

Neurofarmakológia Program
Programvezető: Dr. Szolcsányi János egyetemi tanár
Témavezetők: Dr. Szelényi Zoltán egyetemi tanár
Dr. Székely Miklós egyetemi tanár

Egyetemi Doktori (Ph.D.) értekezés tézisei

A kísérletes LPS-láz pathogenezise patkányban: központi idegrendszeri neuropeptidek és abdominalis idegi afferentáció szerepe.

Dr. Balaskó Márta

Pécsi Orvostudományi Egyetem
Kóréletani Intézet

Pécs, 2000

Bevezetés és célkitűzések

A bakteriális fertőzésekkel szembeni védekezés fejlett gerincesekben és emberben összetett immunológiai, thermoregulációs és viselkedési változásokkal járó tünetcsoportot hoz létre, amelyet akutfázis-válasznak neveznek. Az akutfázis-válasz egyes elemei, köztük a láz, már a törzsfajlás alacsonyabb szintjein megjelenik, pl. egyes rovarokban, férgekben, halakban vagy hullókbán. A láz és a hozzá kapcsolódó immunológiai, szerológiai és magatartási változások sok jelentős hátrányos következménnyel is járnak, mint pl. fokozott anyagcsere-szükséglet, fokozott kardiiovaszkuláris terhelés, csökkent tápanyag- és folyadék-bevitel, emberben, bizonyos életkorokban esetleg légzőrendszeri károsodások kialakulása, de ezek ellenére az evolúció során igen régóta fennmaradt akutfázis-válasz összességében bizonyíthatóan javítja a patogének által megfertőzött gazdaszervezet túlélési esélyeit. Az akutfázis-válasz jelenségéhez tartozik többek között a citokinek és akutfázis-fehérjék termelődése, a láz, azaz a maghőmérséklet regulált növekedése mellett a csökkent étvágy, a csökkent szomjúság-érzés, apátia, somnolentia, a grooming magatartás mértékének csökkenése, a neutrofilia, a szérum vas szint csökkenése és a fokozott fájdalom-érzés is. Az akutfázis-választ jellemző sokféle változás feltételezi több központi homeosztatisz szabályozó rendszer együttműködését. Az akutfázis-válasz vizsgálatára különösen alkalmas a bakteriális endotoxin (LPS)-hatás állatkísérletes modellje.

Bakteriális endotoxinok shockot nem okozó dózisban, intravénás vagy intraperitoneális alkalmazást követően, a legtöbb emlősben jellegzetes, bifázisos lázat hoznak létre, bár egyes szerzők, hosszabb távon figyelve az LPS-indukálta testhőmérséklet változást, három fázist is leírtak. Az első hőmérsékleti maximum az LPS adás után 1-1,5 h-val, a második hőmérsékleti csúcs 2-3 h-val, az esetlegesen megjelenő harmadik csúcs az LPS injekciót követően kb. 5 h múlva figyelhető meg. Nem tisztázott, hogy az LPS-láz fázisait egymástól különböző, (időben) egymás után aktiválódó endogén-pyrogén rendszerek hozzák-e létre, vagy egységes a láz mediációja és a maghőmérséklet hullámzását az egyidejűleg aktiválódó endogén-pyrogén és cryogén anyagok időben változó kölcsönhatása hozza-e létre. A láz a legtöbb állattörzsben rövid latenciával jelentkezik, amely intravénás adás esetén pl. nyúlban 10 perc, patkányban 30 perc, tengerimalacban 10-20 perc körül van. Az LPS-láz kialakulásában régóta ismert szerepe van a periférián, a monocyta macrophag rendszerben, ezen belül is elsősorban a máj Kupffer sejteiben, képződő endogén-pyrogéneknek (IL-1 β , IL-6, TNF- α) és az ezek hatására, az *Organum vasculosum laminae terminalis* (OVLT) sejteiben termelődő és innen a hypothalamus megfelelő magcsoportjaihoz diffundáló prostaglandin E₂-nek (PGE₂).

Több vizsgálat eredménye utal arra, hogy a centrális PGE₂ nem lehet kizárólagos központi mediátora az LPS lázkelő hatásának. Állatkísérletekben centrálisan adott specifikus PGE₂ antagonisták nem gátolták meg teljes mértékben az LPS-láz kialakulását. A centrális PGE₂ szint változásai a láz során nem alakultak a maghőmérséklet-változásoknak megfelelően. A centrálisan in vivo alkalmazott indomethacin pedig már olyan kis dózisban is gátolta az LPS-láz kialakulását, amely in vitro kísérletekben még nem blokkolta hatékonyan a PGE₂ szintézist. *Murakami* és munkatársai eredményei szerint pedig még igen nagy dózisú indomethacin alkalmazása sem gátolta meg teljesen egy fontos endogén pyrogén, az IL-1 β által kiváltott láz-

reakciót. A fenti adatok a PGE₂ mellett más centrális mediátorok lehetséges szerepét is felvetik az LPS-láz kialakulásában, LPS hatására a gazdaszervezetben kialakult akutfázis-válasz lázzal együtt megjelenő egyéb összetevői, mint az anorexia, a somnolentia, a fájdalommal szembeni megnövekedett érzékenység vagy a többi jellegzetes viselkedés-változás több centrális szabályozó rendszer együttműködésére utalnak és ugyancsak felvetik a PGE₂ mellett más centrális mediátorok lehetséges szerepét az LPS-láz létrejöttében. Ilyen centrális mediátor lehet a cholecystokinin (CCK), amelynek táplálékfelvételt csökkentő hatása jól ismert. Előzetes vizsgálatok arra utalnak, hogy a CCK centrális hőszabályozási hatásokkal is bír, ami felveti annak lehetőségét, hogy a CCK az LPS-láz kialakulásában résztvevő, a hőszabályozási és táplálékfelvételt szabályozó rendszerek együttműködésében fontos közös centrális mediátor lehet. Felmerül továbbá a neuropeptid Y (NPY) lehetséges szerepe is, amely peptid ugyancsak befolyásolja a táplálékfelvételt is és a hőszabályozást is. Hasonló módon veti fel a P-anyag (SP) szerepét a lázreakcióban a lázat kísérő hiperesztézia.

A humorális tényezők mellett perifériás idegi tényezők is szerepelhetnek a láz pathomechanizmusában. A perifériás, főleg az abdominális ill. hepaticus, sensoros idegi afferensek lehetséges szerepének kérdését, az LPS-láz első szakaszának igen rövid latencia ideje veti fel. Ez a nagyon rövid latencia idő endogén-pyrogének szintéziséhez, a vér-agy gáton történő átjutásukhoz, valamint újabb centrális humorális transzmitterek termelődéséhez kevésnek tűnik. A vér-agy gáton jelentős késés nélkül áthatoló afferens idegi mechanizmus magyarázatot adhatna az LPS-láz első fázisának igen rövid latencia-idejére és egyben fontos példát szolgáltatna az idegi és humorális mediációk összekapcsolódására.

Jelen vizsgálatunk során a centrálisan adott CCK-oktapeptid (CCK-8), SP, NPY és antagonisták, valamint az abdominális idegi afferentáció hatását vizsgáltuk a testhőmérsékletre és az LPS-láz kialakulására.

Módszerek

Kísérleteink során felnőtt, nőtény, hideg-adaptált (HA) Wistar patkányokat használtunk. (A HA állatok hőszabályozási válaszreakciói kifejezettebbek, mint a nem-adaptált kontrollokéi, ezért az egyes anyagok thermoregulációs hatásainak elemzésére irányuló kísérletekben felhasználásuk igen előnyös.) A hideg-adaptáció kialakítására az állatokat a kísérleti periódusban és már az azt megelőző legalább három hét során 3-4°C állandó hőmérsékletű hideg szobában tartottuk, ahol 12/12 órás nappal/éjszaka ritmust biztosítottunk. Az állatokat *ad libitum* BIOFARM Laboratóriumi CRLT/N rágcsálótáppal és vízzel láttuk el. Legalább egy héttel az ICV kísérletek előtt ketamin-xylazin altatásban a patkányok jobb laterális agykamrájába rozsdamentes acél vezető-kanült ültettünk, amit a fejtetőn fogászati cementtel rögzítettünk. Közvetlenül a mérések előtt a vezető kanülon keresztül vékony injekciós kanült vezetünk az oldalkamrába, melyhez CCK-8, NPY, SP, vagy antagonisták különböző dózisaikat, illetve fiziológias sóoldatot tartalmazó vékony (pp.10) műanyag cső csatlakozott. Az ICV alkalmazott anyagokat 5 µl volumenben adtuk be. A mérések előtt egyes esetekben műanyag kanült rögzítettünk a hát bőre alá is a CCK A-, illetve B-receptor antagonisták vagy az indomethacin szubkután (SC) adásához. Az LPS intravénás (IV) alkalmazásához, egy héttel a mérés előtt az egyik juguláris vénába, ugyancsak ketamin-xylazin anesztéziában puha, szilikon, szövetbarát kanült implantáltunk, amelynek 6-8 cm-es végét a fejtetőn rögzített műanyag kupolába felcsavarva rögzítettük. A vénás kanült heparinos fiziológias sóoldattal töltöttük fel és két naponta átmostuk. A mérés előtt a szilikon kanülhöz vékony fém csatlakozáson keresztül műanyag csövet rögzítettünk, amelyen keresztül a kísérlet

során az IV LPS-t az állatnak okozott újabb akut stressz nélkül adhattuk be. Az IV injekciót 0.5 ml volumenben juttattuk be mind az LPS-sel kezelt állatoknak, mind a kontroll csoportnak.

Az abdominális capsaicin érzékeny afferensek vizsgálatára kísérleti állataink egy csoportjában intraperitoneális capsaicin kezelést végeztünk. Egy részük egymást követő 3 napon, összesen 5 alkalommal fokozatosan emelkedő adagokban, összesen 25-50 mg/kg változó dózisu capsaicint kapott. A különböző dózisok ellenére ezen alcsoport egyedei 2-3 héttel a capsaicin kezelést követően hasonló módon reagáltak IV LPS-re. A csoport más részében addigi eredményeink értékelése után már egységesen és csak 2 alkalommal 2+3 mg/kg adagban alkalmaztuk az IP capsaicint. Itt az IV LPS kísérletre is egységesen a capsaicin kezelés után egy héttel került sor. A szisztémás capsaicin deszenzibilizálás hőszabályozási hatásaitól való jobb megkülönböztetés érdekében egy harmadik alcsoport állaton nagy dózisu, SC capsaicin deszenzibilizálást végeztünk, összesen 5 alkalommal 400 mg/kg dózisban.

A mérések során a szabad mozgásban részlegesen korlátozott patkányokat (henger alakú, fémrácsból és lemezekből készített ketrecben, melyben az állat nem tudott megfordulni, de ami az előre-hátra ill. a hossz tengelye körüli mozgást megengedte) nyílt rendszerű anyagcserekamrában helyeztük el, ahol Beckmann dynographhoz csatlakozó réz-konstantán thermoelemek segítségével folyamatosan regisztráltuk a maghőmérsékletet jelző colon hőmérsékletet (T_c), a perifériás hőleadást jelző farok bőr hőmérsékletet (T_s) és Kipp-Noyons diaferometer segítségével az anyagcsere mértékét jelző CO₂ termelést. Az anyagcsere kamrában a környezeti hőmérséklet (T_a) NPY vagy NPY antagonisták alkalmazásakor HA állatok számára mérsékeltén hűvös, azaz 15°C, minden más esetben 25°C, tehát HA patkányok számára thermoneutrális volt. Az eredményeket mean±S.E. formában adtuk meg. Az adatok statisztikai analizéséhez Student féle t próbákat, illetve Scheffé féle post hoc teszttel kombinált ANOVA-t használtunk.

Alkalmazott anyagok és dózisaik: CCK-8 ICV 500 ng (Bachem); CCK B-receptor antagonistá L-365,260 SC 50 µg/kg, ICV 50 ill. 500 ng, CCK A-receptor antagonistá L-364,718 SC 100 µg/kg (a CCK receptor-antagonisták Dr. V. Lotti és a Merck Sharp and Dohme adományai); indomethacin SC 10 mg/kg (SIGMA); SP ICV 10, 100, 500 vagy 1000 ng (SIGMA); SP peptid antagonistá: (D-Pro², D-Trp^{7,9})-SP ICV 500 ng (SIGMA); SP (NK-1) nem-peptid antagonistá: CP-96,345 ICV 2,4 vagy 25 µg (SIGMA); NPY ICV 500 ng, 1, 2, 10 µg (Bachem); NPY antagonistá: (D-Tyr^{27,36}, D-Thr³²)-Neuropeptid Y (27-36) ICV 10 µg (Bachem); PGE₁ ICV 100 ng (SIGMA); E. coli LPS (O111:B4) IV 10 µg/kg; Capsaicin IP 5, 25, 50 mg/kg, SC 400 mg/kg (SIGMA).

Eredmények

1. A CCK-8 500 ng-os ICV injekciója hideg-adaptált patkányokban is létrehozta a *Szelényi* és munkatársai által már korábban nem-adaptált patkányokban leírt akut maghőmérséklet-emelkedést, amely rövid latenciával, koordinált hőszabályozási válasz eredményeként (tehát az anyagcsere növekedése és a perifériás hőleadás egyidejű csökkenése következtében, azaz a központi "set-point" változása eredményeként) jött létre. A CCK-indukálta maghőmérséklet-emelkedés a kontroll csoport maghőmérséklet-változásához képest a CCK injekciót követő 10-30 perc között volt szignifikáns. Ez a láz-szerű maghőmérséklet-emelkedés dinamikájában hasonlított a centrális PGE₁ által kiváltott hőszabályozási reakcióhoz.

2. Indomethacin (10 mg/kg SC 30 perccel az ICV CCK injekció előtt) a CCK-indukálta hyperthermiát nem befolyásolta, bár hasonló dózisu indomethacin az LPS-láz mértékét jelentősen mérsékelte. A SC indomethacin kezelés önmagában nem idézett elő maghőmérséklet-változást.

3. A CCK B-receptor antagonistá L-365,260 50 µg/kg dózisban 30 perccel az LPS injekció előtt SC adva az első fázis során szignifikánsan csökkentette az LPS-indukálta testhőmérséklet-emelkedést. A CCK B-receptor antagonistá ICV adva már 50 és 500 ng-os dózisban is szignifikánsan csökkentette az LPS okozta hőmérséklet-emelkedést. Önmagában sem a SC sem az ICV alkalmazott L-365,260, sem az IV adott fiziológiás sóoldat nem hozott létre maghőmérséklet-változást.

4. A CCK A-receptor antagonistá L-364,718 30 perccel az LPS injekció előtt 100 µg/kg dózisban SC adva az LPS-láz második fázisában csökkentette a hőmérséklet-emelkedés mértékét. Az L-364,718 önmagában nem hozott létre jelentős maghőmérséklet-változást.

5. A centrálisan alkalmazott SP akut, dózis-függő, koordinált, láz-szerű maghőmérséklet-emelkedés hozott létre patkányokban. A kontroll csoportéhoz képest a SP-indukálta hyperthermia bármelyik SP dózis esetén a 20. és 30. perc között érte el a szignifikáns mértékét. A 10 és 100 ng-os SP dózisok által létrehozott hyperthermia mértéke a 20. és 30. perc között vált szignifikánsan különbözővé. A 100 és 1000 ng-os SP dózisok hatásában nem figyeltünk meg további szignifikáns különbséget.

6. Ismételt adást követően a SP által indukált maghőmérséklet-emelkedés mértéke csökkent. Az első ICV SP injekciót követő maghőmérséklet-emelkedés a 15. és 25. perc között haladta meg szignifikánsan a 2. ill. 3. SP injekció-kiváltotta maghőmérséklet-emelkedés mértékét.

7. Mind a peptid, mind a nem-peptid SP antagonistá hatásosan gátolta a SP-hyperthermia kialakulását. A peptid antagonistá (D-Pro², D-Trp^{7,9})-SP ICV 500 ng-os adagban 60 perccel a SP injekció előtt adva eltörölte a 100 ng-os ICV SP hőmérséklet-emelő hatását. A nem-peptid tachykinin NK-1 antagonistá CP-96,345 ICV alkalmazott mindkét dózisa (2,4 és 25 µg) ICV 60 perccel az SP injekció előtt adva szignifikánsan csökkentette az ICV 100 ng SP-injekció által kiváltott hyperthermia mértékét. Mindkét SP antagonistá kismértékű, akut, rövid tartamú (kb. 30 perc) maghőmérséklet-növekedést idézett elő. Önmagában azonban egyik antagonistának sem volt hosszabb távú hőszabályozási hatása.

8. A SP injekció előtt 30 perccel alkalmazott SC indomethacin 10 mg/kg adagban szintén szignifikánsan csökkentette a SP-indukálta hőmérséklet-emelkedést, de nem szüntette meg azt teljesen. Az indomethacin gátlás ellenére megmaradó SP-hyperthermia önmagában is szignifikáns volt. Az indomethacinnak saját hőszabályozási hatása nem volt.

9. A peptid természetű SP-antagonista (D-Pro², D-Trp^{7,9}-SP) ICV 500 ng-os adagban nemcsak hogy nem csökkentette a 100 ng ICV PGE₁ által előidézett hyperthermiát, hanem még meg is nyújtotta annak időtartamát.

10. A peptid természetű SP-antagonista (D-Pro², D-Trp^{7,9}-SP) 500 ng-os ICV dózisban, 60 perccel az LPS injekció előtt adva hatásosan csökkentette az LPS-láz mindkét fázisát. Az antagonistá által kifejtett gátlás az LPS injekciótól számított 50. perctől a 120. percig érte el a

szignifikáns mértékét. Ez az antagonistá önmagában rövid tartamú, akut maghőmérséklet-emelkedést idézett elő, ami 30 percen belül lezajlott. További, hosszútávú hőszabályozási hatása nem volt.

11. A CP-96,345 nem-peptid SP-antagonista ICV 25 µg dózisban 30 perccel az LPS injekció előtt ICV alkalmazva csökkentette az LPS-indukálta láz amplitúdóját. A különbség az LPS injekciót követő 60.-70. perc között érte el a statisztikailag szignifikáns mértékét. A nem-peptid antagonistá önmagában akut, rövid távú hyperthermiát hozott létre, ami azonban 30 percen belül lezajlott. További hőszabályozási hatása nem volt.

12. A NPY 1, 2 vagy 10 µg-os dózisának centrális alkalmazását hűvös környezetben akut, dózis-függő maghőmérséklet-esés követte. A hűvös környezetben a NPY hatására létrejött, a kontroll csoportéhoz viszonyított T_c csökkenés a 10 µg-os adag esetében az ICV injekciót követő 10.-90. perces periódusban, 2 µg-os adag esetén a 20.-60. perces periódusban, 1 µg-os adag esetén csak a 20.-30. perces periódusban érte el a szignifikáns értéket (p<0,05). A NPY 500 ng-os dózisa nem hozott létre szignifikáns maghőmérséklet-csökkenést. A magasabb NPY dózisok esetében megfigyelhető maghőmérséklet-csökkenés anyagcsere-csökkenés eredményeként alakult ki, a T₃ által jelzett perifériás hőleadás nem fokozódott: ezen kísérletek során mindvégig maximális vasoconstrictió volt jellemző. Késői hatásként a centrális NPY hatására megjelent egy, a kb. 120. perc után jelentkező hyperthermiás tendencia.

13. Hűvös környezetben a NPY-indukálta hypothermia minden alkalmazott dózis esetében kifejezettebb volt, mint thermoneutrális T_a esetén, bár a NPY által indukált anyagcsere-csökkenés itt is minden esetben létrejött. A perifériás hőleadás alakulása nem volt egységes az egyes állatokban. A thermoneutrális környezetben a NPY késői, kb. a 120. perctől megfigyelhető hyperthermizáló hatása itt kifejezettebb volt.

14. Mivel vizsgálataink a táplálékfelvétel és hőszabályozás lehetséges együttműködésére irányultak, fontos volt, hogy olyan antagonistát alkalmazzunk, amely nemcsak a NPY által kiváltott hőszabályozási reakciót, hanem a NPY által indukált táplálékfelvételt is csökkenti. Kísérleteinkben ezért a (D-Tyr^{27,36}, D-Thr³²)-NPY (27-36)-t alkalmazzuk (ICV 10 µg 10 perccel az NPY injekció előtt). Ez a NPY antagonistá valóban szignifikáns mértékben csökkentette a centrálisan alkalmazott NPY-indukálta maghőmérséklet-csökkenést és más kísérleteinkben a NPY által indukált táplálék-felvételt.

15. A (D-Tyr^{27,36}, D-Thr³²)-Neuropeptid Y (27-36) (ICV 10 µg 10 perccel az LPS injekció előtt) adataink szerint nem volt képes jelentősen befolyásolni az LPS-láz lefolyását. Az IV fiziológiás sóoldat nem hozott létre maghőmérséklet-növekedést.

16. A 25-50 mg/kg dózisu capsaicinnel IP kezelt alcsoportban az LPS-láz mindkét fázisában csökkent a maghőmérséklet-emelkedés mértéke. Itt nem demonstráltuk, de ennek a csoportnak az egyéb hőszabályozási reakciói, mint pl. a vasodilatációs küszöb az IP capsaicin kezelés hatására nem változtak.

17. A kis-dózisu (2+3 mg/kg) IP capsaicin kezelést kapott alcsoportban, bár az egyéb hőszabályozási reakciók, mint a hideg illetve meleg elleni védekezés normális maradt, az LPS-láz latenciája megnyúlt, az első fázisban a maghőmérséklet-emelkedés mértéke szignifikánsan csökkent, míg a második fázisban a maghőmérséklet-emelkedés mértéke változatlan maradt.

18. A SC 400 mg/kg dózisu capsaicin deszenzibilizáláson átesett kísérleti csoport a más munkacsoportok által már korábban megfigyelt meleg elleni védekezés károsodását mutatta. Ebben a csoportban az LPS-láz magasabb kiindulási hőmérsékletre indult, mindkét fázisa megtartott volt, az LPS által létrehozott maghőmérséklet-emelkedés mértéke pedig szignifikánsan nőtt.

Következtetések

Vizsgálataink során célul tűztük ki az LPS-láz iniciációjának és centrális mediációjának jobb megértését.

Kísérleteink egy részéhez a kiindulási állapot *Mitchell* és munkatársainak azon megfigyelései jelentették, amelyek szerint a klasszikusnak számító központi idegrendszeri mediátor PGE₂ szerepe nem lehet kizárólagos az LPS-láz centrális pathomechanizmusában, mivel specifikus PGE antagonisták nem törölték el az LPS-hatásra kialakuló maghőmérséklet-emelkedést. Másrészt a centrális PGE szintek változása nem kapcsolódott szorosan az LPS által létrehozott maghőmérséklet változásaihoz és a centrálisan igen hatásos lázcsillapítónak bizonyult indomethacin a PGE szintézist még nem antagonizáló dózisban is eltörölte a LPS által létrehozott maghőmérséklet-emelkedést. Szintén más centrális mediátorok lehetséges szerepére utal az LPS hatásra létrejövő sokrétű (a láz mellett a táplálék-felvétel csökkenésével, megnövekedett fájdalom-érzéssel, somnolentiával járó), több homeosztatikus szabályozó rendszer együttműködését igénylő tünetcsoport.

Vizsgálataink a továbbiakban a táplálékfelvétel szabályozásában szereplő CCK és NPY mellett a perifériás immunmodulációban és perifériás valamint gerincvelői fájdalom érzés szabályozásában résztvevő SP-nek az LPS-láz centrális mediációjában játszott lehetséges szerepére irányultak.

Kísérleteink során megerősítést nyert *Szelényi* és munkatársainak azon korábbi megfigyelése, hogy a centrálisan alkalmazott CCK koordinált, láz-szerű hyperthermiát hoz létre, amelyet a B-típusú CCK-receptor antagonistá mind centrális, mind perifériás alkalmazás esetén kivédett. Ugyanezen antagonistá jelentősen csökkentette az IV LPS által létrehozott többfázisú láz első fázisában a maghőmérséklet-emelkedés mértékét, ezzel igazolva azt a feltételezésünket, hogy a CCK közös centrális mediátorként hozzájárulhat a hőszabályozási és táplálék-felvételt szabályozó regulációs rendszerek együttműködéséhez.

A szintén a táplálék-felvétel központi szabályozásában szerepet játszó NPY esetében azt tapasztaltuk, hogy míg a centrálisan alkalmazott NPY-nak van akut, dózis-függő hypothermiát létrehozó hőszabályozási hatása, ez a hatás nem koordinált, kizárólag az NPY által létrehozott hőtermelés-csökkenés eredménye. A NPY centrális, hypothermiát indukáló hatása felvetette annak lehetőségét, hogy a NPY, mint a lázas testhőmérséklet-emelkedés mértékét korlátozó cryogén rendszer része (az arginin-vasopressinhez, az α -MSH-hoz illetve a CRF-hez hasonlóan) befolyásolja az LPS-láz lefutását. Kísérleteinkben olyan NPY antagonistát alkalmaztunk, ami nemcsak a NPY hőszabályozási hatásait, hanem az NPY táplálék-felvételre gyakorolt centrális hatását is hatékonyan csökkentette és ezért a központi homeosztatikus szabályozó rendszerek együttműködésének vizsgálata szempontjából különösen hasznosnak ígérkezett. A NPY antagonistá azonban nem csökkentette az LPS-láz mértékét illetve nem gyakorolt befolyást annak lefutására. Eredményeink alapján azt a következtetést kell levonnunk, hogy a NPY elsősorban a táplálékfelvétel szabályozásában játszik szerepet és ennek során vannak ugyan a hőszabályozást befolyásoló centrális hatásai is, de a hőszabályozásban és

az LPS-láz menetének alakulásában fontos szerepet játszó cryogén rendszer működésében valószínűleg nem vesz részt.

A SP szerepe az immunmodulációban és a nocicepció perifériás illetve gerincvelői mechanizmusaiban jól ismert. Egyes neuroanatomiai vizsgálatok eredményei utalnak arra is, hogy SP receptorokkal rendelkező neuronok a ventrolaterális hypothalamus területén olyan pályakapcsolatokkal rendelkeznek, amelyek felvetik a nocicepció centrális szabályozásában betöltött szerepüket is. Az LPS hatásban megfigyelt hiperesztézia valamint a SP-nek az astrogliára gyakorolt in vitro PGE szintézist serkentő hatása vetette fel a SP lehetséges szerepét az LPS hatás mediációjában.

Vizsgálataink eredménye azt mutatta, hogy a centrálisan alkalmazott SP koordinált, láz-szerű hyperthermiát létrehozó hőszabályozási hatással bír, amely részben a PG termelés fokozásán, részben ettől független mechanizmusokon keresztül jön létre. Mind a peptid, mind a nem-peptid SP antagonistá szignifikáns mértékben csökkentette az LPS-láz első fázisának mértékét. A fenti eredmények alátámasztani látszanak azt a feltételezésünket, hogy a SP az LPS-láz centrális mediációjához hozzájárulva szerepet játszhat a hőszabályozás és a nocicepció LPS hatásban megfigyelt együttműködésében.

Más vizsgálatainkhoz a kiindulási állapot az IV LPS hatásra létrejött maghőmérséklet-emelkedés több fajban megfigyelhető igen rövid latenciája jelentette. Ez az igen rövid latencia cáfolni látszik a klasszikus lázmodellek által leírt perifériás cytokin termeléssel induló, a cytokineknek a vér-agy gáton való időigényes átjutásával, valamint az ezt követően beinduló, centrális PGE termeléssel járó mechanizmus kizárólagos szerepét. Ez az LPS hatásban megfigyelt igen rövid latencia vetette fel idegi afferenciát, azaz a vér-agy gáton késés nélkül áthatoló perifériás sensoros idegek lehetséges szerepét az LPS-láz iniciációjában.

Vizsgálataink során kis-dózisu IP capsaicin kezelés eredményeként az LPS-láz latenciája igen nagy mértékben megnőtt, illetve a capsaicin kezelés csaknem teljesen eltörölte az LPS-láz első fázisát. Megfigyeléseink összhangban állnak a *Romanovsky* és munkatársai által, subdiaphragmaticus és hepaticus sebési vagotomia alkalmazásával nyert eredményekkel. Mind a capsaicin-érzékeny abdominális sensoros afferensek károsítása, mind a sebési vagotomiák nagymértékben növelték az LPS-láz kialakulásának latenciáját, illetve gátolták az LPS-láz első fázisának kifejlődését. A fenti eredmények alapján igazolást nyert az abdominális capsaicin-érzékeny, illetve vagus eredetű sensoros idegi afferensek fontos szerepe az LPS-láz iniciációjában.

Az általunk vizsgált perifériás sensoros afferensek illetve neuropeptidek elsősorban az LPS-láz első fázisának kialakulásában játszanak szerepet. A további fázisok létrejöttében feltehetően a klasszikus lázmodellek által leírt cytokin rendszereké a főszerep. Az LPS-lázhoz csatlakozó igen sokrétű tünetcsoport pedig felveti a fentiekben kívül más homeosztatikus szabályozó rendszerek és rajtuk keresztül más lehetséges közös centrális mediátorok szerepének lehetőségét az LPS-láz kialakulásában.

A doktori értekezés alapjául szolgáló tudományos közlemények jegyzéke

Referált folyóiratban megjelent közlemények

1. Székely M., Szelényi Z., Balaskó M.: Cholecystokinin participates in the mediation of fever. *Pflügers Arch. Eur. J. Physiol.* 428: 671-673 (1994).
2. Székely M., Balaskó M., Romanovsky A.A.: Peripheral neural inputs: their role in fever. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 813: 427-434 (1997).
3. Szelényi Z., Székely M., Balaskó M.: Role of substance-P in LPS fever in rats. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 813: 316-323 (1997).
4. Balaskó M., Székely M., Szelényi Z.: The effect of CP-96,345, a non-peptide substance-P antagonist, on thermoregulation and the development of LPS-fever in rats. *J. therm. Biol.* 25: 1-4. (2000)
5. Balaskó M., Pétervári E., Szelényi Z., Székely M.: The effects of centrally administered neuropeptid Y on thermoregulation. *Neurobiology* (in press)
6. Balaskó M., Szelényi Z., Székely M.: Central thermoregulatory effects of neuropeptid Y and orexin A in rats. *Acta Physiol. Hung.* (in press)

Könyvfejezetek

1. Szelényi Z., Székely M., Balaskó M.: Cholecystokinin: its possible role in temperature regulation. In: Integrative and cellular aspects of autonomic functions: temperature and osmoregulation. Eds.: K. Pleschka, R. Gerstberger. *John Libbey Eurotext, Paris*, pp. 23-31 (1994).
2. Székely M., Balaskó M., Szelényi Z.: Altered responsiveness of cold-adapted rats to thermal stress. In: Thermal balance in health and disease. *Advances in pharmacological sciences* pp. 155-160 Eds: Zeisberger, E. Schönbaum, P. Lomax Birkhauser Verlag Basel (1994).
3. Székely M., Romanovsky A.A., Pétervári E., Balaskó M.: Capsaicin-sensitive abdominal afferents in fever and in non-febrile processes of energy balance. in *Recent advances in thermal biology*. Ed: V.N. Gourine, Minsk (1999).
4. Szelényi Z., Székely M., Romanovsky A.A., Balaskó M., Barthó L.: The possible role of cholecystokinin (CCK) and substance P (SP) in thermoregulation and fever in rats. in *Recent advances in thermal biology*. Ed: V.N. Gourine, Minsk (1999).

Előadaskivonatok

1. Székely M., Szelényi Z., Balaskó M.: A role for central cholecystokinin in the mediation of fever. *Neurobiology* 2 (1), p.107 (1994)
2. Székely M., Romanovsky A.A., Balaskó M.: Hepatic neural afferents in experimental fever. *Neurobiology* 6(2):254. (1998)
3. Balaskó M., Pétervári E., Szelényi Z., Székely M.: The effects of centrally administered neuropeptide Y on thermoregulation. *Neurobiology* 7(3):277-78. (1999)
4. Székely M., Balaskó M.: Thermal adaptation influences NPY-induced food intake. *Neurobiology* 7(3):387. (1999)
5. Balaskó M., Székely M.: Central hypersensitivity to prostaglandin E and neuropeptides in the regulation of body temperature and food-intake of cold-adapted rats. *Fundamental and Clinical Pharmacology* 13(S1):350. (1999)

Más témájú tudományos közlemények jegyzéke

1. Balaskó M., Cabanac M: Motivational conflict among water need, palatability and cold discomfort in rats. *Physiol. Behav.* 65(1):35-41. (1998)
2. Balaskó M., Cabanac M: Behavior of juvenile lizards (*Iguana iguana*) in a conflict between temperature regulation and palatable food. *Brain, Behavior and Evolution* 52: 257-262 (1998)
3. Balaskó M., Cabanac M: Grammatical choice and affective experience in a second-language test. *Neuropsychobiology* 37:205-210 (1998)

Tudományos előadások és posterek jegyzéke

1. Balaskó M.: Role of cholecystokinin (CCK) in temperature regulation and LPS fever. 4th European Students Conference of the Charité, Berlin 21-23 October (1993)
2. Szelényi Z., Székely M., Balaskó M.: Cholecystokinin: its possible role in temperature regulation. Symposium on temperature- and osmoregulation, Bad Nauheim, 29-30 July, 1993.
3. Székely M., Szelényi Z., Balaskó M.: A role for central cholecystokinin in the mediation of fever. Magyar Idegéletani Társaság első vándorgyűlése 1994 Jan Pécs. (magyar nyelven) Abstract published in *Neurobiology* 2 (1), p.107
4. Balaskó M., Székely M., Szelényi Z.: Cold adaptation: changes of thermoregulatory responsiveness in rats. MÉT Budapest 1994 Július 10-13 (magyar nyelven)
5. Székely M., Balaskó M.: Thermoregulatory effects of centrally administered substance P in the rat. MÉT Budapest 1994 július 10-13 (magyar nyelven)
6. Székely M., Balaskó M., Szelényi Z.: Altered responsiveness of cold-adapted rats to thermal stress. *Pharmacology of Thermoregulation Symposium*, Giessen, 7-11 Aug 1994
7. Balaskó M., Székely M., Szelényi Z.: Hőszabályozási paradox reakciók hideg-adaptált patkányok akut hidegexpozíciója során. MITT II. Kongresszusa, Szeged 1995 január 26-28.
8. Balaskó M., Szelényi Z., Székely M.: Centrális P-anyag szerepe patkányban az LPS láz mediációjában. MÉT, Budapest, 1995. július 6-8.
9. Székely M., Balaskó M., Romanovsky A.A.: Capsaicin-érzékeny idegi afferentáció az LPS láz mediációjában. MÉT, Budapest, 1995. július 6-8.
10. Székely M., Balaskó M., Romanovsky A.A.: Capsaicin-sensitive neural afferents in fever pathogenesis. 1st FEPS Congress, Maastricht, 1995. szeptember 9-12.
11. Balaskó M., Székely M., Szelényi Z.: Role of substance P (SP) in the mediation of LPS-fever in rats. Ann. Meeting of the Austrian Neuroscience Association, Graz, 22-23 Sep, 1995.
12. Székely M., Balaskó M.: Temperature regulation and fever influenced by non-specific abdominal afferents. Ann. Meeting of the Austrian Neuroscience Association, Graz, 22-23 Sep, 1995.
13. Székely M., Szelényi Z., Balaskó M.: Éhezés és újratáplálás hatása hideg adaptált patkányok hőregulációs válaszaira. Magyar Idegtudományi Társaság III. Konferencia, Balatonfüred, 1996 január 25-27.
14. Székely M., Balaskó M., Romanovsky A.A.: Peripheral neural inputs: their role in fever development. Internatl. Symp. on Pharmacology of Thermoregulation, Memphis TN, USA, 17-22 Aug 1996.

15. Szelényi Z., Székely M., Balaskó M.: Role of substance-P in LPS fever in rats. Internatl. Symp. on Pharmacology of Thermoregulation, Memphis TN, USA, 17-22 Aug 1996.
16. Balaskó M., Cabanac M.: Le plaisir et la prise de décision. 64e Congrès de L'ACFAS (Association canadienne-française pour l'avancement des sciences) 13-17 mai 1996 Université McGill, Montreal, Canada
17. Balaskó M., Cabanac M.: Conflit de motivation d'origines différentes chez le rat. Congrès International Francophon sur le Comportement Animal, 26-30 juin 1996, Université Laval, Québec, Canada
18. Balaskó M., Cabanac M.: Étude expérimentale de la prise de décision chez *Iguana iguana*. 21e Colloque Annuel de la Société Québécoise Pour l'Étude Biologique du Comportement. 18-20 octobre 1996, Sherbrooke, Canada.
19. Balaskó M., Cabanac M.: Non-consequentialist decisions and pleasure. 37th Ann. Meeting of the Psychonomic Society, Oct 31-nov 3 Chicago, Illinois, USA.
20. Balaskó M., Cabanac M.: Motivational Conflict of Cold Ambient Temperature, Thirst and Palatability in Rats. 1997 Symposium on Thermal Physiology, Copenhagen 8-12 July 1997.
21. Cabanac M., Balaskó M.: Juvenile lizards (*Iguana iguana*) in a conflict between temperature regulation and palatable food: do lizards feel pleasure when they thermoregulate behaviorally? 1997 Symposium on Thermal Physiology, Copenhagen 8-12 July 1997.
22. Székely M., Romanovsky A.A., Balaskó M.: Hepatic neural afferents in experimental fever. Magyar Idegtudományi Társaság V. Konferencia, Debrecen, 1998, január 21-24. Abstract: Neurobiology 6(2):254.
23. Cabanac M., Balaskó M.: "Palatability vs. cost: from lizard to human, evolutionary psychology approach" ICPFFI XII-SSIB Symposium '98, Pécs, 5-8 July 1998. Abstract: Appetite 81(2):253.
24. Balaskó M., Pétervári E., Szelényi Z., Székely M.: The effects of centrally administered neuropeptide Y on thermoregulation. MITT VI. Konferenciája Harkány-Pécs, 1999 január 27-30. Abstract: Neurobiology 7(3):277-78.
25. Székely M., Balaskó M.: Thermal adaptation influences NPY-induced food intake. Magyar Idegtudományi Társaság VI. Konferencia, Pécs/Harkány, 1999 január 28-30. Abstract: Neurobiology 7(3):387.
26. Balaskó M., Szelényi Z., Székely M.: The effect of CP-96,345, a non-peptide substance -P antagonist, on thermoregulation and the development of LPS-fever in rats. XI-th International Symposium on the Pharmacology of Thermoregulation, Sevilla, 9-13 May 1999.
27. Balaskó M., Székely M.: Central hypersensitivity to prostaglandin E and neuropeptides in the regulation of body temperature and food-intake of cold-adapted rats. Second European Congress of Pharmacology, Budapest, 3-7. July 1999. Abstract: Fundamental and Clinical Pharmacology 13(S1):350.
28. Székely M., Balaskó M.: Hyperphagia hidegadaptált patkányban: az NPY lehetséges szerepe. MÉT LXIV. Vándorgyűlése, Budapest, 1999 július 5-8.
29. Balaskó M., Szűcs Sz., Szelényi Z., Székely M.: Neuropeptid Y és orexin A centrális hőszabályozási hatásai. MÉT LXIV. Vándorgyűlése, Budapest, 1999 július 5-8.
30. Székely M., Balaskó M.: Fasting hypometabolism and re-feeding hyperphagia in rats: role of gastrointestinal signals and of NPY. 5th IBRO World Congress of Neuroscience, Jerusalem, July 11-16, 1999.