

Kisspeptin modulates the activity of the stress system and associated behaviours, the body temperature and nociception

Ph.D. Értekezés tézisei

Dr. Csabafi Krisztina Anna.

Kórélettani Intézet  
Általános Orvostudományi Kar  
Szegedi Tudományegyetem

Témavezetők:  
Prof. Dr. habil Telegdy Gyula  
Dr. Jászberényi Miklós

Szeged  
2014

## 1. Bevezetés

A kisspeptin egy Arg-Phe (RF)-amid családba tartozó neurohormon, melynek elsődleges szerepe a gonadális tengely központi szabályozásában van. Az RF-amidok egy viszonylag újonnan megismert peptid család tagjai, melyek elsősorban a nocicepció és neuroendokrin folyamatok szabályozásában vesznek részt. A kisspeptin rendszer szerepe már igazolt bizonyos humán kórképekben (hypogonadotrop hypogonadizmus, pubertas praecox), melyek kapcsán felmerült lehetséges terápiás célpontként is, így fontos lehet minden szervezetben betöltött funkciójának a megismerése.

A kisspeptin a Kiss-1 gén terméke, négy biológiailag aktív formában létezik: 54, 14, 13 és 10 aminosav szekvenciával. A peptid és receptora számos helyen kimutatható a központi idegrendszerben, többek között a limbikus rendszerben, striátumban, hipofízisben és a hipotalamusz paraventriculáris magjában, mely a stressz tengely központja. A kisspeptin nemcsak a kisspeptin receptorhoz (KISS1R), hanem a neuropeptid FF2 receptorhoz is kötődik, melynek neuroendokrin folyamatok szabályozásában betöltött szerepe már igazolt. Az RF-amid peptideknek különbözik a hatásspektrumuk. A PrRP, például aktiválja a hipotalamusz-hipofízis-mellékvesekéreg (HHM) tengelyt, fokozza a sztereotíp viselkedést, valamint presszor hatást vált ki. Ugyanakkor, a neuropeptid AF csökkentette a szívfrekvenciát, míg a stressz tengelyre, ill. lokomócióra stimuláló hatást fejtett ki. Fontos még kiemelni, hogy számos tagjuk részt vesz a fájdalomérzet modulálásában, azonban hatásuk, úgy tűnik a receptor szelektivitásuktól, valamint az anyagbeadás helyétől (centrális, ill. perifériás) is függ. Továbbá, korábban kimutatták a kisspeptin receptor jelenlétét a gerincvelő hátsó szarvában, ill. fájdalom küszöböt csökkentő hatását.

## 2. Célkitűzés

Figyelembe véve ezen eredményeket, kísérleteink során a kisspeptin hatását vizsgáltuk a HHM tengely működésére és a stressz kiváltotta viselkedésre, a termoregulációra, valamint a fájdalomérzet szabályozására.

## 3. Anyagok és módszerek

Kísérleteinket hím Sprague-Dawley patkányokon és hím egereken in vivo és in vitro rendszerek segítségével végeztük. Patkány kísérleteinkben a peptidet intracerebroventrikularisan (icv.) adagoltuk, majd 30 perccel később törzsvért nyertünk a plazma kortikoszteron meghatározásához vagy megfigyeltük az állatok viselkedését a nyílt tér, ill. a megemelt keresztpalló tesztben a szorongás-szerű tünetek felméréséhez. Telemetria rendszer segítségével vizsgáltuk a kisspeptin hatását a spontán mozgásaktivitásra és a maghőmérsékletre. Hogy tisztázzuk milyen mediátorok felelősek a kisspeptin kortikoszteron szintre és szoron-

gásra gyakorolt hatásának mediálásában, előkezelést alkalmaztunk receptor antagonistákkal: nem szelektív CRF receptor antagonistával ( $\alpha$ -helikális CRF(9-41)), szelektív vasopressin 1 receptor (AVP1R) blokkolóval, valamint KISS1R blokkolóval.

Továbbá, hogy felmérjük a kisspeptin hatását depressziós magatartásra, icv. kisspeptin beadást követően erőltetett úszás tesztet végeztünk CD1 egereken. Nem-szelektív  $\alpha$ -adrenerg receptor (AR) (phenoxybenzamin),  $\alpha_1/\alpha_2\beta$ -AR (prazosin),  $\alpha_2$ -AR (yohimbin),  $\alpha$ -AR (propranolol), kevert 5 –  $HT_1/5$  –  $HT_2$  szerotoninerg receptor (methysergid), nem-szelektív 5 –  $HT_2$  szerotoninerg receptor (cyproheptadin), nem-szelektív muszkarin típusú acetilkolin receptor (atropin), D2, D3, D4 dopamin receptor (haloperidol), és végül  $\gamma$ -aminovajsav A alegység (GABA-A) receptor (bicucullin) antagonistákkal szeretnénk feltérképezni milyen mediátorok közvetítésével váltja ki hatását.

Végül, a kisspeptin nocicepcióra kifejtett hatását termonociceptív farokvisszahúzó teszt segítségével vizsgáltuk CFLP egerekben. A peptid icv. beadását követően mértük a farokvisszahúzás latenciát 30, 60 és 120 perc után. Ezenkívül, mértük a kisspeptin hatását akut morfin kiváltotta antinocicepcióra, valamint az akut tolerancia kialakulására. Ez utóbbi kapcsán kisspeptin kezelés után 60 perccel az állatok egy toleranciát indukáló dózisú morfint kaptak szubkután (sc.), majd 24 óra múlva teszt-dózisú morfin után mértük az antinociceptív hatást. Az akut morfin megvonás tüneteire gyakorolt hatását az egerekre jellemző sztereotíp ugrási latencia meghatározásával, valamint a testhőmérséklet és testsúly folyamatos regisztrálásával igyekeztünk felmérni.

## 4. Eredmények

Eredményeink azt mutatták, hogy a kisspeptin stimulálta a kortikoszteron szekréciót és az explorátoros lokomóciót a nyílt tér tesztben, valamint szignifikánsan csökkentette a patkányok nyitott karban eltöltött idejét a megemelt keresztpalló tesztben. Telemetriás eredményeink szerint a kisspeptin fokozta a spontán mozgásaktivitást és a maghőmérsékletet. Az antagonisták előkezelések közül az  $\alpha$ -helikális CRF(9-41) nem hatott szignifikánsan a kisspeptin által kiváltott HHM tengely aktivációra, valamint szorongásra; ellenben a AVP1R blokkoló mindkét kísérletben kivédte azt. A KISS1R blokkoló szintén csökkentette a kisspeptin kiváltotta szorongást. Ugyanakkor, CD1 egereken végzett kísérleteink eredményeképpen a kisspeptin antidepresszív hatása igazolódott, melyet a phenoxybenzamin, a yohimbin, valamint a cyproheptadin előkezelés kivédett. Farokvisszahúzó kísérletekben a kisspeptin csökkentette a fájdalomküszöböt és az akut morfin kiváltotta analgéziát. Továbbá, kisspeptin kezelésre csökkent a morfin akut toleranciát kiváltó hatása, ill. a megvonásban tapasztalt ugrási latencia.

## 5. Következtetések

Eredményeink alapján elmondhatjuk, hogy a kisspeptin szerepet játszhat a stressz válasz szabályozásában és szorongást vált ki patkányban, míg egérben antidepresszív hatásúnak bizonyult. Antagonista kezeléseink igazolták, hogy az előbbi feltehetően KISS1R aktiváció és AVP centrális felszabadulásán keresztül jön létre, míg az utóbbi  $\alpha_2$ -AR és  $5-HT_2$  receptorok interakciója révén következhet be. Ugyanakkor mind patkányban, mind egérben a kisspeptin emelte a testhőmérsékletet. Emellett, hiperalgéziát okoz és befolyással bír a morfin kiváltotta akut analgéziára, toleranciára és megvonásra. Végül, ezen disszertáció alapját képező kutatás rámutat arra, hogy nemcsak a többi RF-amid peptid rendelkezik szélesebb hatásspektrummal, hanem a kisspeptin is. Ennek háttérében állhat cirkadián ritmus szabályozásban feltételezett szerepe, melyre többek között utal kifejeződése a cirkadián ritmus generálásáért felelős agyi struktúrákban, valamint a már ismert szerepe a menstruációs ciklus és pubertás kialakulásában.

## 6. Köszönetnyilvánítás

Mindenek előtt szeretnék köszönetet mondani témavezetőimnek, Dr. Telegdy Gyula professzornak a munkám szakmai irányításáért, folyamatos támogatásáért, valamint Dr. Jászberényi Miklósnak, amiért bevezetett a neuroendokrinológiai kutatás világába. Továbbá, szeretném hálámat kifejezni Dr. Szabó Gyula professzornak, hogy a Kórélettani Intézet be rendezéseinek és eszközeinek rendelkezésemre bocsátásával lehetőséget biztosított, hogy kísérletes kutatómunkámat elvégezhessem. Emellett, köszönöm szépen az Intézet valamennyi dolgozójának a munkában nyújtott segítséget, különösen Dr. Mezei Zsófia, Dr. Szakács Júlia és Dr. Bagosi Zsolt munkatársaimnak, valamint Balláné Aradán Csilla, Sárkány Szilvia, Kiss Gusztáv, Sipos Ildikó és Pál Ágnes laboratóriumi asszisztenseknek. Végül, hálás vagyok családomnak a folyamatos támogatásukért.