre, a hőleadást az anyag nem befolyásolja (Balaskó *et al.*, 2001). Ez pedig hőszabályozási szempontból inkoordinált hatás, az anapyrexia feltételei (ld. 1.1.) ebben az esetben nem teljesülnek.

A különböző anabolikus hatásokat ellensúlyozó legfontosabb centrális, tónikus mechanizmus a melanocortin rendszeren keresztül valósul meg. Ez a rendszer integrálja a perifériás és centrális katabolikus behatásokat a leptin, inzulin és a táplálékfelvétel szabályozásában résztvevő centrális peptidek interakcióján keresztül (Raposinho *et al.*, 2001). A pro-opiomelanocortin (POMC-t) termelő neuronok a nucleus arcuatus-ban koncentrálnak, termékük – a POMC – közös prekürzora az adrenokortikotrop

hormonnak, a különböző MSH-oknak (melanokortinoknak) és az endorfinoknak. A neuronok különböző hipotalamikus régiókba (pl. nucleus paraventricularis, dorsomedialis hypothalamus) projektálnak, ahol a melanokortinok receptoraikon keresztül kifejtik hatásaikat. Energetikai folyamatok szabályozása szempontjából a centrális melanocortin rendszer legfontosabb tényezői az α -MSH (kisebb mértékben a γ -MSH), az AGRP és a MC3R és MC4R. Az α -MSH nem-szelektív agonistája, az AGRP nem-szelektív antagonistája a MC3R és MC4R-oknak (Voisey *et al.*, 2003). Fontos megjegyezni, hogy az energetikai folyamatok szempontjából a MC4R szerepe tűnik döntő jelentőségűnek.

Irodalmi adatok alapján ismert, hogy az α -MSH (de nem a γ -MSH) centrális injekciója patkányokban a spontán táplálékfelvétel csökkenését okozza, hasonló hatása van egy szintetikus, ugyancsak nem-szelektív MC3R és MC4R agonistának, a melanotan-II (MT-II)-nek (Murphy *et al.*, 2000; Hwa *et al.*, 2001). A MT-II továbbá az anyagcserét fokozza (Hwa *et al.*, 2001), és már nanogrammos dózisban is a testhőmérséklet emelkedéshez vezet (Murphy *et al.*, 2000) a koordinált katabolikus hatás minden jellegzetességének megfelelően. A természetes, nem-szelektív α -MSH centrális injekciója szintén dóziszfüggő hipertermiát okoz patkányban (Raible & Knickerbocker, 1993). Nem kellően tisztázottak azonban az előbbi anyagoknak a hőleadási effektor rendszerekre kifejtett akut hatásai, egy tanulmánytól eltekintve, amelynek során azt találták, hogy az α -MSH a bőrhőmérséklet következetes megváltoztatása (azaz csökkentése) nélkül okozott enyhe testhőmérséklet emelkedést (Sinha *et al.*, 2004). Megkérdőjelezi ezt az eredményt az, hogy ugyanebben a kísérletsorozatban az α -MSH enyhén csökkentette a LPS hatására bekövetkező bőrvazokonstriktiót. Annak megállapítása, hogy a melanokortin-indukálta testhőmérséklet emelkedés regulált, koordinált (azaz lázszerű) folyamat, vagy egyszerűen az anyagcsere fokozódás következményeként kialakuló passzív hipertermia további vizsgálatokat igényel, melyek meghaladják jelen tanulmány kereteit.

Centrális krónikus infúzió során a MT-II az anyagcsere növekedését és a táplálékfelvétel csökkenését váltotta ki az első néhány napon, míg a szelektív MC4R antagonistá HS024 hiperfágiát okozott az anyagcsere megváltoztatása nélkül (Jonsson *et al.*, 2001). Megjegyzendő, hogy az elvárt anyagcsere csökkenés termoneutrálisához közeli környezeti hőmérsékleten nem feltétlenül észlelhető mértékű. Egy másik antagonistá, a nem-szelektív SHU9119 krónikus centrális infúziója patkányokban a

hiperfágia mellett, az éjszakai aktív periódusban a testhőmérséklet enyhe csökkenését eredményezte (Adage *et al.*, 2001). Azt is kimutatták, hogy leptin deficiens *ob/ob* egerekben az alacsony metabolikus ráta és a hideghatással szembeni csökkent védekezőképesség, legalábbis részben, a szuppresszált hipotalamikusan MSH szekréció eredménye: MSH adásával a hipometabolizmus és hiperfágia visszafordítható, továbbá hideghatásban a hipotermia elleni védekezőképességük is javul (Forbes *et al.*, 2001). Ahogyan arról már említés történt, energetikai folyamatok szabályozásának szempontjából a MC4R nagyobb jelentőségű a MC3R-ral szemben, ezt igazolja az is, hogy az anyagcsere fokozódásért is elsősorban a MC4R felelős: blokája, vagy funkciójának elégtelensége csökkenti egyes betegségekkel kapcsolatos kachexiát, míg a MC3R deficienciája inkább a kachexia felerősödésében nyilvánul meg, annak ellenére, hogy a táplálékfelvétel mindkét receptor funkciójának hiánya esetén hasonló mértékű (Marks *et al.*, 2003).

Ahogy az az előbbieken ismertetett kísérletes adatokból is látszik, a POMC és a melanokortinok valószínűleg a legjelentősebb katabolikus rendszert alkotják. Fontosabb azonban ennél, hogy – aktivitási szintjétől függően – a rendszer tónikusan adaptálódni képes a meglévő pozitív vagy negatív energia-egyensúlyhoz. Az aktivitás behangolásának finomítása komplex, a nucleus tractus solitarii-n keresztüli afferens neurális (feltehetően vagális) impulzusok, a nucleus arcuatus-ban termelődő AGRP, a keringő leptin, inzulin és metabolitok (pl. glükóz) és az egyéb hipotalamikusan neuropeptidekkel való interakciók által biztosított. A serkentő és gátló szignálok összessége tartja fenn a rendszer tónusát, amely egyidejűleg befolyásolja a táplálékfelvételt (a nucleus paraventricularis tónusos gátlásával) és az anyagcserét (a szimpatikus idegrendszer tónusos stimulálásával), következményesen a koordinált katabolikus aktivitás szintjének meghatározásával. A legfontosabb szignálok az energiaegyensúly táplálkozásfüggő változásai (pl. éhezés, posztprandiális állapot, túltáplálás, stb.), amelyek biztosítják az energiatranszport megfelelő adaptálódását az elsődlegesen megváltozott körülményekhez: anabolikus szabályozási mintázatot éhség, vagy éhezés, katabolikus túltáplálás esetén. A testhőmérséklet szabályozása csak másodlagosan, kompenzatorikus értelemben érintett, a megváltozott metabolikus ráta függvényeként. Bizonyos környezeti tényezők fennállása esetén azonban ezek a hipo- vagy hipermetabolizmus-indukálta passzív testhőmérséklet-változások jelentősek lehetnek, mint például hipotermia éhezéssel vagy hipertermia posztprandiálisan.

A POMC-MSH-melanocortin rendszer tónusos aktivitási szintjének, különösen annak adaptációs kapacitásának alapos ismeretét az is elengedhetetlenül szükségessé teszi, hogy napjainkban a középkorú lakosság körében az obezitás járványszerű mértéket ér el. Az Egészségügyi Világszervezet becslése szerint 10 felnőtt emberből legalább 1 elhízott világszerte, amely arány a nyugati országokban jóval magasabb, az Egyesült Államokban például az 1970-es évek óta a túlsúlyos és elhízott felnőttek aránya 65%-kal növekedett (Emmerson *et al.*, 2007). Ez pedig a kórosan magas testsúlyon kívül, az obezitással kapcsolatos megbetegedések (pl. kardiovaszkuláris, ízületi betegségek, szénhidrát-anyagcsere zavarai, stb.) számának jelentős megnövekedését is magával vonja. Az életkor előrehaladtával, kb. 65-70 éves kortól kezdődően, a testsúly szabályozásának egy másik zavara – a kachexia – kerül előtérbe, amelynek létrejöttében multifaktoriális változások összesége játszik szerepet, egyik legfontosabb közülük a táplálékfelvétel fokozatos csökkenése (Wikberg & Mutulis, 2008).

2. Célkitűzések, tervezett vizsgálatok

2.1. Célkitűzések

Jelen munkában a bevezetőben tárgyalt hőszabályozási jelenségek bizonyos specifikus – fiziológiai szempontból jelentős – részleteinek tanulmányozását tűztük ki célul állatkísérletes modellekben (patkányban és egérben). Az 1.1. fejezetben 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 az 1.2. fejezetben részletezett CAP-szenzitív neurális afferensek és a TRPV1 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 száráról 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: az 1.2. bekezdésben tárgyalt POMC-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 IP CAP deszenzitizáció befolyásolja-e a centrálisan adott anabolikus és katabolikus peptidek (NPY és α -MSH) hatásait.

2.2. Tervezett vizsgálatok

2.2.1. CAP-szenzitív abdominális vagális afferens rostok szerepének vizsgálata bakteriális endotoxin-indukálta polifázisos lázban

A hasüregre korlátozódó, IP CAP deszenzitizációt használó állatkísérletek alapján elmondható, hogy patkányokban az abdominális CAP-szenzitív afferens rostok szerepet játszanak a LPS-indukálta láz kialakulásában (részletekért ld. 1.2. fejezetet). Annak tisztázása érdekében, hogy a CAP előbbi hatása kizárólag a nervus vagus-on keresztül valósul-e meg, a jelen kísérletben a nervus vagus perineurális CAP deszenzitizációját használtuk módszerként, amely jellegéből fakadóan a nervus vagus abdominalis afferens rostjainak kizárólagos károsodását okozza, az afferens rostok és a nervus splanchnicus funkciójának befolyásolása nélkül.

2.2.2. CAP-szenzitív abdominális afferensek szerepének vizsgálata a spontán táplálékfelvételhez és az éhezéshez kapcsolt energetikai folyamatokban

Laboratóriumunk korábbi munkái alapján ismert (ld. 1.2. fejezet), hogy a nervus vagus abdominális afferens rostjai részt vesznek a kalóriamentes táplálék gyomorba injektálása során, kizárólagosan feszülés útján létrejövő posztprandiális hipertermia kialakulásában, míg kalóriadús táplálék azonos módon való adása esetén kialakuló hipertermia hiányukban is kifejlődik. Ezek alapján – és a 2.2.1. kísérletsorozat pozitív kimenetele esetén – levonható a következtetés, hogy az abdominális afferens rostok a rövidtávú szabályozási rendszer befolyásolásán keresztül alapvető tényezői az energiaegyensúly fenntartásának. Azt is terveztük vizsgálni, hogy ezek a rostok

hosszútávon szignifikánsan hozzájárulnak-e az energia-homeosztázis biztosításához. Ezekben a kísérletekben az IP CAP deszenzitizáció hosszútávú hatását vizsgáltuk a spontán napi táplálékfelvétellel és súlygyarapodásra; az éhezés során kialakuló adaptív energetikai változásokra; végül, az éhezés-indukálta táplálékfelvétellel.

2.2.3. A tranziens receptor potenciál vanilloid-1 (TRPV1) ioncsatorna szerepének vizsgálata éhezéssel kapcsolatos energetikai folyamatokban

Ahogy arról az 1.2. fejezetben említés történt, laboratóriumunk korábbi munkái során fény derült arra, hogy *Trpv1* KO egerek cirkadián testhőmérséklet-változásának amplitúdója meghaladja vad típusú társaikét. Jelen kísérletsorozatban – a 2.2.2. pontban leírtak korszerű alternatívájaként – azt tanulmányoztuk, hogy különbözik-e a *Trpv1* KO egerek napi testhőmérséklet-változásainak dinamikája a vad típusúakétól éhezés során, továbbá éhezést követő újraetetéskor. Tervünk ezáltal a TRPV1 ioncsatorna éhezési adaptív hipotermia kialakulásában betöltött szerepének vizsgálatára irányult. Eredményeink a 2.2.2. kísérletsorozatban találtakat egyrészt kiegészítik: metodikailag a testhőmérséklet és a lokomotoros fizikai aktivitás napi ingadozásainak folyamatos regisztrálásával, biológiailag egy másik faj hozzáadásával, fiziológiailag a TRPV1 ioncsatorna specifikusabb, ugyanakkor szisztémás hiányával. Másrészt a 2.2.2.-ben leírtakkal szemben, az itt talált eredmények a TRPV1 ioncsatorna általános hiányának következményei, emiatt specifikusan nem lokalizálhatók (pl. a hasüregre).

2.2.4. A TRPV1 ioncsatorna szerepének vizsgálata a fizioiógias testhőmérséklet fenntartásában

A TRPV1 ioncsatorna fájdalomérzékelésben betöltött funkciója miatt, TRPV1 antagonisták egész sorának kifejlesztésére került sor. *In vivo* tesztelésük során kiderült, hogy némelyek közülük hőszabályozási változásokat indukálnak: hipertermiát okoznak (ld. 1.2. fejezet). Jelen kísérletsorozatban egy szelektív TRPV1 antagonistá, az AMG517 testhőmérsékletre, hőleadásra és anyagcserére való hatását vizsgáltuk patkányokban termoneutrális környezeti hőmérsékleten. Azt terveztük igazolni, hogy az irodalmi adatokból ismert TRPV1 antagonisták által indukált hipertermia nem az ott vizsgált szerekre specifikus, hanem általánosítható, TRPV1 csatornától függő hatás, továbbá, hogy termoneutrális környezeti hőmérsékleten a testhőmérséklet emelkedés kialakulásában mindkét fő, autonóm termoeffektor (hőleadás és anyagcsere, ld. 1.1.) részt vesz. Pozitív kimenetel esetén ez a kísérletsorozat megerősíti és kiegészíti a 2.2.1-2.2.3-ban találtakat azon keresztül, hogy a TRPV1 ioncsatorna tónusos aktiváltsági szintjét a homeotermia kulcsfontosságú fenntartó tényezőjeként azonosítja.

2.2.5. A TRPV1 ioncsatorna tónusos aktivációjáért felelős tényező azonosítása

A TRPV1 ioncsatorna specifikus antagonistákkal való gátlása hipertermiához vezet, amely arra utal, hogy az ioncsatorna *in vivo* tónusosan aktivált állapotban van (ld. 1.2. fejezet). A tónusos aktiváltsági állapotért felelős szignálok kvalitása azonban nem ismert. A TRPV1 ioncsatorna 3 fő módon aktiválható (vanilloidok, protonok és hőhatások által), antagonistái pedig különböző mértékben képesek gátolni ezeket az aktiválási módokat. Így például capsazepine (CPZ), az egyik legrégebben ismert TRPV1 antagonistá, nem hat a proton aktiválási módra patkányokban, de gátolja mind a vanilloid, mind pedig a hő aktiválási módokat. Ezzel ellentétben, tengerimalacokban CPZ mindhárom TRPV1 aktivációs módot blokkolja. Jelen kísérletsorozatban célunk az volt, hogy összehasonlítsuk a CPZ termoregulatórikus hatásait e két állatfajban, ezáltal bizonyítsuk vagy elvessük a protonok közrejátszását a TRPV1 ioncsatorna *in vivo* tónusos aktiváltsági állapotának fenntartásában.

2.2.6. Centrálisan adott α -MSH koordinált energetikai hatásainak részletes analízise

Az energetikai folyamatok szabályozása szempontjából fontos szignálok a perifériáról a központi idegrendszerbe történő afferenciáció – amelyet a 2.2.1-2.2.5. pontokban leírtak alapján terveztünk vizsgálni – után centrális mechanizmusok aktiválódását indítják el, feltehetően különböző neuropeptideken keresztül. Ezek közül a legfontosabb katabolikus tényező, a POMC-MSH-melanocortin rendszer, melynek endogén agonistája az α -MSH, amelynek részletes hőszabályozási hatásaival kapcsolatos irodalmi adatok hiányosak, illetve ellentmondók (ld. 1.3. fejezet). Tisztázni kívántuk, hogy α -MSH centrális injektálása esetén kialakul-e koordinált katabolikus energetikai reakció. A bekövetkező testhőmérséklet változásokon kívül – más állatcsoportban – a centrális α -MSH injektálás hatására kialakuló anorexigén hatást, illetve annak dinamikáját terveztük vizsgálni. A két szabályozási rendszer adott irányú egyensúlyváltozásainak (rövidtávú szabályozás: testhőmérséklet, táplálékfelvétel, hosszútávú szabályozás: testsúly) időbeli lefutását összehasonlítva az α -MSH energetikai hatásának koordináltságát igyekeztünk meghatározni.

2.2.7. CAP-szenzitív abdominális afferensek szerepének vizsgálata centrális NPY és α -MSH hatására kialakuló táplálékfelvételi változásokban

Az α -MSH energetikai hatásainak analízise után azt kívántuk tisztázni, hogy a 2.2.1-2.2.5. pontokban vizsgálni szándékozott perifériás szignálok jelenléte vagy annak

hiánya befolyásolja-e centrálisan adott anorexigén/orexigén neuropeptidek hatására kialakuló táplálékfelvételi válaszokat. Laboratóriumunk korábbi munkái és irodalmi adatok alapján ismert, hogy centrális NPY injektálása a táplálékfelvétel indukálásához vezet (ld. 1.3. fejezet). Jelen kísérleteinkben IP CAP deszenzitizált patkányoknak ICV α -MSH-t vagy NPY-t adtunk és táplálékfelvételi válaszaikat kontroll állatokhoz hasonlítottuk. Ez a kísérletsorozat a korábbi pontokban részletezett perifériáról érkező szignálok (2.2.1-2.2.5.) és a centrális neuropeptidek (α -MSH, NPY) közötti lehetséges neurális összeköttetés jelentőségét célozta felderíteni.

3. Anyagok és módszerek

3.1. Kísérleti állatok, tartásuk

Kísérleteink nagy részében Wistar patkányokat használtunk, kivéve a 2.2.3.-ban leírt tervezett vizsgálatokban, az ott használt módszerek a későbbiekben külön részletezésre kerülnek. 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 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 2.2.4. és 2.2.5-ben leírt tervezett vizsgálatok végrehajtására külföldön került sor (Systemic Inflammation Laboratory, Trauma Research, St. Joseph's Hospital and Medical Center, Phoenix, Arizona, USA). Az ezekben a kísérletekben használt hím Wistar patkányok és tengerimalacok tartása lényegesen nem különbözött az előbbieken leírtaktól, a kísérletek a St. Joseph's Hospital Animal Care and Use Committee által jóváhagyott protokollok alatt kerültek elvégzésre.

A 2.2.3.-ban részletezett tervek vizsgálatához C57BL/6 vad típusú és *Trpv1* KO hím egereket használtunk. Az egereket egyesével, műanyag dobozokban tartottuk 26-28°C-on (termoneutrális), vagy 23-25°C-on (hűvös) környezeti hőmérsékleten. 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 2.2.4. és 2.2.5-ben tervezettek kivételével (ld. később), a műtéteket ketamin + xylazol [Calypsol (Richter) + Rometar (Spofa)] keverékkel (78 + 13 mg/kg, IP) indukált narkózisban végeztük. Fertőzések megelőzésére 2 mg gentamycint adtunk IP. A narkózis a műtét típusától (IV kanül implantáció, ICV kanül implantáció, perivagális CAP kezelés, IP radiotransmitter implantáció) függetlenül azonos volt. Az implantált, lezárt-végű kanüloket a tarkótájéon vezettük ki (későbbi toldalék-csatlakoztatás céljából) – itt hosszabb időn keresztül is kisebb volt a kanülok sérülésének veszélye. A műtéti hipotermia mérséklésére narkózis után az állatokat relatíve meleg helyen tartottuk 6-10 órán át, majd az eredeti adaptációs környezetbe (ld. 3.1. fejezet) helyeztük vissza őket. 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 LPS adását, amit 3-4 nappal a műtét után végeztünk.

A 2.2.4. és 2.2.5 alatt leírt tervek végrehajtásánál 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), maghőmérséklet monitorizálás céljából.

3.3. Anyagcsere, hőleadás és maghőmérséklet mérése

Az anyagcserét 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 maghőmérsékletet (T_c) a colonba legalább 10 cm mélyen bevezetett, míg a hőleadási állapotot jellemző bőrhőmérsékletet (T_s) a fark bőréhez erősített rez-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 környezeti hőmérséklet (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 (ld. 3.1. fejezetet) eredményeként ez nem jelentett komoly stresszhelyzetet az állatoknak: tapasztalatunk szerint testhőmérsékletük alig tért el az azonos napszakban, és hasonló környezeti hőmérsékleten 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 a Kipp-Noyons diaferometer segítségével meghatározott anyagcsere adatokat Beckman poligráfon folyamatosan regisztráltuk. A másik két anyagcsere-mérésre használt rendszer esetén az adatokat a gyártó által mellékelt szoftver segítségével számítógépen regisztráltuk. A termoelemeket ezekben az esetekben egy adatgyűjtő berendezéshez csatlakoztattuk (Cole-Parmer, Vernon Hills, IL), az így nyert hőmérsékleti adatokat komputerre mentettük.

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, majd a jeleket egy dataport-on át konvertáltuk (hőmérséklet °C-ban, aktivitás arbitrary unit-ban kifejezve) és az adatokat, a gyártó szoftverének (Vitalview) segítségével, komputeren tároltuk. Ez a módszer tette lehetővé a cirkadián hőmérsékleti változások analízisét is.

3.4. Lázkeltés módja, vénás anyagadás, kanülök

Lázkeltésre bakteriális LPS-t [*E. Coli* (Sigma-Aldrich)] használtunk, amit a vena jugularis-ba műtéileg preimplantált pp10 polietilén (Portex), vagy szilikon (Baxter) kanülön át adtunk, 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 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). A vénás kanül lokalizációját a kísérlet után a kanülön át beadott altató (2-3 mg ketamin) néhány percig tartó, de azonnali erős bódultságot okozó hatásával verifikáltuk.

Hasonló vénás kanült használtunk a 2.2.4. és 2.2.5-ben tervezett kísérletekben a TRPV1 antagonistá AMG517 (100 $\mu\text{g}/\text{kg}$) és CPZ (65.5 $\mu\text{mol}/\text{kg}$), illetve vivőanyagaik bevitelére. Ezekben a kísérletekben az oldatokat az előzőekben leírtakhoz hasonló toldalékon keresztül, 2 percen át, 167 $\mu\text{l}/\text{min}$ rátával infundáltuk.

3.5. Agykamrai injekció, ill. infúzió módszerei

A centrális α -MSH adás hatásait (ld. 2.2.6-2.2.7.), az anyag ICV injektálását követően tanulmányoztuk. A narkotizált patkányok jobb laterális agykamrájába 22-gauge rozsdamentes vezetőkánült építettünk be $A = -1.0$ mm, $L = 1.5$ mm, $V = 3.8$ mm paraméterekkel. A vezetőkánülbe illeszthető belső 28-gauge injektáló tűn keresztül legfeljebb heti egyszeri gyakorisággal adtuk be az α -MSH-t (2, 5, vagy 10 μg), NPY-t (2 μg) vagy vivőanyagát 5 μl térfogatú oldatban. Az injekciót pp10 kanül-toldalékon keresztül adtuk be, az állat megzavarása nélkül.

A vezetőkanül lokalizációját prostaglandin E (PGE) injekciójával kontrolláltuk (csak azt fogadtuk el megfelelő lokalizációnak, amikor 100 ng PGE adását legalább 0,5°C T_c emelkedés követte fél órán belül). Ezenkívül minden kanül lokalizációját makroszkóposan is ellenőriztük *post mortem*.

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 órakor. Ez csak és kizárólag az abdominális afferenseket károsította (Dogan *et al.*, 2004; Steiner *et al.*, 2007), 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 okozzunk 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.

Az afferens abdominális (vagális) rostok károsodását posztmortális gyomortartalmak mérésével ellenőriztük. A gyomor motilitásának zavarai a nervus vagus diszfunkciójára utalnak. Ez főként az efferens rostok károsodása esetén várható, de ha IP CAP kezelés után is kimutatható, akkor inkább a mechanoszenzorok zavarát jelzi, csak indirekt módon utal a kemoszenzorok feltehető egyidejű zavarára is. Kontroll állatok gyomortartalma éhezés nélkül testsúlyuk $1,56 \pm 0,10\%$ -a volt, ami 24 óráig éhezettekben $0,69 \pm 0,08\%$ -ra csökkent ($p < 0,05$), ezzel szemben az IP CAP

deszenzitizedokban az éhezés nélküli $1,63 \pm 0,11\%$ -os érték 24 órás éhezés után $1,38 \pm 0,13\%$ -ra változott (nem szignifikáns). Ez utóbbi a nervus vagus károsodására utal.

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

Éheztetés során a táplálékot (de nem a vizet) reggel 9:00 órakor 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). Laboratóriumunk korábbi tapasztalatai alapján tudjuk, hogy a 3 órás tápfogyasztás és az ugyanezen idő alatti maximális súlyváltozás szoros korrelációt mutat, lehetőséget biztosítva a rövidtávú (jelentős) testsúlyváltozások alapján a táplálékfelvétel dinamikájának megítélésére.

Más kísérletekben az állatokat standard rágcslótáp 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 órakor, az aktív, sötét ciklus kezdetekor indult, míg az éheztetés-indukálta újraetelési táplálékfelvételi kísérleteket reggel 9:00 órakor 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

Ahogy arról az egyes módszerek leírásánál esetenként említés is történt, vizsgálataink során minden esetben megfelelő (vivőanyaggal kezelt, álműtött, vad típusú stb.) kontroll csoportokat alkalmaztunk. A statisztikai értékelés ANOVA repeated measures, one-way ANOVA és Scheffe, HSD vagy Bonferroni, illetve Tukey *post hoc* analízis, illetve egy- és kétmintás Student t-teszt segítségével történt, az adott kísérlet mintájától függően. Az ábrákon és a szövegben mindenhol átlag \pm S.E.M. van feltüntetve.

4. Eredmények

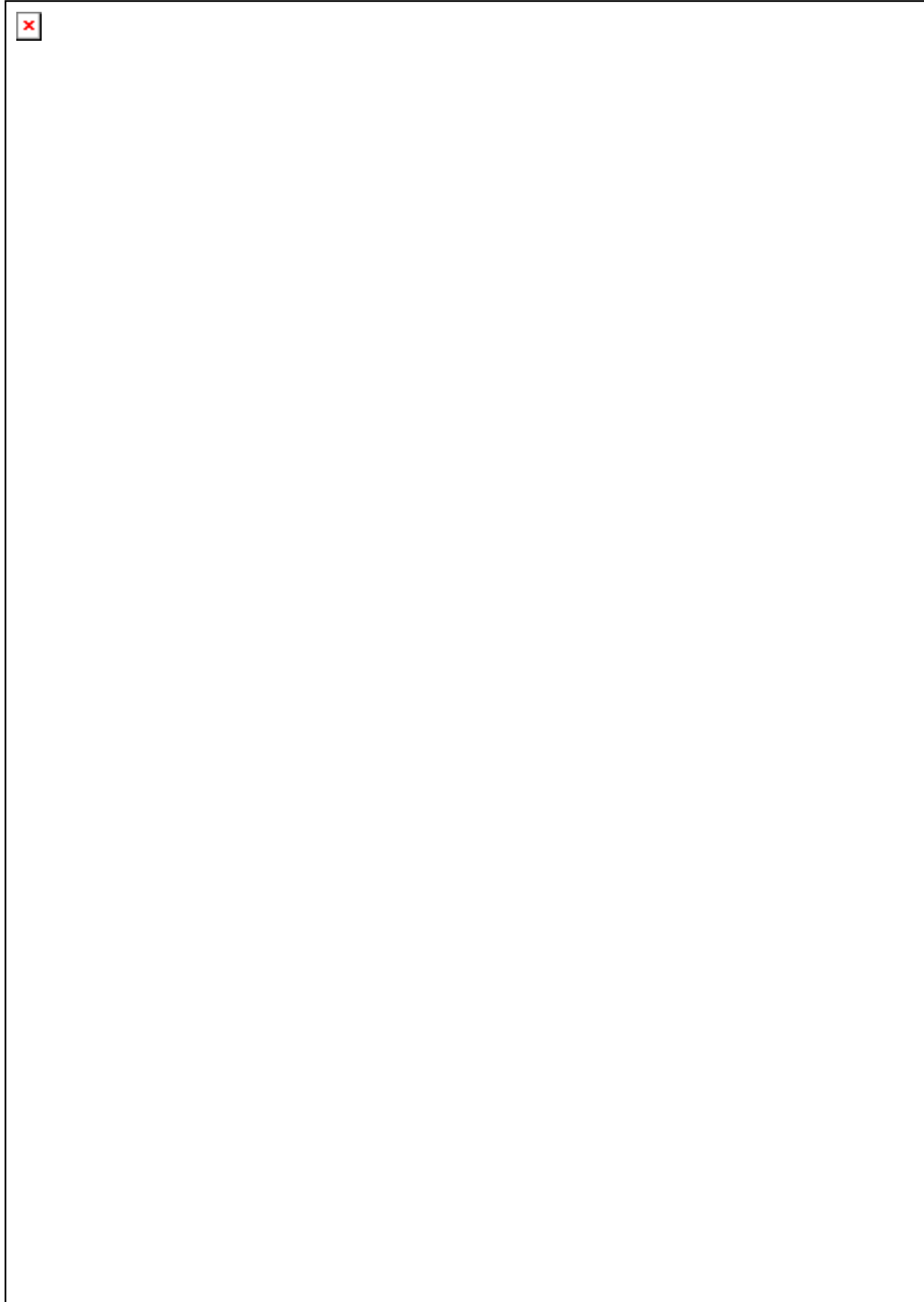
4.1. Stilisztikai megfontolások

Az eredmények ismertetésére a 2. fejezet tervezett vizsgálatainál leírtaknak megfelelően kerül sor. Azok beosztása, sorrendje és számozása (a fejezetszám kivételével) megfelel a 2.2.1-2.2.7. bekezdésekben tárgyaltaknak.

4.2. Eredmények ismertetése

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

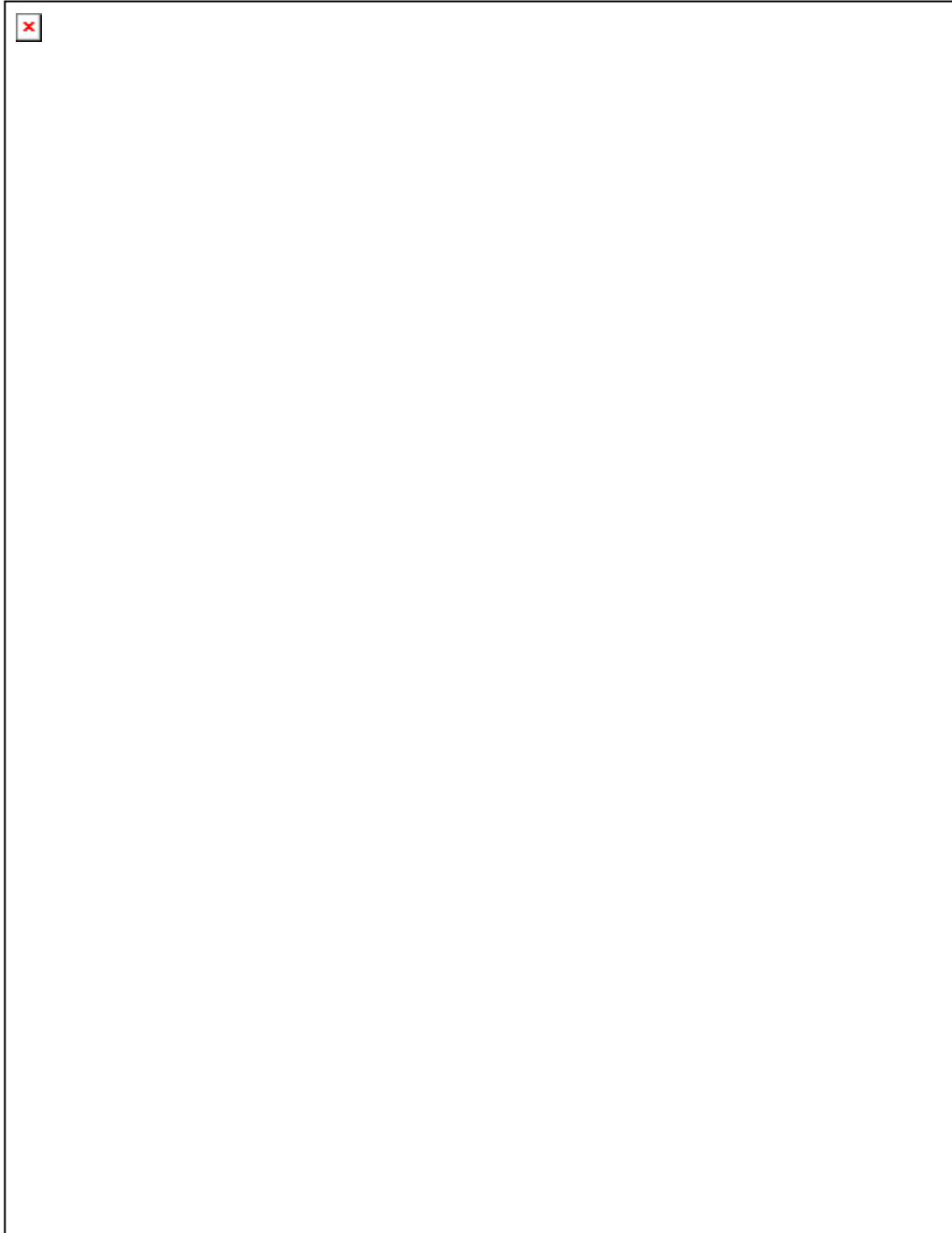
Ahogy az a 2. ábra alsó részén látható, 0,9%-os NaCl oldat IV injektálásának nem volt hatása sem a perineurálisan, vagy IP CAP előkezelt, sem pedig az áloperált, vagy IP vivőanyaggal előkezelt kontroll állatok testhőmérsékletére. Az áloperált patkányokban a LPS hatására kialakuló lázgörbe hasonló volt 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 (ld. 2. ábra felső része). 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. A 2. ábra a láz kialakulásának kezdetét igyekszik bemutatni, ezért a T_c változások csak az első 3 órában láthatók részletesen, a harmadik fázist pedig egyetlen, a LPS injektálása után 300 perccel regisztrált érték reprezentálja.



2. ábra: A maghőmérséklet (T_c) változása 10 $\mu\text{g/kg}$ LPS (felül) vagy vehikulum (alul) IV injektálását követően perinerurálisan CAP előkezelt (sötét háromszög), sham-operált (világos háromszög), IP CAP előkezelt (sötét karika) és kontroll (világos karika) patkányokban. Az IP CAP deszenzitizált és az összes többi csoport közti szignifikáns különbséget *, az IP és perivagálisan deszenzitizált csoportok közötti szignifikáns különbséget # jelöli.

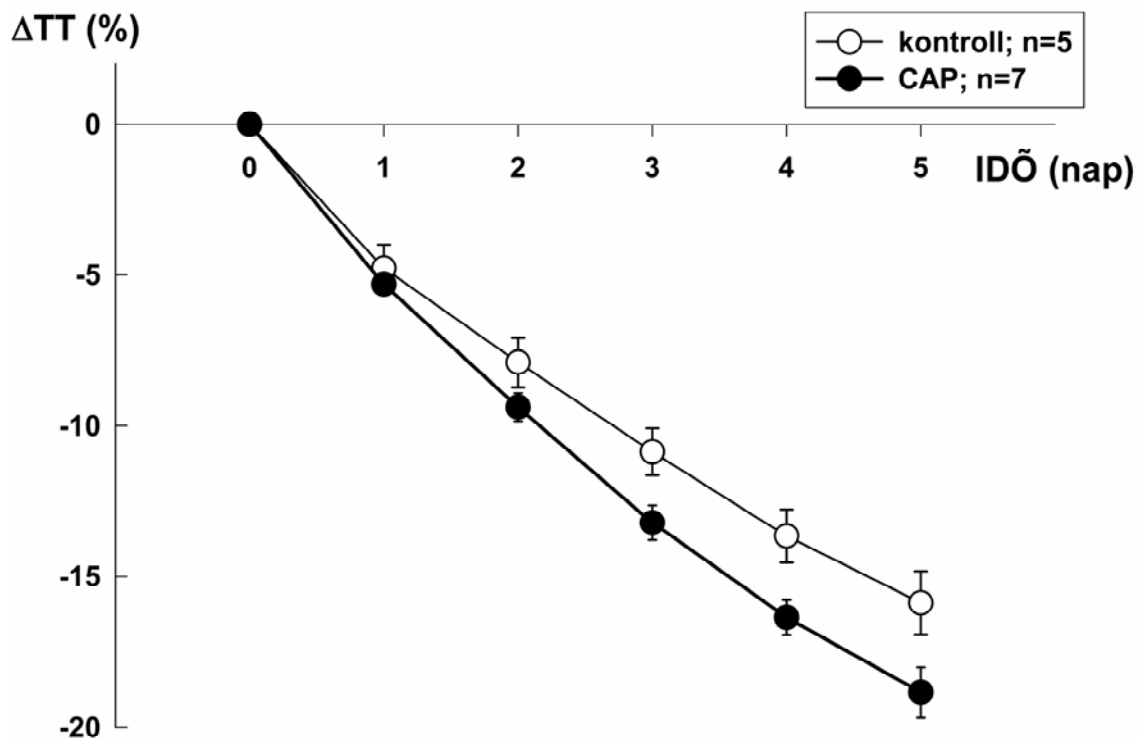
4.2.2. CAP-szenzitív abdominális afferensek szerepe táplálékfelvétel és éhezés alatti energetikai folyamatokban

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 (3. ábra). Az állatok egy részénél a súlygyarapodás kismértékű növekedése megfigyelhető volt 1-2 napig a CAP kezelést követően.



3. ábra felső rész: A testsúly-gyarapodás (TT) dinamikája IP CAP deszenzitizált (sötét karika) és kontroll (világos karika) patkányokban. Alsó rész: Az előbbi csoportok napi táplálékfelvétel (TF) értékei. Az egyes csoportok között szignifikáns különbség nem mutatkozott.

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 (4. ábra). Mindkét csoport a súlyvesztés kissé több mint felét visszanyerte az újraetetés első napján; a deszenzitizált állatok többet nyertek vissza elvesztett súlyukból.



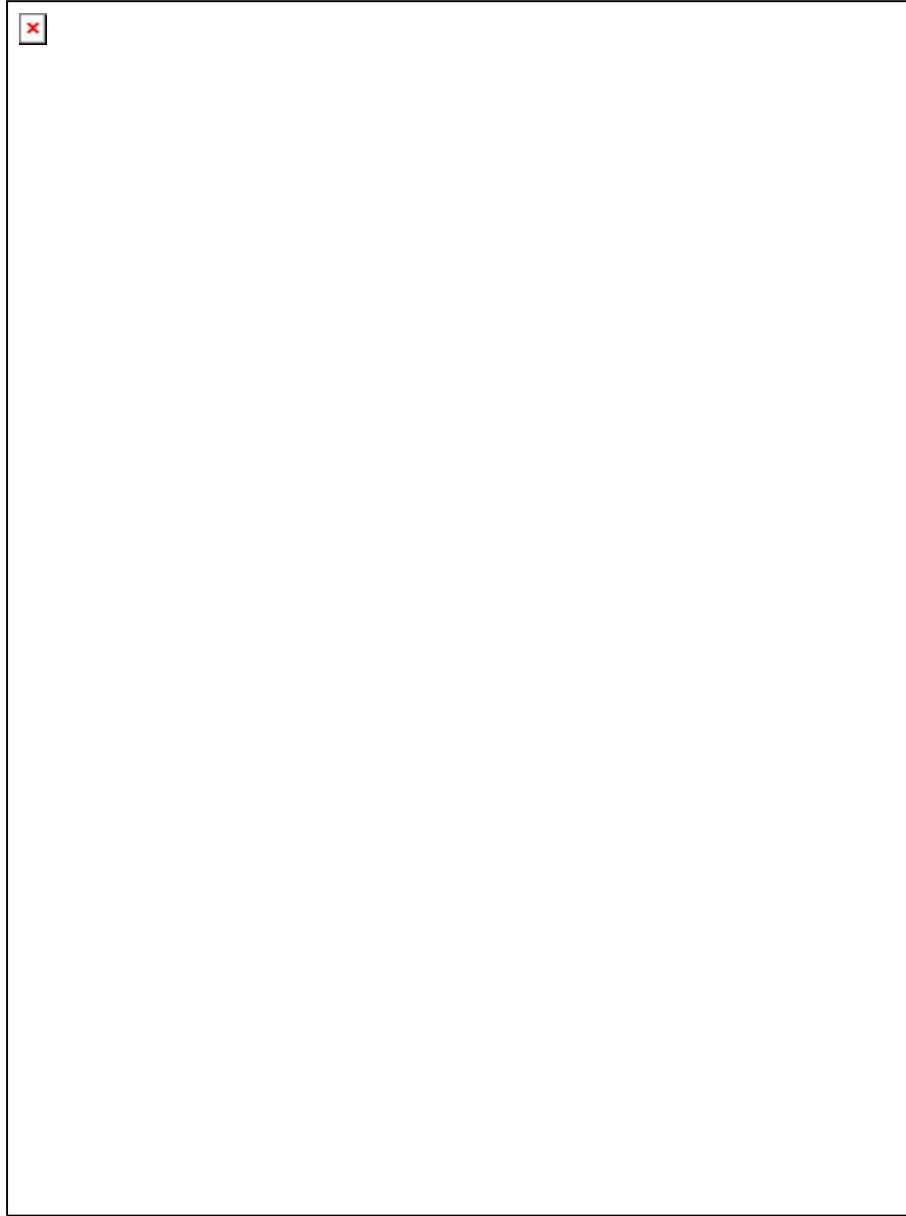
4. ábra: A testsúly-vesztés (ΔTT) dinamikája a kiindulási testsúly százalékos értékében kifejezve 120 órás éheztetés során IP CAP deszenzitizált (sötét karika) és kontroll (világos karika) patkányokban. A kiindulási testsúlyok értékei az előbbieik sorrendjében 258 ± 5 és 256 ± 5 g voltak. Ismételt mérés ANOVA teszt alapján a testsúly szignifikánsan csökkent az idő függvényében [$F(4,40) = 291,801$, $p = 0,000$]; a csökkenés szignifikánsan kifejezettebb volt a CAP előkezelt patkányokban [$F(1,10) = 5,603$, $p = 0,039$]; a hatás mind előkezelés-, mind időfüggő volt [$F(4,40) = 2,981$, $p = 0,030$].

Az 5. ábra más állatcsoportokon a nappali nyugalmi T_c és anyagcsere értékeket mutatja kontroll és deszenzitizált patkányokban a 48 vagy 120 órás éheztetés előtt és azoknak végén, továbbá 1 nappal a 120 órás éheztetés után. Mind az anyagcsereben, mind pedig a T_c -ben szignifikáns csökkenés figyelhető meg 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.

Az 5. ábrán nem láthatók azon kísérletek eredményei, amikor két további állatcsoport anyagcsere vagy testhőmérséklet változásait 10 napon keresztül folyamatosan (éjjel-nappal) regisztráltuk, melyben benne foglaltatott 120 órás éheztetés.

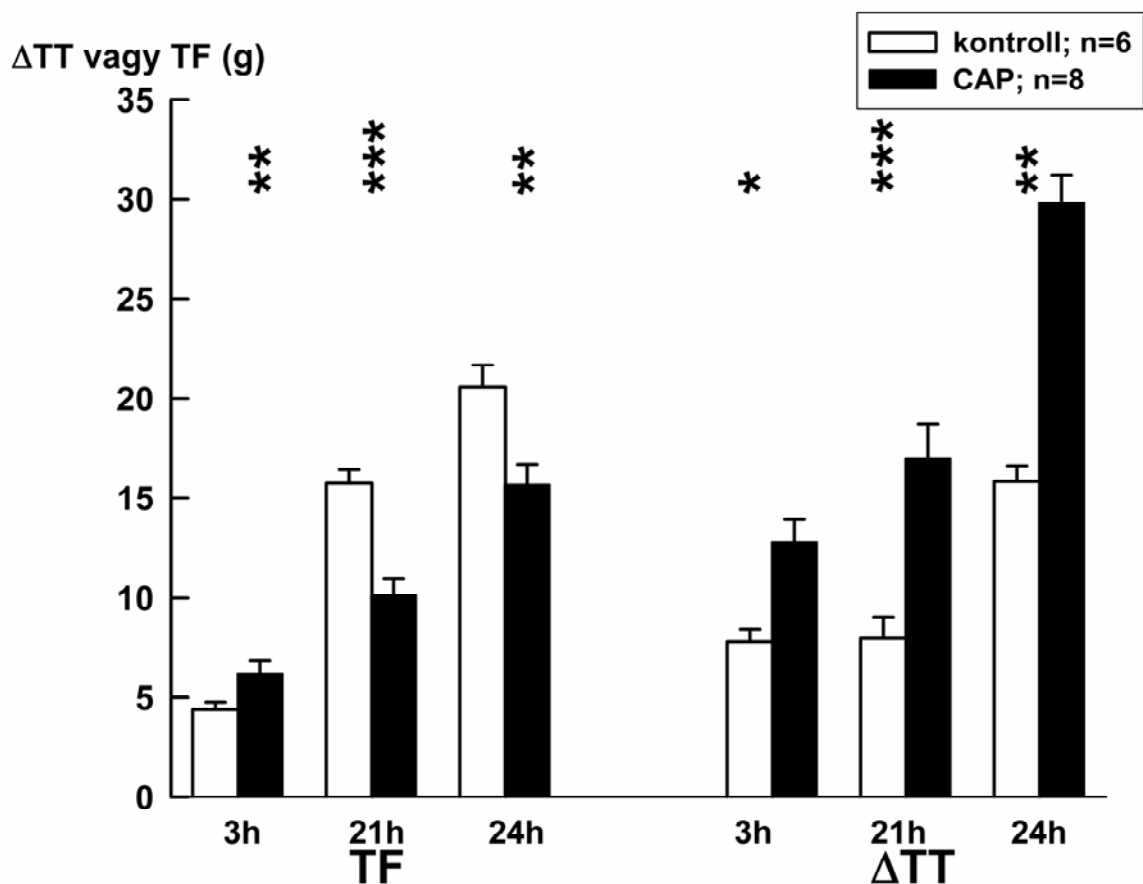
Annak érdekében, hogy az éheztetés-indukálta hipometabolizmust eredményesebben vizsgálhassuk, ez utóbbi kísérletekben az anyagcsere méréseket szubneutrális (20°C) környezeti hőmérsékleten végeztük. A fentiekben ismertetetteknek megfelelően, éhezés hatására mind a nappali, mind pedig az éjszakai nyugalmi 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.



5. ábra: A maghőmérséklet (T_e) és a nyugalmi anyagcsere (MR) értékei 120 órás éheztetés előtt, alatt, után és az újraetetés első napján IP CAP deszenzitizált (sötét oszlopok) és kontroll (világos oszlopok) patkányokban. Az egyes csoportok között szignifikáns különbség nem mutatkozott. A csoportokon belüli ismételt mérések ANOVA Bonferroni's *post hoc* teszttel talált különbséget * jelöli.

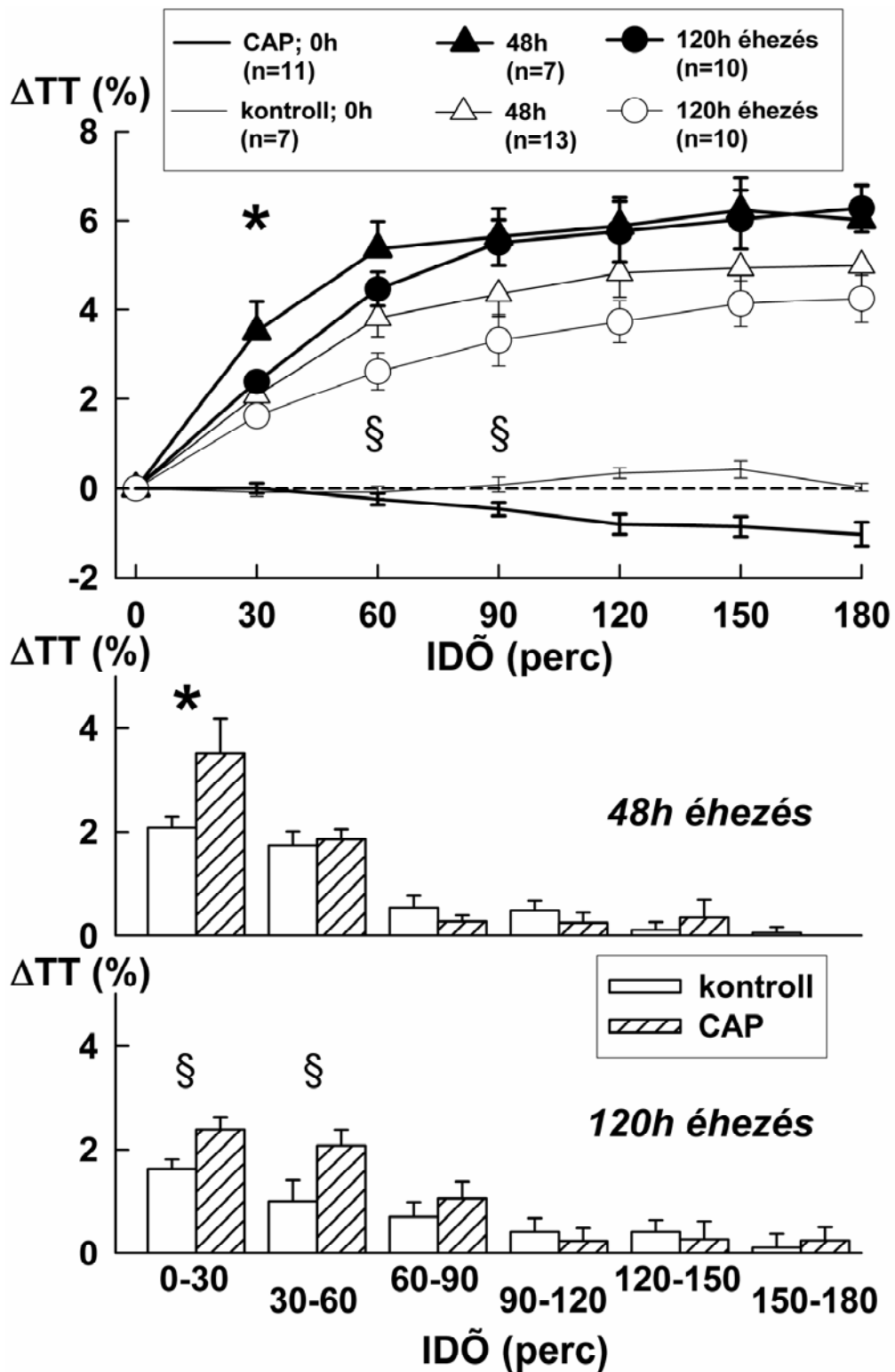
Az újraetetés első 3 órája alatt, 48 órás éheztes után, az IP deszenzitivált patkányok szignifikánsan ($p < 0,05$, t-teszt) többet ettek ($6,2 \pm 0,6$ g) a kontrolloknál ($4,4 \pm 0,3$ g), míg a rákövetkező 21 órában a deszenzitivált állatok táplálékfelvétele volt a kisebb, mintha egyfajta kompenzáló mechanizmus fejlődött volna ki a korábbi „túlevésnek” eredményeként (6. ábra) Hasonló eredményeket találtunk a 120 órás éhezés esetében is. Meglepő, hogy a 21 órás kisebb mértékű táplálékfelvétel ellenére is, a deszenzitivált patkányok súlygyarapodása szignifikánsan meghaladta a kontrollokét, 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.



6. ábra: A táplálékfelvétel (TF) és a testsúlyváltozás (ΔTT) értékei 48 órás éheztes után IP CAP deszenzitivált (sötét oszlopok) és kontroll (világos oszlopok) patkányokban az első 3 és azt követő 21 órában külön-külön, illetve együtt a teljes nap alatt. A kiindulási testsúlyok az éhezés végén a CAP előkezelt állatokban 196 ± 7 g, kontrolloknál 189 ± 3 g voltak. Ismételt mérések ANOVA tesztel TF: $F(1,12) = 9,20$, $p = 0,01$; ΔTT : $F(1,12) = 62,18$, $p = 0,000$. A két csoport között az újraetetés 3, 21 és 24 órája alatti egyirányú ANOVA tesztel talált szignifikáns különbséget * jelöli.

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 éhezőéknél 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 (7. ábra). 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 gyomorfejesüléstől) 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 (6. ábra). 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.



7. ábra felső rész: A kumulatív testsúly-visszanyerés (ΔTT) alakulása – az éhezés végén mért kiindulási testsúly százalékos értékében kifejezve – az újraetetés pillanatától kezdve IP CAP deszenzitizált (sötét szimbólumok) és kontroll (világos szimbólumok) patkányokban. Az éhezés előtti testsúlyok hasonlóak voltak a két csoportban (240-265 g). Ismételt méréses ANOVA a 6 csoport között: $F(5,52) = 37,95$, $p = 0,000$. A CAP deszenzitizált és kontroll csoportok között egyirányú ANOVA Bonferroni's *post hoc* teszttel talált szignifikáns különbséget a 48 óráig éhezett csoportban *, a 120 óráig éhezettekénél § jelöli. (Folytatás a következő oldalon.)

7. ábra középső rész: A testsúly-visszanyerés frakcionált változása (az éhezés végén mért kiindulási testsúly százalékos értékében kifejezve) 48 órás éhezés után, az újraetetés első 3 órájában, 30 perces periódusokban kifejezve. Alsó rész: Az előbbieknél megfelelő frakcionált változások 120 órás éhezést követően. A statisztikailag szignifikáns különbséget (egyirányú ANOVA) az ábra felső részénél használtakkal megegyező szimbólumok jelölik.

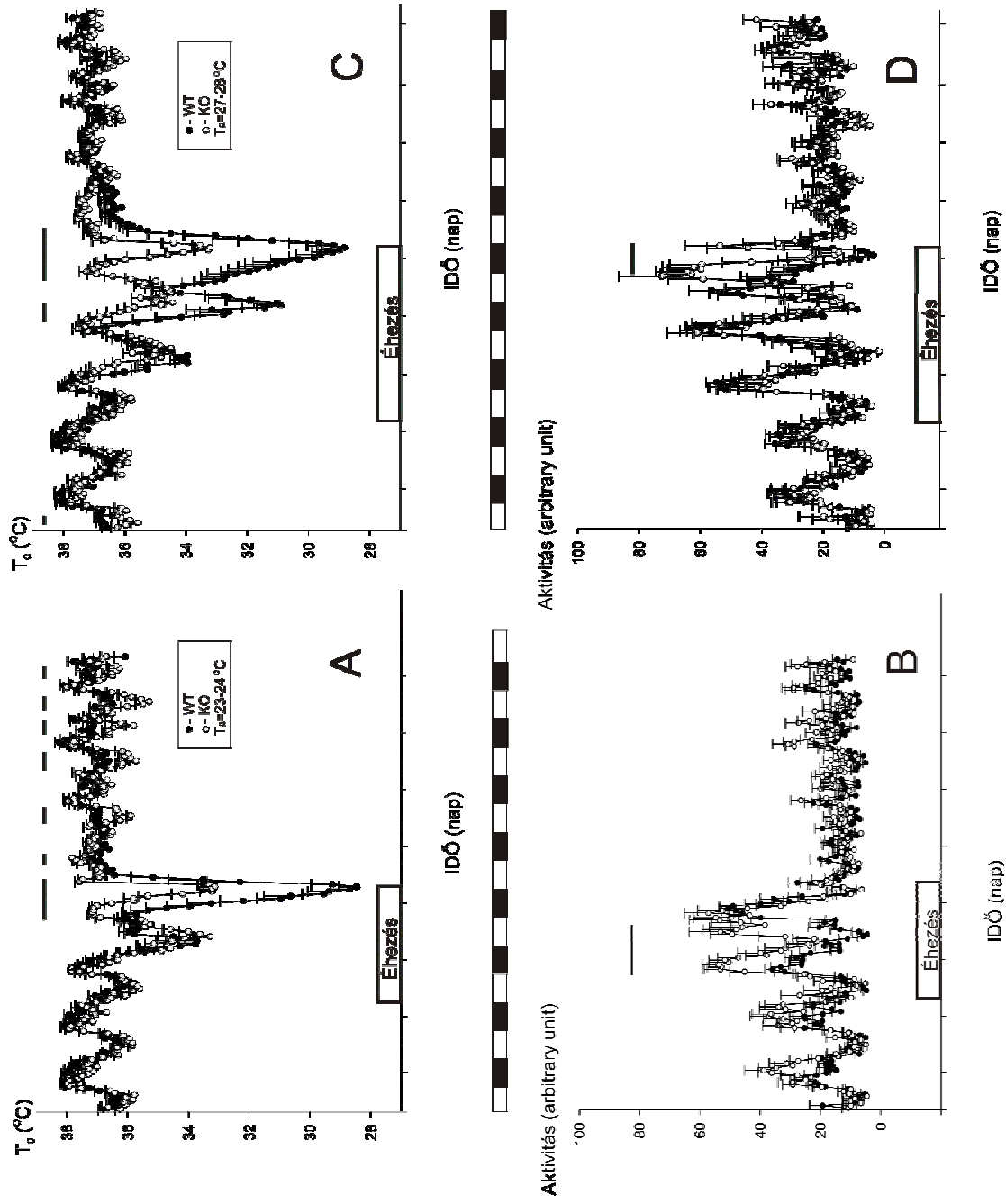
4.2.3. A TRPV1 ioncsatorna szerepe éhezésben

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 éhezés során sokkal kifejezettebb volt (8. ábra A és B része), továbbá, az éhezés 72 órára való hosszabbításával tovább progrediált (8. ábra C és D része). A *Trpv1* KO egerekben a lokomotoros aktivitás második csúcserőteke – az éhezés második napján – szignifikánsan magasabbnak bizonyult az első csúcshoz 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 (8. ábra D része).

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 éhezés 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. Ahogy az a 8. ábrán is látszik, 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.

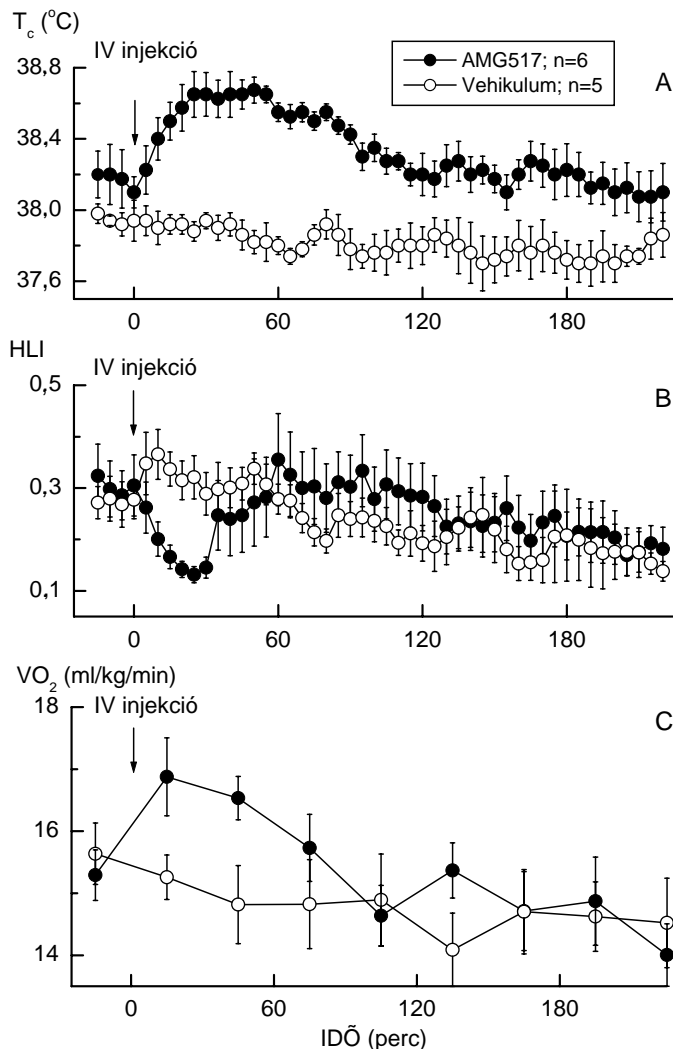


8. ábra: A maghőmérséklet (T_c : A,C) és a lokomotoros aktivitás (Aktivitás: B,D) változása 48 órás (A – B) és 72 órás (C – D) éheztetés során *Trpv1* KO (világos karika) és vad típusú (sötét karika) egerekben. A sötét-világos ciklusokat fekete-fehér téglalapok jelzik. A *Trpv1* KO és vad típusú egerek közötti szignifikáns különbséget a görbe feletti vízszintes vonalak jelölik ($p < 0,05$).

4.2.4. A TRPV1 ioncsatorna szerepe a normális testhőmérséklet fenntartásában

Termoneutrális környezetben ($T_a = 26\text{ °C}$), $100\text{ }\mu\text{g/kg}$ AMG517 (szelektív TRPV1 antagonist) IV infúziója a T_c szignifikáns emelkedését okozta patkányokban, míg a vivőanyag infundálása a T_c -re nem volt hatással (9. ábra A része).

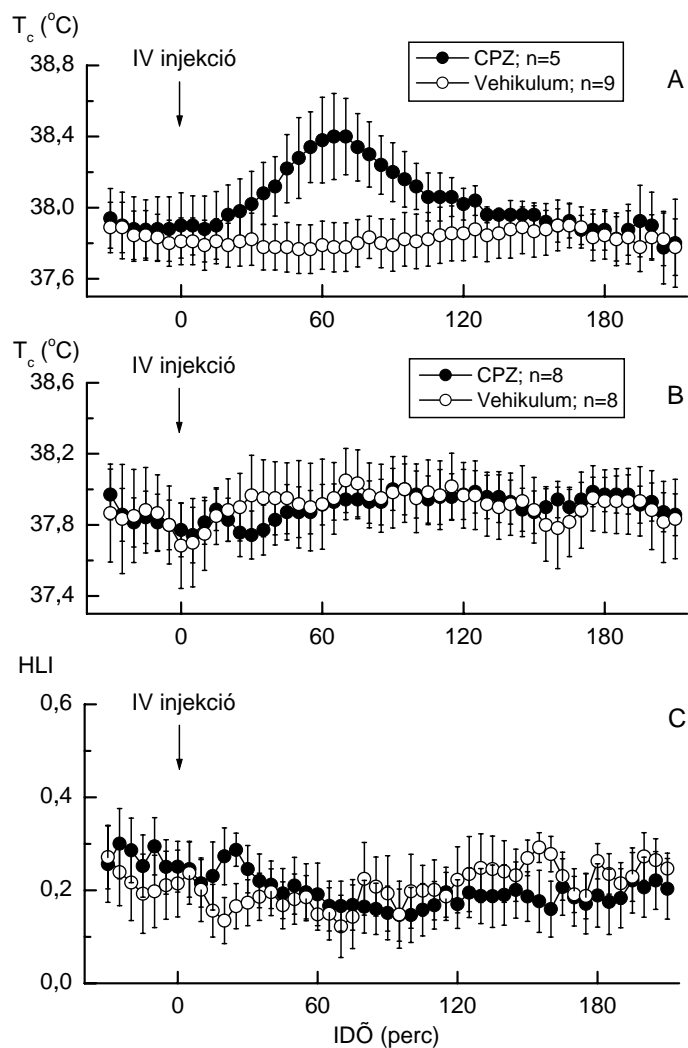
A termoneutrális T_a -nak köszönhetően a mozgásukban részlegesen korlátozott állatoknak mindkét autonóm termoeffektoruk (hőleadás, anyagcsere) igénybevételére lehetőségük volt, biztosítva számunkra a hipertermia mechanizmusának tanulmányozását. Azt találtuk, hogy AMG517 hatására a T_c emelkedésével egyidőben a hőleadás csökkenése (9. ábra B része) és az anyagcsere fokozódása (9. ábra C része) egyaránt létrejött. Az is látszik, hogy a vivőanyag egyik termoeffektorra sem volt hatással.



9. ábra: A maghőmérséklet (T_c : A), heat loss index (HLI: B) és oxigén fogyasztás (VO_2 : C) változása AMG517 (sötét karika) és vehikulum (világos karika) IV infúziója során termoneutrális környezeti hőmérsékleten patkányokban.

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

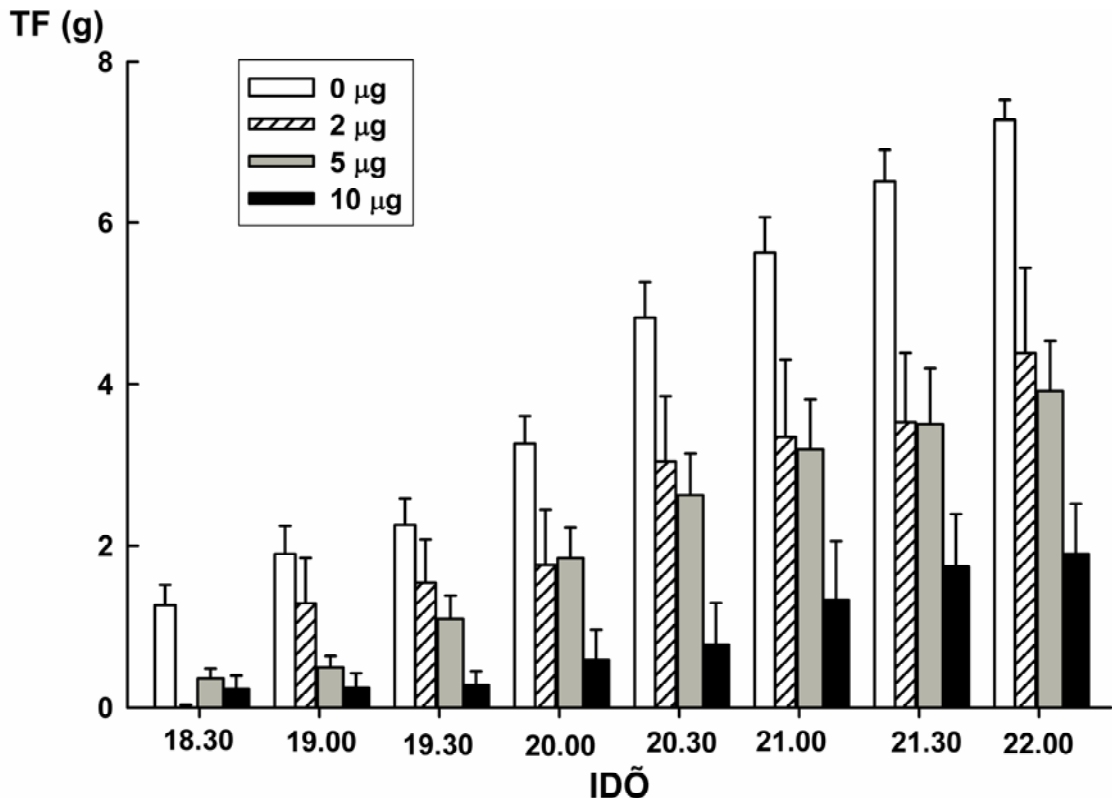
Tengerimalacokban, 65,5 $\mu\text{mol/kg}$ CPZ IV infúziója a T_c szignifikáns emelkedését okozta: $0,5 \pm 0,1^\circ\text{C}$, $p < 0,005$ (10. ábra A része). Amikor azonban ugyanezt a dózisu CPZ-t (65,5 $\mu\text{mol/kg}$), szintén IV, patkányoknak infundáltuk nem regisztráltunk változást sem a T_c -ükben (10. ábra B része), sem pedig a HLI-ükben (10. ábra C része). 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.



10. ábra: A maghőmérséklet (T_c) és a heat loss index (HLI) változása capsazepine (CPZ: sötét karika) és vehikulum (világos karika) IV infúziója során termoneutrális környezeti hőmérsékleten tengerimalacokban (A) és patkányokban (B és C).

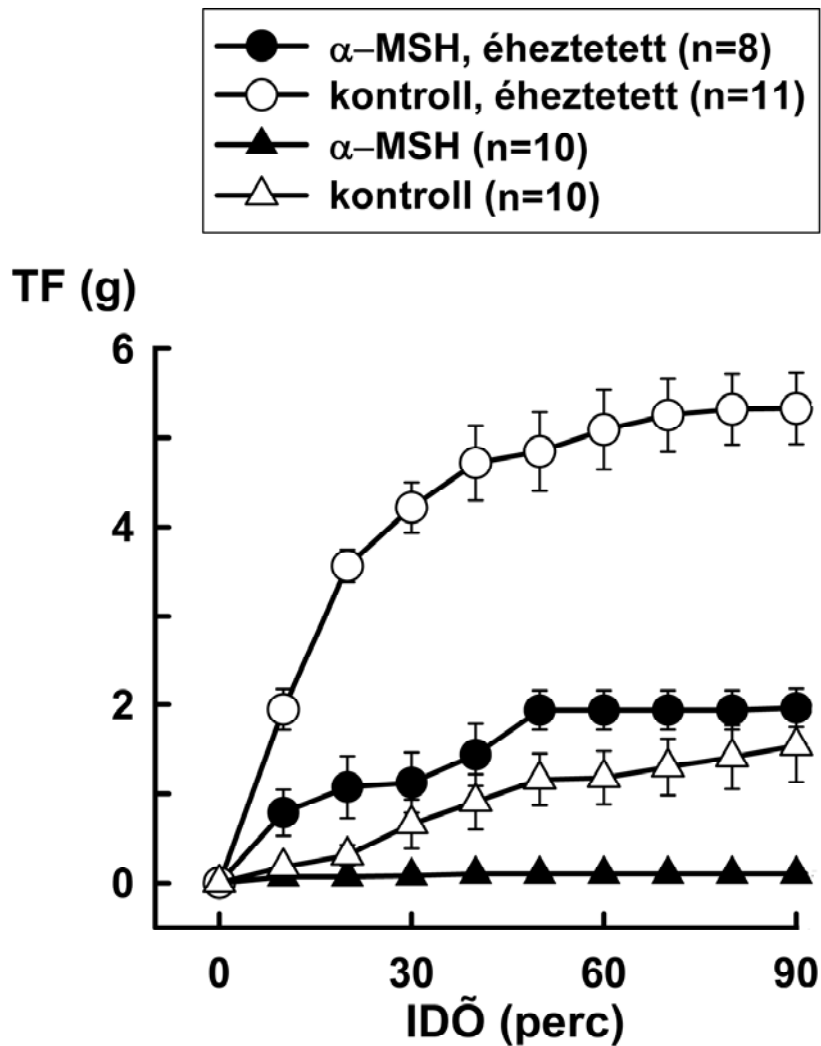
4.2.6. Centrálisan adott α -MSH koordinált energetikai hatásai

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 zárkoztak fel táplálékfelvételükben a kontollokhoz. A 2 és 5 μg -os dózis egyformán effektív volt, 10 μg α -MSH esetén a szuppresszió valamelyest kifejezettebbnek bizonyult (11. ábra).



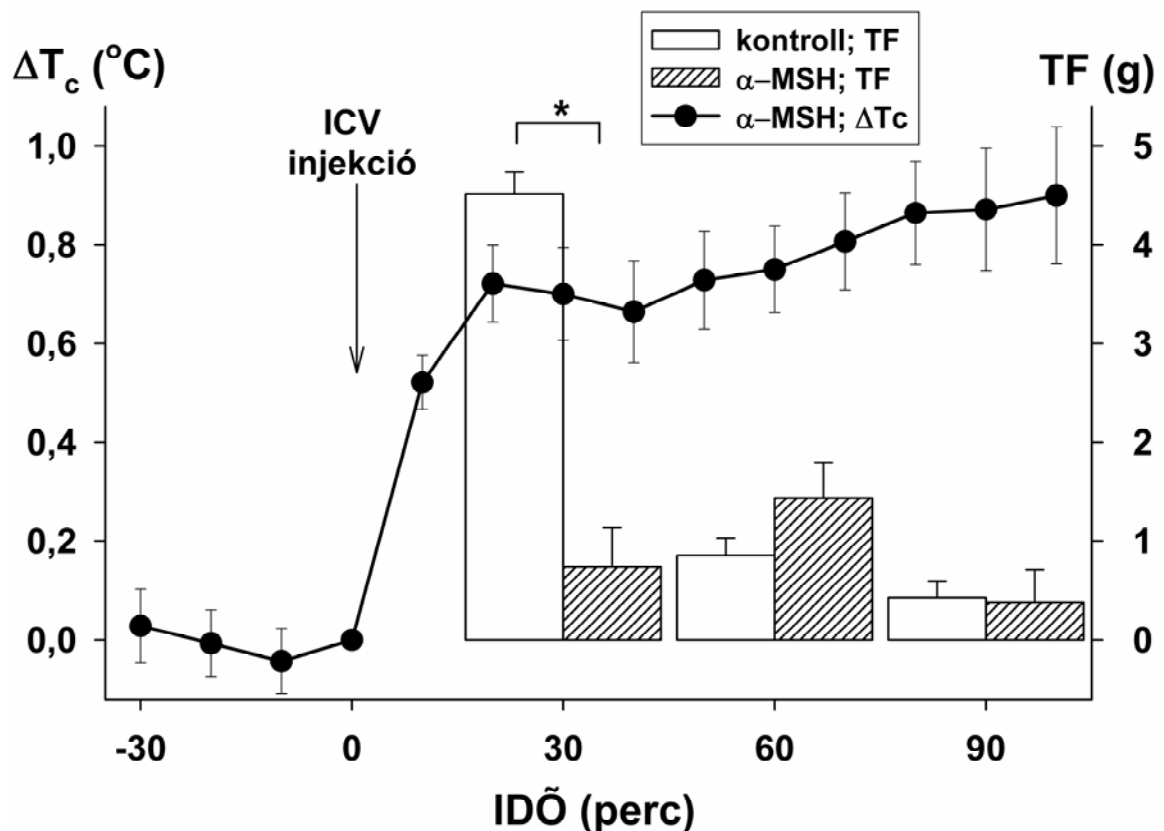
11. ábra: A spontán kumulatív táplálékfelvétel (TF) változása α -MSH különböző dózisainak ICV injekciója után 3-4 hónapos patkányokban. Az egyes csoportok testsúlyai 351-416 g között változtak. Az 5 μl térfogatú ICV injekció este 6 órakor történt. Ismételt mérés ANOVA: a sötét ciklus elején minden állat enni kezdett, így az egyéni belüli tesztek mind szignifikáns különbséget mutattak [$F(7,266) = 69,897$; $p < 0,001$]. Az egyének közötti teszt szignifikáns különbséget mutatott TF értékében a centrálisan adott vehikulum és a különböző dózisú α -MSH-val kezelt csoportok között [$F(3,38) = 14,235$; $p < 0,001$]. Scheffe *post hoc* teszt különböző méretű szignifikáns különbséget mutatott a kontroll csoport és a különböző dózisú α -MSH-val injektált csoportok között, a p értékei a 2, 5 és 10 μg -os csoportokban 0,036, 0,001 és 0,000-nak adódtak.

Éheztetés-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 kezeltétől (12. ábra).



12. ábra: A spontán (háromszögek) és a 24 órás éheztetés utáni (karikák) kumulatív táplálékfelvétel (TF) változása 5 μ g α -MSH (sötét szimbólumok) és vehikulum (világos szimbólumok) ICV injektálása után 3-4 hónapos patkányokban.

A koordinált katabolikus hatás fennállásának tisztázására, a centrális α -MSH-indukálta testhőmérsékleti változásokat is regisztráltuk és azok időbeli lefolyásának dinamikáját az előbbieken találtakhoz hasonlítottuk (13. ábra). A görbe lefutásából jól látszik, hogy 5 μ g α -MSH ICV adása termoneutrális zóna alsó határán, vagy alatta ($T_a = 25^\circ\text{C}$, vagy alacsonyabb) környezeti hőmérsékleten a testhőmérséklet azonnali emelkedését okozza. Más kísérletekben, de hasonló időskálán ezzel egyidejűleg, az oszlopdiagrammal ábrázolt, 24 órás éheztetést követő újraetetés alatti frakcionált táplálékfelvétel az anyag azonos dózisának hatására szignifikánsan elmarad a kontrollokétól.



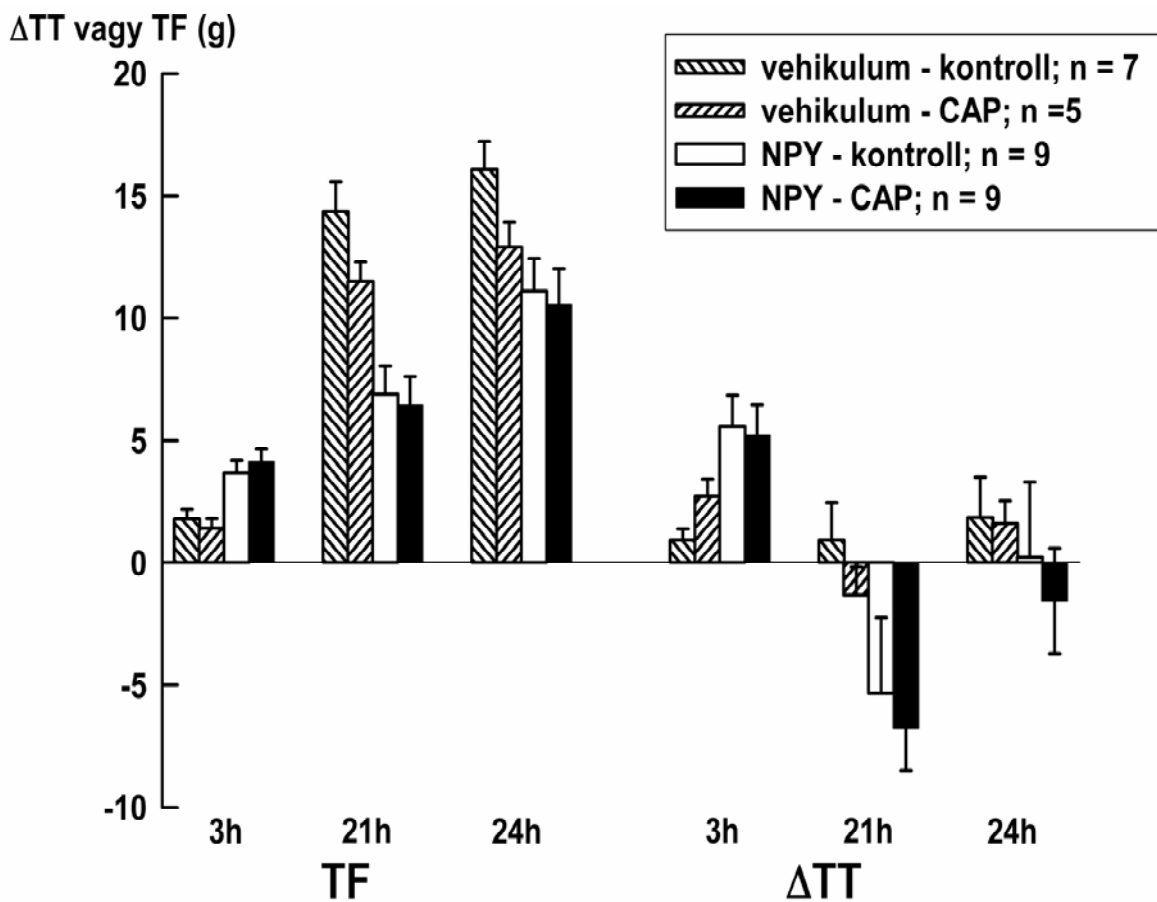
13. ábra: Két kísérlet superimpositioja: a 24 órás éheztesítés utáni frakcionált táplálékfelvétel (TF; oszlopdiagram, jobb oordináta) és nem-éhezett állatok maghőmérsékletének (ΔT_c ; görbe, bal oordináta) változása 5 μg α -MSH ICV injektálása után. Utóbbi kísérletben a patkányok kiindulási maghőmérséklete $37,7 \pm 0,2^\circ\text{C}$, a környezeti hőmérséklet $\leq 25^\circ\text{C}$ volt. A statisztikailag szignifikáns TF különbséget * jelöli ($p < 0,05$).

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

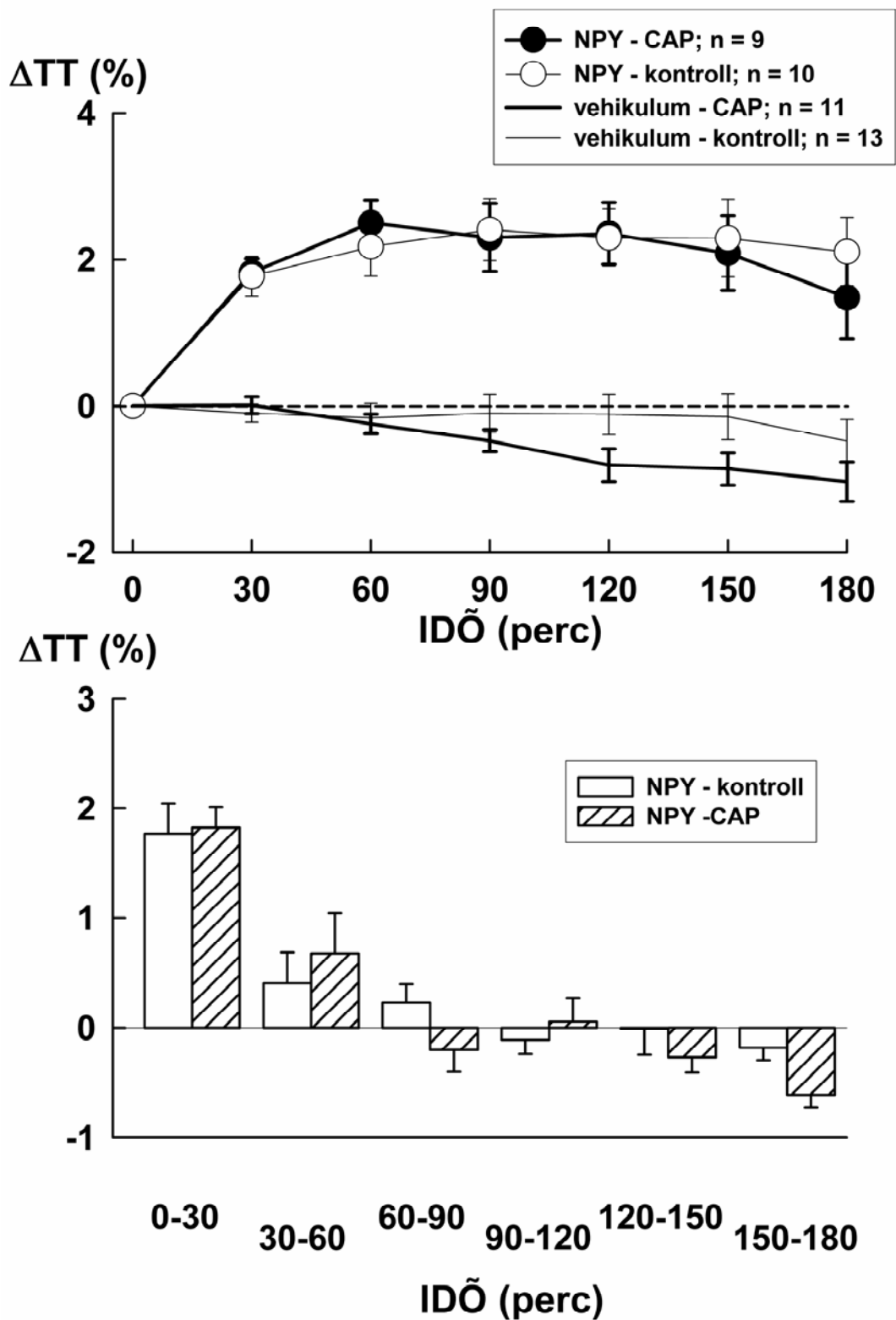
NPY 2 μg -jának ICV adása a táplálékfelvétel indukálásához vezetett az egyébként jóllakott állatokban. Ellentétben azonban az éhezés-indukálta hiperfágiával és testsúlyvisszanyeréssel (ld. 4.2.2.), sem a NPY hatására bekövetkező táplálékfelvétel fokozódás (14. ábra), sem az általa indukált kumulatív/frakcionális testsúlygyarapodás (15. ábra) 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 (ld. 4.2.2.), az elfogyasztott táp abszolút mennyisége azonban lényegesen kisebb volt. A hipofágiának köszönhetően a 24 óra alatt bekövetkező

testsúlyváltozások különböztek: az éheztetett patkányokkal szemben a NPY-val kezelt állatok testsúlya inkább csökkent (14. ábra).

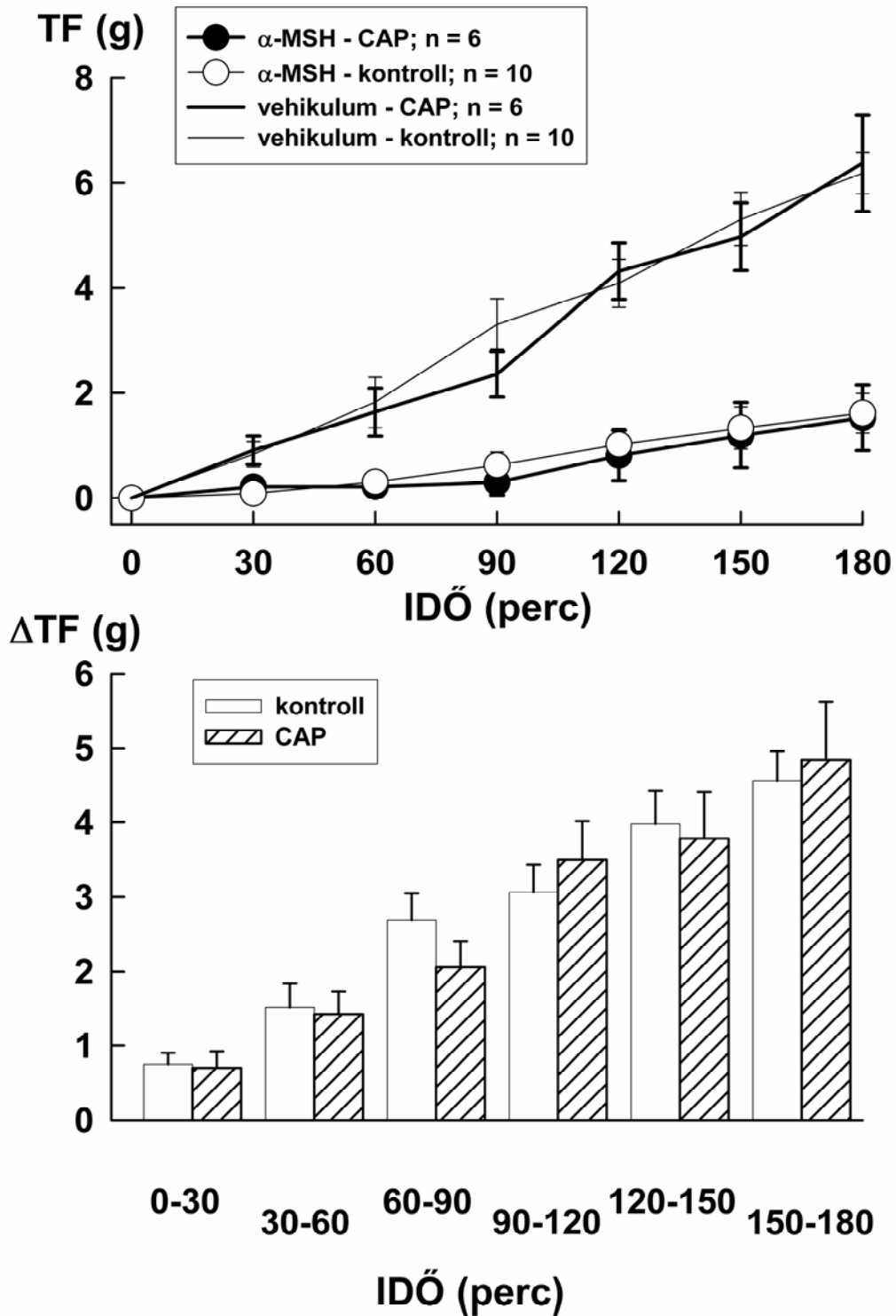
A 4.2.6-ban találtaknak megfelelően ICV α -MSH az éhezés-indukálta táplálékfelvétel redukcióját okozta az újraetetés során mind a deszenzitizált, mind a kontroll állatokban. Az anorexigén hatás mértékében – a jelen kísérletsorozatban használt módszerekkel gyűjtött adatok alapján – nem mutatkozott szignifikáns különbség a deszenzitizált és kontroll csoportok között (16. ábra).



14. ábra: A táplálékfelvétel (TF) és a testsúly (Δ TT) változása IP CAP deszenzitizált és nem deszenzitizált patkányokban 2 μ g NPY (fekete és fehér oszlopok) és vehikulum (csíkos oszlopok) ICV injektálása után. A kiindulási testsúlyok 247-267 g között voltak. A deszenzitizált állatok TF és Δ TT értékei szignifikánsan nem különböztek a kontrollokétól. Egyirányú ANOVA teszt azonban szignifikáns különbséget mutatott a NPY-val és a vehikulummal kezelt csoportok között: TF 3, 21 és 24 óránál ($p < 0,001$, $p < 0,001$, ill. $p < 0,01$); Δ TT 3 és 21 óránál ($p < 0,01$ és $p < 0,05$).



15. ábra: A kumulatív (felső rész) és a fracionált (alsó rész) testsúlyváltozás (ΔTT) – a kiindulási testsúly százalékában kifejezve – 2 μg NPY és vehikulum ICV injekciója után IP CAP deszenzitizált és kontroll állatokban. A kiindulási testsúlyok 248-258 g között voltak. Az ICV vehikulumnak nem volt hatása (csak a kumulatív változásokat ábrázoltuk) sem a deszenzitizált sem a kontroll csoportban. A deszenzitizált és kontroll csoportok között szignifikáns különbség nem mutatkozott.



16. ábra: A spontán kumulatív táplálékfelvétel (TF; felső rész) és a frakcionált táplálékfelvétel (Δ TF; alsó rész) változása 5 μ g α -MSH és vehikulum ICV injekciója után IP CAP deszenzitized és kontroll állatokban. A Δ TF értékeket az α -MSH-val és vehikulummal kezelt állatok közti különbségeként ábrázoltuk. A kiindulási testsúlyok 310-423 g között voltak. Az 5 μ l térfogatú ICV injekció este 6 órakor történt. Az ICV vehikulumnak nem volt hatása sem a deszenzitized sem a kontroll csoportban. A deszenzitized és kontroll csoportok között szignifikáns különbség nem mutatkozott.

5. Megbeszélés

5.1. A kitűzött kutatási feladat

Az energetikai állapot változásainak mechanizmusát vizsgáltuk különféle állatkísérletes modellekben. Az energetikai állapotot a táplálékfelvétel–energiaforgalom–testsúly, illetve a hőtermelés (energiaforgalom)–hőleadás–testhőmérséklet összefüggésének alapján elemeztük. Különféle adaptív energetikai egyensúly-változások esetén ezek a komponensek eltérő eredettel, eltérő kombinációban, de komplex formában lehetnek érintettek és feltételeztük, hogy néhány perifériás idegi tényező azonos, vagy hasonló módon vesz részt különféle folyamatok szabályozásában, miként a centrális mediátorok szerepében is lehetnek hasonlóságok, átfedések.

Feltételeztük, hogy – mivel a táplálékfelvétellel kapcsolatos információ elsősorban az afferens vagus abdominalis-hoz kötött – ennek az idegnek kiemelt jelentősége lehet az adaptív energetikai folyamatokban. Hasonló univerzális jelentősége a termoreceptoroknak lehet ilyen energetikai szabályozásokban. A két neurális mechanizmus kölcsönösen befolyásolhatja a táplálékfelvételt, illetve a hőszabályozást: a nervus vagus befolyásolhatja az energiaforgalmat és hőszabályozást is, a termoreceptorok pedig a hőszabályozást és a táplálékfelvételt. A centrális mediátorok közül a katabolikus szempontból legfontosabb POMC-MSH-melanocortin rendszer endogén agonistájának, az α -MSH-nak vizsgálatát tűztük ki célul, mint olyan anyagét, amely ezen adaptációs energetikai folyamatokban fontos lehet.

5.2. Eredmények megbeszélése, összefoglalás

5.2.1. CAP-szenzitív abdominális vagális afferensek és láz

A 4.2.1. 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 – annak ismeretében, hogy az első fázis mind teljes subdiaphragmaticus vagotomia, mind pedig lokális, IP CAP deszenzitizáció esetén redukált (ld. 1.2., ill. 4.2.1.) – 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. A láz kialakulásában szerepet játszó, hepatikus eredetű, vérbe került PGE – részben vagus-izgatással hat, részben albuminhoz kötődve – gyorsan eljuthat az agyba (Ivanov *et al.*, 2002; Romanovsky, 2004b), a komplement rendszer aktivációja szintén gyors jelátviteli utat biztosít (Blatteis & Li, 2000). Ezek a humorális mechanizmusok felülmúlhatják és háttérbe szoríthatják a vagális komponenseket, amelyek inkább a kismértékű, késői monofázisos láz létrehozásáért felelősek (Romanovsky *et al.*, 1997). Ugyanezek a humorális mechanizmusok a nervus vagus hiányában (pl. vagotomia, IP CAP deszenzitizáció is képesek normális polifázisos lázreakciót kiváltani (Székely *et al.*, 2000). A máj központi szerepét a láz patogenezisében az is alátámasztja, hogy a jelölt LPS szisztémás injekciót követően Kupffer-sejtekhez kötődik, amelynek létrejöttével a láz kifejlődése jó összhangban van, továbbá gadolinium-klorid mind a kötődést, mind pedig az LPS-re adott lázreakciót gátolni képes (Li & Blatteis, 2004). Nincs egyértelmű magyarázat arra, hogy perineurális CAP deszenzitizáció után, miért találtunk redukción a polifázisos láz harmadik fázisában: annak ellenére, hogy ebben a fázisban a nervus vagus szerepet játszhat, annak sokkal inkább efferens, mintsem afferens rostjainak közrejátszását lehetne feltételezni, a CAP deszenzitizáció pedig az efferens rostokat nem érinti.

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.

5.2.2. 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 (ld. 4.2.2. bekezdés) – alapján levonható a következtetés: az abdominális afferensek kizárólagos, lokalizált károsodása a jóllakottságérzet gyengülését eredményezi.

Tekintvén, hogy ez a típusú deszenzitizáció a fiziológias hőszabályozást nem károsítja (Dogan *et al.*, 2004; Steiner *et al.*, 2007), 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 szállító jóllakottsági szignáloknak legfeljebb mérsékelt és átmeneti befolyása lehet a táplálékfelvétel szabályozására. A szignálok tartós hiánya mégis magyarázhatná az újraetetés első 3 órájában megfigyelt fokozott hiperfágiát, ugyan a fogyasztási többlet már a rákövetkező 21 óra során kompenzálódott. Ellentmondva az ilyenkor elvárható átmeneti túlzott táplálékfelvételi periódusoknak, hosszabb távon nem találtunk testsúlyeltéréseket. 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 gyomorfeszülés által kiváltott erős és tartós jóllakottsági szignálok jelenlétével magyarázható (Paintal, 1954). A relatív hipofágia tükrében különösnek tűnhet, hogy a deszenzitizált állatok éhezés után, ugyanezen 21 óra alatt mért testsúlya mindvégig magasabb maradt a kontrollokénál. Szem előtt tartva azonban, hogy a vagális afferens rostok szerepet játszanak a gyomorürülésben is (Raybould, 1991; Zhou *et al.*, 2008), magyarázatot adhat arra, hogy a CAP előkezelt állatokban a vagális afferentáció károsodása a táplálék továbbjutásának lassulását okozhatta, ami pedig nyilvánvalóan a kontrollokét meghaladó súlygyarapodáshoz vezethetett.

Azt az érdekes eredményt találtuk, hogy a hosszabb idejű táplálékmegvonást 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 nagydózisú NPY vagy orexin ICV adásának hatására az itt találtaknál sokkal nagyobb mértékű fracionált és kumulatív súlygyarapodás is kiváltható (Székely *et al.*, 2002; Székely *et al.*, 2005). A „meal size” tehát nem mechanikusan limitált, hanem éhezési és jóllakottsági szignálok alapján szabályozott. A közölt eredmények bizonyítják, hogy a hosszabb táplálékmegevonás nem okoz fokozottabb éhségérzetet, annál, ami már az éheztetés első 48 órájában kialakul.

Táplálék hiányában a jóllakottságérzet is hiányzik. Ez ugyan elvileg eltérő lehet a CAP deszenzitizált és kontroll csoportokban, de nem magyarázza az eltérő súlyvesztést. Jóllakottsági szignálok helyett inkább éhezési szignálok jelenlétére kell gondolni, aminek eltérése magyarázhatja az eltérő hipometabolikus adaptációt éhezéshez.

Az éhezési szignálok (és nem egyszerűen a jóllakottsági szignálok hiánya) nemcsak az éhezést követő táplálékfelvételhez, hanem az éhezés alatti energiaforgalom szuppressziójához is (mintegy inverz posztprandiális hipermetabolizmus) és a T_c csökkenéséhez is hozzájárulhatnak (Schwartz *et al.*, 1995; Porte *et al.*, 2002). Éhezési vagus szignálok hiánya nem biztos, hogy elégséges tartós spontán hipofágia és súlyvesztés létrehozásához: más rövidtávú éhezési szignálok (pl. a glükóz szint vagy más humorális faktorok változásai) feltehetően részben helyettesítik a vagális éhezési mechanizmusokat (Ritter *et al.*, 1981; Peters *et al.*, 2006). Mégis, az IP CAP által okozott vagális károsodás eredményeként feltehetően kialakulhat az energiaforgalom éhezéshez való adaptálódásának zavara és a normális hipometabolizmus elégtelensége. Táplálékmegevonás során, a nyugalmi anyagcsere jellegzetesen az éhezés második fázisban kezd csökkenni (Cherel *et al.*, 1988), vagyis relatíve későn – ennek a folyamatnak a szuppressziója magyarázhatja a deszenzitizált patkányok éheztetés 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 megevonása 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, bár módszereink egy részével a CAP deszenzitizált és kontroll éhező csoportok között nem találtunk különbséget. Ennek azonban más magyarázata is lehet: a kalorimetria semi-restrained (enyhén stresszelt) állatokban, azok nyugalmi periódusát megzavarva (nappal) történt, ami az egészsznapos, vagy egész éhezési periódusra nem szükségszerűen érvényes,

különösképpen, hogy számításaink szerint mintegy 3% anyagcsere különbség elég lehet az éhezési súlykülönbség magyarázatához. Módszereink finomításával (szabadon mozgó állatokban 24 órás folyamatos regisztráció szubneutrális környezeti hőmérsékleten) mindazonáltal sikeresen regisztrálni tudtuk az IP CAP deszenzitizált állatok kontrollokhoz képest szignifikánsan csökkent mértékű nyugalmi hipometabolizmusát és hipotermiáját az éhezés késői fázisában (ld. 4.2.2. bekezdés). Az a tény, hogy szubneutrális környezeti hőmérsékleten a hőleadás szerepe kismértékű, szintén alátámasztja a magasabb nyugalmi anyagcsere szerepét az IP CAP deszenzitizált állatok éhezés alatti magasabb T_c -ének fenntartásában. A defektív hipometabolizmus (avagy rendellenes relatív hipometabolizmus) pedig lehetővé teszi egy relatíve magas T_c kialakulását, továbbá hozzájárulhat az IP CAP deszenzitizált állatokban talált fokozottabb testsúlyvesztéshez is éheztetés során.

Az újraetetés során a jóllakottság – az alacsony anyagcsere és T_c rendeződésével többé-kevésbé egyidejűleg – kialakult a testsúly normalizálódása előtt, amely arra utal, hogy a jóllakottság (vagy éhezés) és a metabolikus-hőszabályozási állapot (legalábbis részben) közös faktoroktól függenek. Ezek közül a közös faktorok közül az abdominális neurális afferens szignálok fontos, igaz nem kizárólagos jelentőségű szerepet töltenek be (Ritter, 2004).

Összefoglalva, előbbieik alapján azt a következtetést vonhatjuk le, hogy az IP CAP deszenzitizált állatok éhezés 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 vagálishan 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.

5.2.3. A *TRPV1* ioncsatorna és éhezés

A *Trpv1* KO és a vad típusú egerek éheztetésre 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 éhezés 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 (ld. 5.2.2. bekezdés). A maghőmérsékletnek 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 létrejötte alapján általánosságban elmondhatjuk: a 4.2.3. bekezdésben ismertetett eredményeink megerősítik egyrészt – a táplálék megvonására kialakuló energetikai változások tekintetében – más szerzők által korábban leírtakat (ld. 1.1. fejezet), másrészt – a TRPV1 ioncsatorna éhezésben betöltött funkciójának tekintetében – az IP CAP deszenzitizált állatok éheztetése során találtakat (ld. 4.2.2. és 5.2.2. bekezdések).

Az éheztetés 72 órára hosszabítása lehetővé tette a T_c progresszív nappali csökkenésének és éjszakai ismételt emelkedésének megfigyelését. Az utóbbi emelkedéseket mindkét genotípus esetén fokozott éjszakai lokomotoros aktivitás kísérte, *Trpv1* KO egerekben ez a második és harmadik éjszaka során további progresszív növekedést mutatott. Ez a jelenség a fizikai aktivitás termoregulatórikus hőtermelési folyamatokban betöltött szerepének bizonyítékául szolgálhat (Girardier *et al.*, 1995; Weinert & Waterhouse, 1998).

Újraetetés során mindkét egércsoportban a T_c meredek emelkedése alakult ki, az aktivitás kisfokú fokozódásával kísérten, vagy anélkül. A következő néhány nap során a T_c és az aktivitás fokozatosan visszatért a normál napi ritmusnak megfelelő értékekhez. Az itt megfigyelt újraetetés alatt kialakuló normotermia tehát egyidejű aktivitás-fokozódás megjelenése nélkül jött létre, továbbá dinamikájában rapidan (néhányszor tíz percen belül) kialakult. Ezek alapján kialakulási mechanizmusának magyarázatából

mind a fizikai aktivitás általi hőtermelési fokozódás, mind a felszívódott nutriensek által indukált hipermetabolizmus szerepe kizárható.

5.2.4. A TRPV1 ioncsatorna és normális hőszabályozás

Az AMG517 hatására bekövetkező hipertermia kialakulása két szempontból jelentős. Egyrészt felhívja a figyelmet a TRPV1 antagonisták, mint új generációs fájdalomcsillapítók, kifejlesztésének nehézségeire: a nemkívánatos, T_c emelkedésben megnyilvánuló mellékhatás ezeknek a szereknek – különösen gyulladásoz megbetegedésekben való – alkalmazása esetén, a széleskörű, biztonságos terápia limitáló faktora lehet (Gavva, 2008; Holzer, 2008). Másrészt, összhangban más szerzők által korábban talált eredményekkel (ld. 1.2. fejezet), a megfigyelt hipertermia alapján levonható az – a jelen tanulmány szempontjából fontosabb – következtetés, hogy a TRPV1 ioncsatorna, *in vivo*, fontos szerepet játszik a fiziológiás T_c fenntartásában, szabályozásában (Gavva *et al.*, 2007; Steiner *et al.*, 2007).

A hipertermia mechanizmusának 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 környezeti hőmérsékleten, a hipertermia a hőleadás csökkenésének és az anyagcsere egyidejű fokozódásának eredményeként jön létre. Előbbiek valószínűleg 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 (Gavva *et al.*, 2007; Steiner *et al.*, 2007).

Összefoglalván az előbbieket, 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).

Eredményeink nem csupán megerősítik a más kutatók által az AMG0347 tanulmányozása esetén találtakat (ld. 1.2. fejezet), hanem azok szélesebb körű általánosítását is lehetővé teszik, egy kémiai szerkezetében az AMG0347-től különböző antagonisták hőszabályozási hatásainak részletes analízise során megállapítottakon keresztül.

5.2.5. 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 antagonisták 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 (ld. 2.2.5. fejezet).

A TRPV1 csatorna hővel, protonokkal és molekuláris ligandokkal aktiválható (Tominaga *et al.*, 1998), utóbbiakat összefoglaló néven vanilloidoknak nevezzük, közéjük tartoznak a korábban említett CAP, RTX és endovanilloidok is (ld. 1.2. fejezet). 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 nM (Gavva *et al.*, 2005), ezzel szemben tengerimalacokban a CPZ viszonylag erősen gátolja a TRPV1 ioncsatorna protonok általi aktivációját (50%-os inhibitoros koncentráció = 355 nM) (Savidge *et al.*, 2002). A hő és vanilloidok általi aktivációs módokat a CPZ patkányokban és tengerimalacokban egyaránt gátolja (Savidge *et al.*, 2002; Gavva *et al.*, 2005).

Összefoglalván, 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. Valóban, habár a CPZ-t széleskörűen alkalmazták hőszabályozási tanulmányok során patkányokban és egerekben (Dogan *et al.*, 2004; Shimizu *et al.*, 2005), egy alkalommal sem jelentettek hipertermiás hatást. Következésképpen levonhatjuk, hogy a TRPV1 ioncsatorna proton aktivációs módjának gátlása kulcsfontosságú a TRPV1 antagonisták indukálta hipertermia kialakulásában,

amely teljes összhangban van más szerzők korábbi eredményeivel (Lehto *et al.*, 2008). Mindez pedig arra utal, hogy a TRPV1 ioncsatorna tónusos aktiváltsági állapotának fenntartásáért *in vivo* a proton aktivációs mód felelős.

5.2.6. 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 (Forbes *et al.*, 2001; Hwa *et al.*, 2001). 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*, alacsony (Strubbe & Woods, 2004), annak további szignifikáns mértékű csökkenése a jelen tanulmányban alkalmazott módszerekkel nem volt kimutatható. Ezzel ellentétben, az aktív, éjszakai ciklus spontán táplálékfelvételében, ami rágcsálókban kifejezett mértékű (Strubbe & Woods, 2004), továbbá a nappali, de éheztetéssel indukált táplálékfelvételében az irodalmi adatoknak megfelelően (ld. 1.3. fejezet) szignifikáns csökkenést találtunk. Meghatároztuk továbbá a későbbiekben az anyag T_c -re kifejtett hatásának tanulmányozásához használt optimális 5 μ g-os dózist.

A termoneutrális zóna alsó határának megfelelő környezeti hőmérsékleten centrális α -MSH adása a T_c szignifikáns emelkedését okozta a kontrollokhoz képest. A termoregulatórikus és anorexigén hatások időbeli lefolyásának összehasonlításával egyértelműen igazoltuk a energetikai szabályozási szempontból koordinált (katabolikus) reakció fennállását az irodalmi adatoknak megfelelően (Forbes *et al.*, 2001; Voisey *et al.*, 2003). A talált hipertermia megerősíti egyes szerzők által leírt eredményeket (Raible & Knickerbocker, 1993), ellentétben áll azonban a mások által közölt antipiretikus hatásról beszámoló adatokkal (Sinha *et al.*, 2004). 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. A jelenség mibenlétét alapos, autonóm hőszabályozási effektorokra is kiterjedő, különböző környezeti hőmérsékleteken lefolytatott, eltérő kiindulási T_c -ű patkányokat felhasználó kísérletsorozattal lehetne tisztázni.

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.

5.2.7. 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 hiperfágiát (Raposinho *et al.*, 2001) és szubakutan létrejövő hipofágiát (Székely *et al.*, 2005). 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 afferenciációban okozott eltéréseket (Dogan *et al.*, 2004; Steiner *et al.*, 2007). A vagális jóllakottsági szignálok hiánya nem befolyásolta a NPY, illetve α -MSH centrális adása esetén kialakuló – az irodalmi adatoknak megfelelő hiperfágiás (Raposinho *et al.*, 2001; Székely *et al.*, 2005), illetve hipofágiás (Forbes *et al.*, 2001; Hwa *et al.*, 2001) – táplálékfelvételi választ. A jóllakottság/éhség létrejöttében és fenntartásában tehát más (nem vagális) szignálok fontos szerepet játszanak.

További magyarázatot igényel az a diszkrepancia, hogy deszenzitizált állatokban az éhezés-indukálta hiperfágia (ami endogén NPY keresztül valósul meg) fokozott, míg az exogén NPY-indukálta hiperfágia nem nagyobb. Feltételezhetjük, hogy az újraetetés során bizonyos vagális kemo-/mechanoreceptorok stimulációja és a felszálló negatív feedback szignálok folyamatosan gátolják az endogén NPY vagy más centrális orexigén anyagok termelődését/felszabadulását, ezáltal *fokozatosan* limitálják a további táplálékfelvételt. Ezeknek a feedback szignáloknak a károsodása lehet az oka a CAP deszenzitizált patkányokban a folyamatos gátlás redukciójának és a éhezést követő fokozott „meal size”-nak. Ezzel ellentétben, amikor a NPY szintje standard (exogén), a negatív feedback szignáloknak sem jelenléte, sem hiánya nem érvényesül, emiatt a jelenlévő NPY hatásait a vagális deszenzitizáció nem befolyásolja.

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 éheztetésre 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 AMG517 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 fiziológias 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* tónusos aktiváltsági állapotának fenntartásáért a protonok felelősek.

6. Az ICV adagolt α -MSH az éhezést követő újratáplálást és az éjszakai spontán táplálékfelvételt dóziszfüggő módon mérsékli, ezzel együtt a maghőmérsékletet 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 Dr. Székely Miklós és Dr. Szelényi Zoltán Professzor Uraknak, hogy lehetőséget adtak kutatási munkám elvégzéséhez, bevezettek a kísérletezés rejtelseibe, rengeteg szakmai tudást adtak át és lehetőséget biztosítottak konferenciákon és külföldi tanulmányutakon való részvételre. Köszönöm Dr. Andrej A. Romanovsky Professzor Úr kitartó türelmét, támogatását és iránymutatását a külföldön végrehajtott tanulmányok során. Köszönöm Dr. Pétervári Erikának az adatok kiértékelésében, az ábrák készítésében nyújtott segítségét, Dr. Balaskó Mártának a szakmai segítséget és Kocsisné Halas Ágnesnek a precíz adminisztratív tevékenységet, valamint a hőszabályozási labor asszisztenseinek, Pákai Eszternek, Mihálffyné Jech Andreának, Gáspárné Koncsecskó Margitnak, és Kissné Bóka Adriennek a kísérletek kivitelezésében való segítségét.

8. Rövidítések jegyzéke

| | |
|-------------------|--|
| α -MSH: | alfa-melanocitastimuláló hormon |
| γ -MSH: | gamma-melanocitastimuláló hormon |
| AGRP: | agouti-related protein |
| CAP: | capsaicin |
| CPZ: | capsazepine |
| HLI: | heat loss index |
| ICV: | intracerebroventrikuláris |
| IP: | intraperitoneális |
| IV: | intravénás |
| LPS: | lipopolysaccharida |
| MC3R: | melanocortin-3 receptor |
| MC4R: | melanocortin-4 receptor |
| MR: | metabolikus ráta |
| MT-II: | melanotan-II |
| NPY: | neuropeptide Y |
| POMC: | pro-opiomelanocortin |
| PGE: | prostaglandin E |
| RTX: | resiniferatoxin |
| T ₀ : | kiindulási maghőmérséklet |
| T _a : | környezeti hőmérséklet |
| T _c : | maghőmérséklet (általában kolonban, hasüregben mért) |
| TF: | táplálékfelvétel |
| TT: | testtömeg |
| TRP: | tranziens receptor potenciál |
| TRPA: | tranziens receptor potenciál ankyrin |
| TRPM: | tranziens receptor potenciál melastatin |
| TRPV: | tranziens receptor potenciál vanilloid |
| <i>Trpv1</i> KO: | <i>Trpv1</i> gén-kiütött (knockout) |
| T _s : | bőrhőmérséklet |
| SC: | szubkután |
| VO ₂ : | oxigén fogyasztás |

9. Irodalomjegyzék

- Adage T, Scheurink AJ, de Boer SF, de Vries K, Konsman JP, Kuipers F, Adan RA, Baskin DG, Schwartz MW & van Dijk G. (2001). Hypothalamic, metabolic, and behavioral responses to pharmacological inhibition of CNS melanocortin signaling in rats. *J Neurosci* **21**, 3639-3645.
- Ahima RS & Hileman SM. (2000). Postnatal regulation of hypothalamic neuropeptide expression by leptin: implications for energy balance and body weight regulation. *Regul Pept* **92**, 1-7.
- Ahima RS, Kelly J, Elmquist JK & Flier JS. (1999). Distinct physiologic and neuronal responses to decreased leptin and mild hyperleptinemia. *Endocrinology* **140**, 4923-4931.
- Almeida MC, Steiner AA, Branco LG & Romanovsky AA. (2006). Cold-seeking behavior as a thermoregulatory strategy in systemic inflammation. *Eur J Neurosci* **23**, 3359-3367.
- Balaskó M, Pétervári E, Szelényi Z & Székely M. (2001). The effects of centrally administered neuropeptide Y on thermoregulation. *Neurobiology (Bp)* **9**, 31-32.
- Bautista DM, Siemens J, Glazer JM, Tsuruda PR, Basbaum AI, Stucky CL, Jordt SE & Julius D. (2007). The menthol receptor TRPM8 is the principal detector of environmental cold. *Nature* **448**, 204-208.
- Bicego KC, Barros RC & Branco LG. (2007). Physiology of temperature regulation: comparative aspects. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol* **147**, 616-639.
- Bing C, Frankish HM, Pickavance L, Wang Q, Hopkins DF, Stock MJ & Williams G. (1998). Hyperphagia in cold-exposed rats is accompanied by decreased plasma leptin but unchanged hypothalamic NPY. *Am J Physiol* **274**, R62-68.

- Bisogno T, Melck D, Bobrov M, Gretskaya NM, Bezuglov VV, De Petrocellis L & Di Marzo V. (2000). N-acyl-dopamines: novel synthetic CB(1) cannabinoid-receptor ligands and inhibitors of anandamide inactivation with cannabimimetic activity in vitro and in vivo. *Biochem J* **351 Pt 3**, 817-824.
- Blatteis CM. (2000). Thermoregulation in complex situations: combined heat exposure, infectious fever and water deprivation. *Int J Biometeorol* **44**, 31-43.
- Blatteis CM & Li S. (2000). Pyrogenic signaling via vagal afferents: what stimulates their receptors? *Auton Neurosci* **85**, 66-71.
- Bligh J. (1998). Mammalian homeothermy: An integrative thesis. *J Therm Biol* **23**, 143-258.
- Cabanac M, Cormareche-Leydier M & Poirier LJ. (1976). The effect of capsaicin on temperature regulation of the rat. *Pflugers Arch* **366**, 217-221.
- Cannon B & Nedergaard J. (2004). Brown adipose tissue: function and physiological significance. *Physiol Rev* **84**, 277-359.
- Caterina MJ. (2007). Transient receptor potential ion channels as participants in thermosensation and thermoregulation. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* **292**, R64-76.
- Caterina MJ, Leffler A, Malmberg AB, Martin WJ, Trafton J, Petersen-Zeitz KR, Koltzenburg M, Basbaum AI & Julius D. (2000). Impaired nociception and pain sensation in mice lacking the capsaicin receptor. *Science* **288**, 306-313.
- Cherel Y, Burnol AF, Leturque A & Le Maho Y. (1988). In vivo glucose utilization in rat tissues during the three phases of starvation. *Metabolism* **37**, 1033-1039.
- Cherel Y & Le Maho Y. (1991). Refeeding after the late increase in nitrogen excretion during prolonged fasting in the rat. *Physiol Behav* **50**, 345-349.

- Clark N, Keeble J, Fernandes ES, Starr A, Liang L, Sugden D, de Winter P & Brain SD. (2007). The transient receptor potential vanilloid 1 (TRPV1) receptor protects against the onset of sepsis after endotoxin. *FASEB J* **21**, 3747-3755.
- Colburn RW, Lubin ML, Stone DJ, Jr., Wang Y, Lawrence D, D'Andrea MR, Brandt MR, Liu Y, Flores CM & Qin N. (2007). Attenuated cold sensitivity in TRPM8 null mice. *Neuron* **54**, 379-386.
- Dhaka A, Murray AN, Mathur J, Earley TJ, Petrus MJ & Patapoutian A. (2007). TRPM8 is required for cold sensation in mice. *Neuron* **54**, 371-378.
- Dhaka A, Viswanath V & Patapoutian A. (2006). Trp ion channels and temperature sensation. *Annu Rev Neurosci* **29**, 135-161.
- Di Marzo V, De Petrocellis L, Fezza F, Ligresti A & Bisogno T. (2002). Anandamide receptors. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* **66**, 377-391.
- Dogan MD, Patel S, Rudaya AY, Steiner AA, Székely M & Romanovsky AA. (2004). Lipopolysaccharide fever is initiated via a capsaicin-sensitive mechanism independent of the subtype-1 vanilloid receptor. *Br J Pharmacol* **143**, 1023-1032.
- Ember Á, Göbel G, Pétervári E & Székely M. (2000). Fasting hypometabolism and postalimentary hypermetabolism: neural signals from the gastrointestinal tract. *Journal of Physiology-London* **526**, 172P-173P.
- Emmerson PJ, Fisher MJ, Yan LZ & Mayer JP. (2007). Melanocortin-4 receptor agonists for the treatment of obesity. *Curr Top Med Chem* **7**, 1121-1130.
- Forbes S, Bui S, Robinson BR, Hochgeschwender U & Brennan MB. (2001). Integrated control of appetite and fat metabolism by the leptin-proopiomelanocortin pathway. *Proc Natl Acad Sci U S A* **98**, 4233-4237.

- Gavva NR. (2008). Body-temperature maintenance as the predominant function of the vanilloid receptor TRPV1. *Trends Pharmacol Sci* **29**, 550-557.
- Gavva NR, Bannon AW, Surapaneni S, Hovland DN, Jr., Lehto SG, Gore A, Juan T, Deng H, Han B, Klionsky L, Kuang R, Le A, Tamir R, Wang J, Youngblood B, Zhu D, Norman MH, Magal E, Treanor JJ & Louis JC. (2007). The vanilloid receptor TRPV1 is tonically activated in vivo and involved in body temperature regulation. *J Neurosci* **27**, 3366-3374.
- Gavva NR, Tamir R, Qu Y, Klionsky L, Zhang TJ, Immke D, Wang J, Zhu D, Vanderah TW, Porreca F, Doherty EM, Norman MH, Wild KD, Bannon AW, Louis JC & Treanor JJ. (2005). AMG 9810 [(E)-3-(4-t-butylphenyl)-N-(2,3-dihydrobenzo[b][1,4] dioxin-6-yl)acrylamide], a novel vanilloid receptor 1 (TRPV1) antagonist with antihyperalgesic properties. *J Pharmacol Exp Ther* **313**, 474-484.
- Girardier L, Clark MG & Seydoux J. (1995). Thermogenesis associated with spontaneous activity: an important component of thermoregulatory needs in rats. *J Physiol* **488 (Pt 3)**, 779-787.
- Holzer P. (2008). The pharmacological challenge to tame the transient receptor potential vanilloid-1 (TRPV1) nociceptor. *Br J Pharmacol* **155**, 1145-1162.
- Hori A, Minato K & Kobayashi S. (1999). Warming-activated channels of warm-sensitive neurons in rat hypothalamic slices. *Neurosci Lett* **275**, 93-96.
- Hori T. (1984). Capsaicin and central control of thermoregulation. *Pharmacol Ther* **26**, 389-416.
- Hwa JJ, Ghibaudi L, Gao J & Parker EM. (2001). Central melanocortin system modulates energy intake and expenditure of obese and lean Zucker rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* **281**, R444-451.

- Iida T, Shimizu I, Nealen ML, Campbell A & Caterina M. (2005). Attenuated fever response in mice lacking TRPV1. *Neurosci Lett* **378**, 28-33.
- Ivanov AI, Pero RS, Scheck AC & Romanovsky AA. (2002). Prostaglandin E(2)-synthesizing enzymes in fever: differential transcriptional regulation. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* **283**, R1104-1117.
- Jancsó-Gábor A, Szolcsányi J & Jancsó N. (1970a). Irreversible impairment of thermoregulation induced by capsaicin and similar pungent substances in rats and guinea-pigs. *J Physiol* **206**, 495-507.
- Jancsó-Gábor A, Szolcsányi J & Jancsó N. (1970b). Stimulation and desensitization of the hypothalamic heat-sensitive structures by capsaicin in rats. *J Physiol* **208**, 449-459.
- Jancsó G, Király E & Jancsó-Gábor A. (1977). Pharmacologically Induced Selective Degeneration of Chemosensitive Primary Sensory Neurons. *Nature* **270**, 741-743.
- Jancsó M & Jancsó M. (1949). Érzőidegvégződések deszenzibilizálása. *Kísérletes Orvostudomány* **2** Suppl.: 15.
- Jancsó N, Jancsó-Gábor A & Szolcsányi J. (1967). Direct evidence for neurogenic inflammation and its prevention by denervation and by pretreatment with capsaicin. *Br J Pharmacol Chemother* **31**, 138-151.
- Jonsson L, Skarphedinsson JO, Skuladottir GV, Atlason PT, Eiriksdottir VH, Franzson L & Schioth HB. (2001). Melanocortin receptor agonist transiently increases oxygen consumption in rats. *Neuroreport* **12**, 3703-3708.
- Jordt SE & Julius D. (2002). Molecular basis for species-specific sensitivity to "hot" chili peppers. *Cell* **108**, 421-430.

- Lee H, Iida T, Mizuno A, Suzuki M & Caterina MJ. (2005). Altered thermal selection behavior in mice lacking transient receptor potential vanilloid 4. *J Neurosci* **25**, 1304-1310.
- Lehto SG, Tamir R, Deng H, Klionsky L, Kuang R, Le A, Lee D, Louis JC, Magal E, Manning BH, Rubino J, Surapaneni S, Tamayo N, Wang T, Wang J, Wang W, Youngblood B, Zhang M, Zhu D, Norman MH & Gavva NR. (2008). Antihyperalgesic effects of (R,E)-N-(2-hydroxy-2,3-dihydro-1H-inden-4-yl)-3-(2-(piperidin-1-yl)-4-(tri fluoromethyl)phenyl)-acrylamide (AMG8562), a novel transient receptor potential vanilloid type 1 modulator that does not cause hyperthermia in rats. *J Pharmacol Exp Ther* **326**, 218-229.
- Lennie TA. (1998). Relationship of body energy status to inflammation-induced anorexia and weight loss. *Physiol Behav* **64**, 475-481.
- Li Z & Blatteis CM. (2004). Fever onset is linked to the appearance of lipopolysaccharide in the liver. *J Endotoxin Res* **10**, 39-53.
- Marks DL, Butler AA, Turner R, Brookhart G & Cone RD. (2003). Differential role of melanocortin receptor subtypes in cachexia. *Endocrinology* **144**, 1513-1523.
- Mercer JG, Moar KM, Findlay PA, Hoggard N & Adam CL. (1998). Association of leptin receptor (OB-Rb), NPY and GLP-1 gene expression in the ovine and murine brainstem. *Regul Pept* **75-76**, 271-278.
- Moqrich A, Hwang SW, Earley TJ, Petrus MJ, Murray AN, Spencer KS, Andahazy M, Story GM & Patapoutian A. (2005). Impaired thermosensation in mice lacking TRPV3, a heat and camphor sensor in the skin. *Science* **307**, 1468-1472.
- Murphy B, Nunes CN, Ronan JJ, Hanaway M, Fairhurst AM & Mellin TN. (2000). Centrally administered MTII affects feeding, drinking, temperature, and activity in the Sprague-Dawley rat. *J Appl Physiol* **89**, 273-282.

- Nelson EK. (1919). The constitution of capsaicin, the pungent principal capsicum. *J Am Chem Soc* **41**, 1115-1121.
- Obál F, Benedek G & Jancsó-Gábor A. (1980). Tail Skin Vasodilation and Bath Test in Capsaicin-Desensitized Rats. *Pflugers Arch* **387**, 183-188.
- Obál F, Jancsó G & Hajós M. (1987). Differences in the Mechanisms of the Thermoregulatory Impairment Induced by Capsaicin in Newborn and Adult-Rats. *Acta Physiol Hung* **69**, 437-445.
- Okazawa M, Takao K, Hori A, Shiraki T, Matsumura K & Kobayashi S. (2002). Ionic basis of cold receptors acting as thermostats. *J Neurosci* **22**, 3994-4001.
- Paintal AS. (1954). A study of gastric stretch receptors; their role in the peripheral mechanism of satiation of hunger and thirst. *J Physiol* **126**, 255-270.
- Patapoutian A, Peier AM, Story GM & Viswanath V. (2003). ThermoTRP channels and beyond: mechanisms of temperature sensation. *Nat Rev Neurosci* **4**, 529-539.
- Peters JH, Simasko SM & Ritter RC. (2006). Modulation of vagal afferent excitation and reduction of food intake by leptin and cholecystokinin. *Physiol Behav* **89**, 477-485.
- Pétevári E, Ember Á, Göbel G, Pákai E & Székely M. (2004). Signaling postprandial hyperthermia: a role for cholecystokinin. *J Therm Biol* **29**, 797-803.
- Pierau FK, Szolcsányi J & Sann H. (1986). The Effect of Capsaicin on Afferent Nerves and Temperature Regulation of Mammals and Birds. *J Therm Biol* **11**, 95-100.
- Porte D, Jr., Baskin DG & Schwartz MW. (2002). Leptin and insulin action in the central nervous system. *Nutr Rev* **60**, S20-29; discussion S68-84, 85-27.
- Proulx K, Cota D, Castaneda TR, Tschop MH, D'Alessio DA, Tso P, Woods SC & Seeley RJ. (2005). Mechanisms of oleoylethanolamide-induced changes in

- feeding behavior and motor activity. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* **289**, R729-737.
- Raible LH & Knickerbocker D. (1993). Alpha-melanocyte-stimulating hormone (MSH) and [Nle⁴,D-Phe⁷]-alpha-MSH: effects on core temperature in rats. *Pharmacol Biochem Behav* **44**, 533-538.
- Raposinho PD, Pierroz DD, Broqua P, White RB, Pedrazzini T & Aubert ML. (2001). Chronic administration of neuropeptide Y into the lateral ventricle of C57BL/6J male mice produces an obesity syndrome including hyperphagia, hyperleptinemia, insulin resistance, and hypogonadism. *Mol Cell Endocrinol* **185**, 195-204.
- Raybould HE. (1991). Capsaicin-sensitive vagal afferents and CCK in inhibition of gastric motor function induced by intestinal nutrients. *Peptides* **12**, 1279-1283.
- Ritter RC. (2004). Gastrointestinal mechanisms of satiation for food. *Physiol Behav* **81**, 249-273.
- Ritter S, Bellin SI & Pelzer NL. (1981). The role of gustatory and postingestive signals in the termination of delayed glucoprivic feeding and hypothalamic norepinephrine turnover. *J Neurosci* **1**, 1354-1360.
- Romanovsky AA. (2004a). Do fever and anapyrexia exist? Analysis of set point-based definitions. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* **287**, R992-995.
- Romanovsky AA. (2004b). Signaling the brain in the early sickness syndrome: are sensory nerves involved? *Front Biosci* **9**, 494-504.
- Romanovsky AA. (2007). Thermoregulation: some concepts have changed. Functional architecture of the thermoregulatory system. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* **292**, R37-46.

- Romanovsky AA, Simons CT & Kulchitsky VA. (1998). "Biphasic" fevers often consist of more than two phases. *Am J Physiol* **275**, R323-R331.
- Romanovsky AA, Simons CT, Székely M & Kulchitsky VA. (1997). The vagus nerve in the thermoregulatory response to systemic inflammation. *Am J Physiol* **273**, R407-413.
- Rothwell NJ & Stock MJ. (1982). Energy expenditure of 'cafeteria'-fed rats determined from measurements of energy balance and indirect calorimetry. *J Physiol* **328**, 371-377.
- Savidge J, Davis C, Shah K, Colley S, Phillips E, Ranasinghe S, Winter J, Kotsonis P, Rang H & McIntyre P. (2002). Cloning and functional characterization of the guinea pig vanilloid receptor 1. *Neuropharmacology* **43**, 450-456.
- Schwartz MW, Dallman MF & Woods SC. (1995). Hypothalamic response to starvation: implications for the study of wasting disorders. *Am J Physiol* **269**, R949-957.
- Shimizu I, Iida T, Horiuchi N & Caterina MJ. (2005). 5-Iodoresiniferatoxin evokes hypothermia in mice and is a partial transient receptor potential vanilloid 1 agonist in vitro. *J Pharmacol Exp Ther* **314**, 1378-1385.
- Sinha PS, Schioth HB & Tatro JB. (2004). Roles of the melanocortin-4 receptor in antipyretic and hyperthermic actions of centrally administered alpha-MSH. *Brain Res* **1001**, 150-158.
- Steiner AA, Turek VF, Almeida MC, Burmeister JJ, Oliveira DL, Roberts JL, Bannon AW, Norman MH, Louis JC, Treanor JJ, Gavva NR & Romanovsky AA. (2007). Nonthermal activation of transient receptor potential vanilloid-1 channels in abdominal viscera tonically inhibits autonomic cold-defense effectors. *J Neurosci* **27**, 7459-7468.
- Strubbe JH & Woods SC. (2004). The timing of meals. *Psychol Rev* **111**, 128-141.

- Szállási Á & Blumberg PM. (1989). Resiniferatoxin, a phorbol-related diterpene, acts as an ultrapotent analog of capsaicin, the irritant constituent in red pepper. *Neuroscience* **30**, 515-520.
- Szállási Á & Blumberg PM. (1999). Vanilloid (Capsaicin) receptors and mechanisms. *Pharmacol Rev* **51**, 159-212.
- Szállási Á, Cortright DN, Blum CA & Eid SR. (2007). The vanilloid receptor TRPV1: 10 years from channel cloning to antagonist proof-of-concept. *Nat Rev Drug Discov* **6**, 357-372.
- Székely M. (1986). Capsaicin-Induced Changes in Behavioral Thermoregulation of Newborn Rabbits (*Lepus-Cuniculus*). *J Therm Biol* **11**, 101-104.
- Székely M. (2000). The vagus nerve in thermoregulation and energy metabolism. *Auton Neurosci* **85**, 26-38.
- Székely M, Balaskó M, Kulchitsky VA, Simons CT, Ivanov AI & Romanovsky AA. (2000). Multiple neural mechanisms of fever. *Auton Neurosci* **85**, 78-82.
- Székely M, Balaskó M & Romanovsky AA. (1997). Peripheral neural inputs. Their role in fever development. *Ann N Y Acad Sci* **813**, 427-434.
- Székely M, Pétervári E, Balaskó M, Hernádi I & Uzsoki B. (2002). Effects of orexins on energy balance and thermoregulation. *Regul Pept* **104**, 47-53.
- Székely M, Pétervári E, Pákai E, Hummel Z & Szelényi Z. (2005). Acute, subacute and chronic effects of central neuropeptide Y on energy balance in rats. *Neuropeptides* **39**, 103-115.
- Székely M, Pétervári E & Szelényi Z. (2004). Orexigenic vs. anorexigenic peptides and feeding status in the modulation of fever and hypothermia. *Front Biosci* **9**, 2746-2763.

- Székely M & Romanovsky AA. (1997). Thermoregulatory reactions of capsaicin pretreated rats (Abstract). *FASEB J* **11**, 3054-3054.
- Székely M & Szelényi Z. (1979). Endotoxin Fever in the Rat. *Acta Physiol Acad Sci Hung* **53**, 265-277.
- Székely M & Szelényi Z. (2005). Regulation of energy balance by peptides: a review. *Curr Protein Pept Sci* **6**, 327-353.
- Szelényi Z & Hinckel P. (1987). Changes in cold- and heat-defence following electrolytic lesions of raphe nuclei in the guinea-pig. *Pflugers Arch* **409**, 175-181.
- Szelényi Z, Hummel Z, Szolcsányi J & Davis JB. (2004). Daily body temperature rhythm and heat tolerance in TRPV1 knockout and capsaicin pretreated mice. *Eur J Neurosci* **19**, 1421-1424.
- Szolcsányi J. (1983). Disturbances of Thermoregulation Induced by Capsaicin. *J Therm Biol* **8**, 207-212.
- Szolcsányi J. (2004). Forty years in capsaicin research for sensory pharmacology and physiology. *Neuropeptides* **38**, 377-384.
- Szolcsányi J & Jancsó-Gábor A. (1973). Capsaicin and other pungent agents as pharmacological tools in studies on thermoregulation. In *The pharmacology of thermoregulation*, ed. Schönbaum E & Lomax P, pp. 395-409. Karger, Basel.
- Szolcsányi J & Jancsó-Gábor A. (1975). Analysis of the role of warmth detectors by means of capsaicin under different conditions. In *Temperature regulation and drug action*, ed. Jacob J, Lomax P & Schönbaum E, pp. 331-338. Karger, Basel.
- Szolcsányi J, Sann H & Pierau FK. (1986). Nociception in pigeons is not impaired by capsaicin. *Pain* **27**, 247-260.

- Tominaga M, Caterina MJ, Malmberg AB, Rosen TA, Gilbert H, Skinner K, Raumann BE, Basbaum AI & Julius D. (1998). The cloned capsaicin receptor integrates multiple pain-producing stimuli. *Neuron* **21**, 531-543.
- Voisey J, Carroll L & van Daal A. (2003). Melanocortins and their receptors and antagonists. *Curr Drug Targets* **4**, 586-597.
- Watanabe K, Matsunaga T, Nakamura S, Kimura T, Ho IK, Yoshimura H & Yamamoto I. (1999). Pharmacological effects in mice of anandamide and its related fatty acid ethanolamides, and enhancement of cataleptogenic effect of anandamide by phenylmethylsulfonyl fluoride. *Biol Pharm Bull* **22**, 366-370.
- Watkins LR, Goehler LE, Relton JK, Tartaglia N, Silbert L, Martin D & Maier SF. (1995). Blockade of interleukin-1 induced hyperthermia by subdiaphragmatic vagotomy: evidence for vagal mediation of immune-brain communication. *Neurosci Lett* **183**, 27-31.
- Weinert D & Waterhouse J. (1998). Diurnally changing effects of locomotor activity on body temperature in laboratory mice. *Physiol Behav* **63**, 837-843.
- Wikberg JE & Mutulis F. (2008). Targeting melanocortin receptors: an approach to treat weight disorders and sexual dysfunction. *Nat Rev Drug Discov* **7**, 307-323.
- Woods AJ, Stock MJ, Gupta AN, Wong TT & Andrews PL. (1994). Thermoregulatory effects of resiniferatoxin in the rat. *Eur J Pharmacol* **264**, 125-133.
- Zhou SY, Lu YX & Owyang C. (2008). Gastric relaxation induced by hyperglycemia is mediated by vagal afferent pathways in the rat. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* **294**, G1158-1164.

PUBLIKÁCIÓK JEGYZÉKE
(impakt faktorokkal, független citációkkal)

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*)

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)

Független hivatkozás:

| | | | | |
|-----------------|----------------------|---------------|------------|-------------|
| <i>Ayoub SS</i> | <i>Pharmacol Rev</i> | <i>61 (3)</i> | <i>225</i> | <i>2009</i> |
|-----------------|----------------------|---------------|------------|-------------|

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

Független hivatkozás:

| | | | | |
|----------------------|-----------------------------|----------------|------------|-------------|
| <i>Suter</i> | <i>Mol Pain</i> | <i>5</i> | <i>53</i> | <i>2009</i> |
| <i>Ayoub SS</i> | <i>Pharmacol Rev</i> | <i>61 (3)</i> | <i>225</i> | <i>2009</i> |
| <i>Toth A</i> | <i>Vitam Horm</i> | <i>81</i> | <i>389</i> | <i>2009</i> |
| <i>Akbar A</i> | <i>Aliment Pharm Ther</i> | <i>30 (5)</i> | <i>423</i> | <i>2009</i> |
| <i>Fisher JT</i> | <i>Resp Physiol Neurobi</i> | <i>167 (1)</i> | <i>45</i> | <i>2009</i> |
| <i>Kym PR</i> | <i>Biochem Pharmacol</i> | <i>78 (3)</i> | <i>211</i> | <i>2009</i> |
| <i>McGaraughty S</i> | <i>Brain Res</i> | <i>1268</i> | <i>58</i> | <i>2009</i> |

| | | | | |
|---------------------------|-----------------------------------|-----------|------|------|
| <i>Cortright DN</i> | <i>Curr Pharm Design</i> | 15 (5) | 1736 | 2009 |
| <i>Dube GR</i> | <i>Curr Pharm Design</i> | 15 (5) | 1750 | 2009 |
| <i>Kauer JA</i> | <i>Trends Neurosci</i> | 32 (4) | 215 | 2009 |
| <i>Adcock JJ</i> | <i>Pulm Pharmacol Ther</i> | 22 (2) | 65 | 2009 |
| <i>Wickenden AD</i> | <i>Pain</i> | 142(1-2) | 5 | 2009 |
| <i>Lazar J</i> | <i>Expert Opin Drug Discovery</i> | 4 (2) | 159 | 2009 |
| <i>Fowler CJ</i> | <i>Br J Pharmacol</i> | 156 (3) | 412 | 2009 |
| <i>Khairatkar-Joshi N</i> | <i>Trends Mol Med</i> | 15 (1) | 14 | 2009 |
| <i>Gunthorpe MJ</i> | <i>Drug Discov Today</i> | 14 (1-2) | 56 | 2009 |
| <i>Broad LM</i> | <i>Expert Opin Ther Targets</i> | 13 (1) | 69 | 2009 |
| <i>Patapoutian A</i> | <i>Nat Rev Drug Discov</i> | 8 (1) | 55 | 2009 |
| <i>Takemura M</i> | <i>Pulm Pharmacol Ther</i> | 21 (6) | 833 | 2008 |
| <i>Broad LM</i> | <i>Curr Top Med Chem</i> | 8 (16) | 1431 | 2008 |
| <i>Holzer P</i> | <i>Br J Pharmacol</i> | 155 (8) | 1145 | 2008 |
| <i>Mills C</i> | <i>Neuroscience</i> | 156 (1) | 165 | 2008 |
| <i>Dray A</i> | <i>Rheum Dis Clin North Am</i> | 34 (2) | 481 | 2008 |
| <i>Conway SJ</i> | <i>Chem Soc Rev</i> | 37 (8) | 1530 | 2008 |
| <i>Caterina MJ</i> | <i>Pain</i> | 136 (1-2) | 3 | 2008 |

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

Független hivatkozás:

| | | | | |
|-------------------|----------------------------|------------|-------|------|
| <i>Nikami H</i> | <i>Life Sci</i> | 82 (23-24) | 1191 | 2008 |
| <i>Ootsuka Y</i> | <i>Am J Physiol</i> | 294 (4) | R1294 | 2008 |
| <i>Mahmoud ME</i> | <i>Comp Biochem Phys A</i> | 148 (3) | 578 | 2007 |
| <i>Steiner AA</i> | <i>J Neurosci</i> | 27 (28) | 7459 | 2007 |

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. Gomtsyan, 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)