

BEVEZETÉS ÉS A KUTATÁS CÉLJA

A zsírszövet mellett az agyvelő lipidekben leggazdagabb szervünk. Pontosabban az agy igen gazdag hosszú szénláncú politelítetlen zsírsavakban (LCPUFA), mint az arachidonsav (AA, 20:4n-6) és dokozaheksaensav (DHA, 22:6n-3), melyek a linolsavból (LA, 18:2n-6), ill. linolénsavból (α -LNA, 18:3n-3) képződnek. Mindezen zsírsavak esszenciálisak a szervezet számára, minthogy ezeket semmilyen állati/emberi szervezet nem képes de novo szintetizálni, ezeket a táplálékkal kell felvenniük. Az AA és a DHA képződésének sebessége igen kicsiny, különösen a gyorsan fejlődő szövetekben, pl. az agyban az embriogenezis során. Éppen ezért nagyon fontos, hogy ezek a zsírsavak megfelelő arányban legyenek jelen a táplálékban a fejlődés során és később is az élet folyamán.

Ennek megfelelően sok kutatást végeztek már az elmúlt évtizedekben, de minden kutatás egyértelműen az LCPUFA fontosságára mutatott rá. Így pl. LCPUFA hiányos diéták alkalmazását a kognitív funkciók (tanulás, memória) sérülése követte és fordítva. Noha ezek a hatások már jól ismertek, a mai napig ismeretlenek azonban a háttérben álló mechanizmusok.

Az a koncepció, miszerint a membrán lipidek csupán a fehérjék szolvatálására szolgálnak újabbban változóban van. Arra nézve, hogy a membrán lipidek aktív szerepet játszanak a celluláris funkciókban azok a kísérletek szolgáltatnak adatokat, hogy számos transzmembrán és membrán aszociált fehérje aktivitása függ a membránok fluiditásától, amit viszont számos factor, (mint a hőmérséklet, koleszterol tartalom, foszfolipid összetétel stb.) szabályoz. Fontos megemlíteni, hogy ezen

fehérjék között olyan enzimek is vannak, melyek pl. a jelátvitelben fontosak. Minthogy az emlősök testhőmérséklete állandó, a membránlipidek összetételében fellépő változások elsődlegesen szabályozzák e szerkezetek funkcióját.

Viszont olyan folyamatok, mint a magatartás, tanulás, memória vesztés, vagy öregedés nehezen magyarázhatóak egy egyszerű fluiditás effektussal. Nyilvánvaló, hogy az LCPUFA hatását más szempontokból is érdemes lenne vizsgálni. Ebből a tekintetből olyan relativ új eredmények lehetnek segítségünkre, mint a "lipid raftok", vagy a zsírsavak kölcsönhatásai a peroxiszoma proliferátor aktiváló receptorokkal (PPAR).

Megemlítjük, hogy pl. a lipid raftok összetételét és az asszociált fehérjék aktivitását az LCPUFAk befolyásolhatják. Másrészt, a PPARok ligand függő nukleáris faktorok, mint transzkripciós faktorok szerepelhetnek, amelyek közvetlenül a DNS lánc megfelelő sequenciájához kapcsolódhatnak. Ilyen alapon viszont összefüggés lehet a diéta lipidösszetétele és a génexpresszió között. Ilyen és más információk széles lehetőséget nyújtanak az LCPUFAk szerepének tanulmányozására.

A tézis megpróbál új adatokkal szolgálni a többszörösen telítetlen zsírsavakra nézve, fontosságukra az emlős agy metabolizmusában és aktivitásában, és talán szolgál új megállapításokkal a PUFA-k alapvető szerepére az agyban.

Ennek megfelelően a céljaink a következők voltak:

1. A neuronális membránok PUFA akkumuláló képességének és ennek kapcsolatának felderítése a táplálék lipidösszetételével.
2. Az etetési periódus kezdeti idejének és időtartamának fontosságának megállapítása.
3. A membránban történő molekuláris szintű változások vizsgálata gáz kromatográfiásan, a teljes zsírsav változások mérése, valamint HPLC segítségével a molekula specieszek változásainak nyomon követése
4. Az öregedés és a foszfolipid változás kapcsolatának kiderítése a neuronális membránokban.
5. Az elveszett PUFA szint visszaállítása az öregedés alatt, és a membrán összetételében történő változások korreláltatása a tanulási képességekben történő javulással.
6. Az előagy, kisagy és hippocampus foszfolipid összetételének vizsgálata és ezek reagálása a diétára.
7. Megerősíteni a zsírsavak az agy gén expressziójában játszott szerepét, és felderíteni a táplálék pontos lipid összetételének fontosságát.
8. Összegezve a kísérleti eredményeket, általánosságokat megállapítani a többszörösen telített zsírsavak az agy funkciójában és metabolizmusában játszott szerepére.

EREDMÉNYEK

A. Agyi foszfolipid zsírsav és molekulaszpeciesz összetételének változásai.

A kísérleteket a foszfatidyletanolaminra koncentráltuk. Uí. ez a foszfolipid válaszol legérzékenyebben a diéta zsírsavösszetételére. Ezen kívül ez a foszfolipid nagy hajlandóságot mutat fordított hexagonális fazis képzésére, ami viszont a membránok fluiditását befolyásolhatja.

A legtöbb korábbi vizsgálatban esszenciális zsírsavhiányos állatok szerepeltek. Ismeretes, hogy az agy nagyon nehezen veszíti el DHA készletét: gyakran 2 generáció szükséges ahhoz, hogy a DHA kiürüljön az agyból. A helyzet valamivel más, ha PUFA gazdag diétát kapnak az állatok a fogantatásuktól kezdve, ilyenkor mind az AA, mind pedig a DHA felhalmozódhat az agyban. Nyilvánvalóan az agy jobban szeret felhalmozni politelitetlen zsírsavakat, mint elveszíteni.

A több kipróbált diéta közül a halolaj és a LA/LNA=4.7:1 arányú keveréke volt. Magas LA, valamint LA/LNA=2.9:1 nem gyakorolt szignifikáns hatást a foszfolipidek zsírsav és molekulaszpeciesz összetételére.

A fentemlített hatékony diéták hatására növekedett a DHA tartalmú és csökkent az AA tartalmú molekula specieszek aránya. Ez annak a versenynek köszönhető, ami az n-3 és n-6 szerkezetű zsírsavak között van a deszaturáló és a lánchosszabító enzymekért. Említésre méltó, hogy a hatás kevésbé érvényesült a LA/LNA=4.7:1 összetételű takarmány esetében.

Az AA és DHA szintje alacsonyabb volt az öreg patkányok agyában, mint a fiatalokéban. De ez a szint változott akkor, ha csak egy hónapig kaptak az állatok halolajat. Ez a kezelés az öreg patkányok agyában visszállította a DHA szintet a fiatal, kezeletlen állatoknál mért értékre.

A másik két agyi régió (hippocampus, cerebellum) lényegében hasonló módon reagált a takarmány zsírsavösszetételére. De meg kell jegyezni, hogy mindegyik agyi régiónak specifikus molekulaszpecifikus összetétele volt, és ezt egy szűk határon belül be is tartották.

B. DHA gazdag diéta hatása a kognitív funkciókra.

Egy hónapig tartó DHA gazdag diéta elegendőnek bizonyult a DHA szint restaurálására az öreg patkányok agyában és növelni a fiatal patkányokéban. Az utóbbiak a Morris water maze tesztben jó tanulási készséget mutattak, szemben az öreg patkányokkal, ami esetleg arra utal, hogy, vagy további DHA szint növekedésre lett volna szükség, vagy a kísérleteket később meg kellett volna ismételni, mert a hatter reakciók esetleg lassabbak.

C. Génexpressziós vizsgálatok.

A korábbi vizsgálataink már kimutatták, hogy a DHA és LNA gazdag takarmányok hatással vannak a génexpresszióra az agyban: 55 gén expressziója növekedett és 47 gén expressziója csökkent amennyiben az állatok a fogantatásuktól kezdve ilyen takarmányt kaptak. Ha a patkányok a LA/LNA=4.7:1 összetételű takarmányt kapták a LNA hatására "overexpresszáldott" 55 gén közül 20

expressziója még növekedett is. Ez azt látszik mutatni, hogy az agy érzékenyen reagál génexpresszió tekintetében a diéta zsírsavösszetételére.

ÖSSZEFOGLALÁS ÉS KÖVETKEZTETÉSEK.

A. Agyi foszfolipidek:

- 1 Az agy gyorsan reagál a táplálék DHA és AA összetételére esszenciális zsírsavakkal bőségesen ellátott állatok esetében is, amennyiben a zsírsavakat már intrauterine életben is kapják.
2. Elegendő DHA ill. a LA/LNA megfelelő aránya szükséges a DHA felhalmozódásához.
3. Idős állatok agyában is lehetséges növelni a DHA szintjét.
4. A nagyagy, kisagy és hippocampus saját lipidösszetétellel rendelkezik, de a három régió lényegében hasonló válaszokat ad a diéta zsírsavösszetételére.
5. Az agy az adott molekula specieszek arányát és nem az abszolút szintjét igyekszik fenntartani.

B. Tanulási teszt.

1. A DHA nem csak a membránok biofizikai paraméterének szabályozásában játszik szerepet, hanem olyan mechanizmusokban is résztvesz, amelyek a kognitív funkciókkal kapcsolatosak. A tanulás háttérben álló mechanizmusok beindulása azonban hosszabb időt vesz igénybe, mint a DHA megjelenése az agyban. A DHA génexpresszióra kifejtett hatása lehet az egyik háttérben álló mechanizmus.

C. Génexpressziós vizsgálatok.

1. A génexpresszió érzékenyen reagál a diéta zsírsavösszetételére az agyban.

A bemutatott eredmények alapján úgy látjuk, hogy a DHA felhalmozódása által kiváltott változások a membránok architektúrájában és funkcióiban továbbá a DHA génexpresszióra gyakorolt hatása együttesen magyarázhatják e zsírsav ill. az n-3 zsírsavak kognitív funkciókra kifejtett kedvező hatását.

KÖZLEMÉNYEK LISTÁJA, POSZTEREK ÉS ELŐADÁS.

Közlemények

1. Gwendolyn Barceló-Coblijn, Klára Kitajka, László G. Puskás, Endre Hőgyes Agnes Zvara, László Hackler jr., Tibor Farkas “Gene expression and molecular composition of phospholipids in rat brain in relation to dietary n-6 to n-3 fatty acid ratio” *Biochem. Biophys. Acta* **1632** (1-3), 72-79, 2003.

2. László G. Puskás, Klára Kitajka, Csaba Nyakas, Gwendolyn Barceló-Coblijn, and Tibor Farkas. “Short-term administration of omega 3 fatty acids from fish oil results in increased transthyretin transcription in old rat hippocampus” *Proc. Natl. Acad. Sci USA* **100**, 1580-1585, 2003

3. Klára Kitajka, László G. Puskás, Agnes Zvara, László Hackler, Jr., Gwendolyn Barceló-Coblijn, Youn K. Yeo, and Tibor Farkás. “The role of n-3 polyunsaturated fatty acids in brain: Modulation of rat brain gene expression by dietary n-3 fatty acids” *Proc. Natl. Acad. Sci USA* **99**, 2619-2624, 2002.

Poszterek:

- “Reversal by fish oil of age induced alterations in molecular composition of rat brain phospholipids”, Gwendolyn Barceló-Coblijn, Endre Hógyes, Klára Kitajka, László G. Puskás, Csaba Nyakas, Tibor Farkas, “*43rd International Conference on the Bioscience of Lipids*” Graz, Ausztria, (2002).
- “Molecular composition of phospholipids and gene expression in rat brain are affected by dietary fatty acids” Gwendolyn Barceló-Coblijn, László G. Puskás, Klára Kitajka & Tibor Farkas, “*8th International Congress on Phospholipids*”, Bécs, Ausztria (2002).
- “Factors controlling molecular composition and biophysical properties of vertebrate brain” Gwendolyn Barceló-Coblijn, Elfrieda Fodor, Klára Kitajka & Tibor Farkas, “*27th FEBS/PABMB meeting*” Lisszabon, Portugália (2001).

Előadás

- “Gene expression and Molecular Composition of Phospholipids in rat brain in relation to dietary n-6 to n-3 fatty acid ratio”, given at the “*5th International Congress on Essential Fatty Acid and Eicosanoids*”, Taipei, Taiwan (2002).