

**A NIKOTIN, A NIKOTINMEGVONÁS, A GHRELIN ÉS A GHRP-6 HATÁSAI A
LOKOMÓCIÓS AKTIVITÁSRA ÉS A DOPAMIN FELSZABADULÁSRA
PÁTKÁNYOKBAN**

Jelölt: Jázmin Ayman, M.D.

**Szegedi Tudományegyetem
Szent-Györgyi Albert Klinikai Központ
Szülészeti és Nőgyógyászati Klinika**

PhD Tézis Összefoglaló

Témavezető: Zsolt Bagosi, M.D., Ph.D.

**Szegedi Tudományegyetem
Szent-Györgyi Albert Orvostudományi Kar
Kórélettani Intézet**

2025

Szeged

RÖVIDÍTÉSEK

[³H]DA = tríciummal jelölt dopamin

BBB = vér-agy gát

BNST = stria terminalis ágymagja

CNS = központi idegrendszer

CPM = impulzus per perc

CRF = kortikotropin-felszabadító faktor

CRFR1 = 1-es típusú kortikotropin-felszabadító faktor receptor

CRFR2 = 2-es típusú kortikotropin-felszabadító faktor receptor

DA = dopamin

DSM-5 = Mentális zavarok diagnosztikai és statisztikai kézikönyve, ötödik kiadás

GH = növekedési hormon

GHRP-6 = növekedési hormont felszabadító peptid-6

GHSR = növekedési hormon szekretagóg receptor

GHSR1a = 1a típusú növekedési hormon szekretagóg receptor

GHSR1b = 1b típusú növekedési hormon szekretagóg receptor

GPCR = G-fehérjéhez kapcsolt receptor

icv = intracerebroventrikuláris

ip = intraperitoneális

LDT = laterodorzális tegmentális mag

NAcc = nucleus accumbens

nAChR = nikotinos acetilkolin receptor

sc = szubkután

VTa = ventrális tegmentális terület

WHO = Egészségügyi Világszervezet

1. BEVEZETÉS

1.1. A nikotin és a nikotinmegvonás hatásai

A nikotin a dohány legfőbb pszichoaktív összetevője, és a dohányfüggőség elsődleges oka. A dohányfüggőség a dohányzás káros szokásához vezet, amely világszerte magas morbiditással és mortalitással jár. Az Egészségügyi Világszervezet (WHO) becslése szerint 2018-ban több mint 6 millió ember halt meg az aktív dohányzás, míg további 1 millió nem dohányzó a passzív dohányzás következtében. A nikotin egy, a dohánylevélből természetes módon kivont alkaloid; egy átlagos cigaretta 10-12 mg nikotint tartalmaz, amelyből nagyjából 1 mg jut el a véráramba. A dohányzás során a nikotin gyorsan felszívódik a tüdő alveolusaiból a szisztémás keringésbe, áthalad a vér-agy gáton (BBB) és eléri a mezolimbikus dopaminrendszert, ahol a nikotinos acetilkolin-receptorokhoz (nAChR) kötődve fokozza a dopamin (DA) felszabadulását, jutalmazó érzetet és függőséget váltva ki. Pszichostimuláns hatása mellett a nikotin tachykardiát, érszűkületet, bronchospazmust, továbbá a váz- és a simaizmok összehúzódását idézi elő, részben az acetilkolin felszabadulása révén. Hatásait a nAChR-ok közvetítik, melyek pentamer szerkezetű, ligandvezérelt kationcsatornák, α - és β -alegységek különböző kombinációiból összeállva. Bár ezek a receptorok normális körülmények között az acetilkolinra reagálnak, a nikotin is nagy affinitással kötődik hozzájuk, konformációváltozást és a csatorna megnyílását idézve elő. A nAChR aktiválása fokozza a Na^+ - és Ca^{2+} -ionok beáramlását, helyi depolarizációt, valamint számos neurotranszmitter felszabadulását váltva ki.

A dohányfüggőség az egyik legelterjedtebb addikció és világszerte évente több mint 7 millió ember életét követeli. A nikotinfüggőségre jellemző a nikotin keresésére és bevitelére irányuló kényszer, a bevitt mennyiség feletti kontroll elvesztése, valamint a negatív érzelmi állapot kialakulása, amikor korlátozott a szerhez való hozzáférés. A *Mentális zavarok diagnosztikai és statisztikai kézikönyve*, ötödik kiadás (DSM-5) a dohány- vagy nikotinfüggőséget „dohányhasználati zavar” néven sorolja be. Klinikailag a diagnózis felállításához a tizenegy kritérium közül legalább kettőnek kell teljesülnie egy 12 hónapos időszakon belül; a zavar súlyossága az alábbiak szerint osztályozható: enyhe (2–3 kritérium), közepes (4–5 kritérium) vagy súlyos (hat vagy több kritérium). Neuroendokrinológiai megközelítésből a nikotinfüggőséget egy dinamikusan fejlődő rendellenességként képzelik el, amely három szakaszból áll: mértéktelen fogyasztás/intoxikáció, elvonás/negatív affektus, valamint sóvárgás–megszállottság/anticipáció. A nikotinfüggőség alapját a pozitív és negatív megerősítés együttesen képezi: a pozitív megerősítést a nikotin jutalmazó, euforizáló hatásai biztosítják, míg a negatív megerősítést a nikotinmegvonás averzív, diszfóriás tüneteinek

elkerülése tartja fenn. Kísérleti körülmények között a nikotinmegvonás tüneteit kiválthatja a mekamlamin, egy nem szelektív és nem kompetitív nAChR antagonist, amelyet rágcslóknál jellemzően szubkután (sc) vagy intracerebroventrikulárisan (icv) alkalmaznak, embereknél pedig per os. A szer így reprodukálja a nikotin elvonási szindrómát, lehetővé téve a függőség neurobiológiai vizsgálatát.

1.2. A ghrelin és a GHRP-6 hatásai

A ghrelin egy 28 aminosavból álló peptid, amely a ghrelinreceptor aktiválása révén serkenti a növekedési hormon (GH) felszabadulását. Eredetileg patkánygyomorból izolálták és azt találták, hogy ez az első perifériás hormon, ami erős stimuláló hatással bír az étvágy és a táplálékbevitel szabályozására emlősöknél – beleértve az embereket is –, ezért nevezték el „éhséghormonnak”. Az utóbbi évtizedek kutatásai arra is rámutattak, hogy a ghrelin számos további fiziológiai folyamatot szabályoz, és működési zavara endokrin, anyagsere-, kardiovaszkuláris, valamint központi idegrendszeri (CNS) kórképek kialakulásában játszhat szerepet. A növekedési hormont felszabadító peptid-6 (GHRP-6) egy szintetikus Met-enkephalin származék, amely nem rendelkezik opioid hatással, de a ghrelinreceptor révén képes serkenteni a GH felszabadulását. A GHRP-6-ot általában a ghrelinreceptor antagonistájaként tartjuk számon, de agonistaként is működhet, serkentve a GH felszabadulását és az étvágyat is. A ghrelinreceptor egy hétszeres transzmembrán-doménnel rendelkező, G-fehérjéhez kapcsolt receptor (GPCR), amelyet korábban növekedési hormon szekretagóg receptor (GHSR) néven ismertek és két altípusra osztottak (GHSR1a és GHSR1b), ahol a GHSR1a az étvágy és az energiaháztartás szabályozásáért felel, míg a GHSR1b gátolja a GHSR1a aktivitását. Azonban későbbi felfedezések alapján a ghrelin hormont napjainkban a receptor természetes endogén ligandumaként tartják számon, ezért a GHSR1a-t átnevezték ghrelinreceptorra. Ez a receptor megtalálható mind a CNS-ben, mind a perifériában. A CNS-ben a ghrelinreceptor olyan területeken fejeződik ki, ahol fenesztrált kapillárisok találhatók, például a hipotalamusz arcuatus magjában, amelyet a perifériában keringő ghrelin elér. Vannak olyan agyterületek, melyeket kizárólag centrálisan beadott ghrelin képes aktiválni, ilyen például az agytörzs laterodorzális tegmentális magja (LDT), mivel a BBB korlátozza a perifériás peptidek bejutását. A periférián a ghrelinreceptort számos szervben kimutatták (például az emésztőrendszerben, a hasnyálmirigyben, a szívben, a tüdőben, az érrendszerben, a vesében és az ivarszervekben), ami arra utal, hogy a keringő ghrelin az emésztőrendszer, a kardiovaszkuláris rendszer és a reprodukció szabályozásában is szerepet játszhat.

Az étel önmagában kiváltott jutalmazó hatásán túl a ghrelin és annak receptora szerepet a természetes és szintetikus pszichoaktív szerek - például a nikotin, az alkohol, az amfetamin és a kokain - által keltett jutalmazó hatásban is szerepet játszik. Több bizonyíték is rendelkezésre áll, amely a ghrelin és a nikotin közötti kölcsönhatást mutatja be. Állatkísérletek esetében a bizonyítékok korlátozottak, de összességében azt mutatják, hogy a nikotin beadása megemeli a ghrelinszintet és a GHSR1a antagonisták alkalmazása képes mérsékelni a nikotin egyes viselkedési és biokémiai hatásait. Humán vizsgálatok esetében az eredmények kissé heterogének, de a legtöbb tanulmány azt jelzi, hogy a dohányzók ghrelinszintje magasabb, mint a nem dohányzóké, és a leszokás hosszabb távon a ghrelinszint csökkenéséhez vezethet. Egyes adatok arra utalnak, hogy az endogén ghrelinszint pozitívan korrelál a dohányzási évek számával és előre jelezheti a visszaesés kockázatát. Azonban nem találtak összefüggést a ghrelin koncentrációja és a dohányzás mértéke, illetve az elvonási tünetek vagy a sóvárgás súlyossága között.

2. CÉLKITŰZÉSEK

A célkitűzések megvalósítása érdekében két kísérletsorozatot végeztünk: (1) *in vivo* viselkedési tesztek nikotinnal kezelt patkányokon, icv injekciók alkalmazásával; (2) *in vitro* kísérletekben DA-felszabadulást határoztunk meg agyszeletek szuperfúziós technikájával.

A kutatás első célja annak vizsgálata volt, hogy a ghrelin és a GHRP-6 miként befolyásolja a patkányok lokomotor aktivitását (horizontális és vertikális komponens) krónikus nikotinadagolást, majd akut megvonást követően. Egy korábbi tanulmányunkban már vizsgáltuk a kortikotropin-felszabadító faktor (CRF) receptorok (CRFR1 és CRFR2) szerepét a lokomotor aktivitás és a striatális DA-felszabadulásának változásában olyan patkányokon, amelyeket hasonló *in vivo* kezelési protokollnak vetettünk alá.

A kutatás második célkitűzése az volt, hogy megvizsgáljuk, miként befolyásolja a ghrelin és a GHRP-6 a DA-felszabadulást a stria terminalis ágymagja (BNST), amely közvetítheti a krónikus nikotinkezelés, illetve az akut nikotinmegvonás során észlelt lokomotoros aktivitásváltozásokat. Korábbi *in vitro* szuperfúziós vizsgálatainkban kimutattuk, hogy a ghrelin és a nikotin egyformán stimulálja a DA-felszabadulást a patkány amygdalában, továbbá a ghrelin felerősíti a nikotin által kiváltott DA-felszabadulást a patkány striatumban. Azonban a ghrelin és a nikotin hatása a BNST-ben még nem volt részletesen tanulmányozva, ezért a közelmúltban végzett vizsgálatunkban hím Wistar patkányok BNST-jét szuperfúziós rendszerben kezeltük nikotinnal, illetve ghrelinnel, és a DA kiáramlást *in vitro* mértük. Annak meghatározására, hogy mely receptorok közvetítik ezeket a hatásokat, a patkány BNST-hez

mecamylamint, egy nem szelektív nAChR antagonistát és GHRP-6-ot, egy szelektív GHSR1a antagonistát is szuperfundáltunk.

3. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

3.1. *In vivo* Conducta kísérletek

A kísérletben használt hím és nőstény Wistar patkányokat a "TOXI - COOP" Toxikológiai Kutató Központ Zrt. (Budapest, Magyarország) biztosította. Az állatok serdülő korúak voltak (körülbelül 6–7 hetesek), de szexuálisan már érettek voltak és érkezéskor 150–250 g közötti súllyal rendelkeztek. A kísérleteket megelőzően a patkányokat közösen tartottuk, állandó hőmérsékleten, szabványos világítási rend szerint napi 12 óra világos, 12 óra sötét periódussal (a fény 06:00-kor kapcsolt be). Az állatok számára kereskedelmi forgalomban kapható táplálék és csapvíz állandó jelleggel biztosítva volt. A nem specifikus stressz hatásainak minimalizálása érdekében a patkányokkal naponta foglalkoztunk. A kísérletek során a patkányokat a Szegedi Tudományegyetem Állatkísérleti Etikai Bizottságának utasításai szerint kezeltük.

A patkányokba 60 mg/kg pentobarbital-nátriummal (Euthanasol, CEVA-Phylaxia, Budapest, Magyarország) történő altatás alatt egy 10 mm hosszú rozsdamentes acél Luer-kanült ültettünk be a jobb oldalkamrába. A patkány agyat bemutató sztereotaxiás atlasz alapján a koordinátákat az alábbiak szerint határoztuk meg: 0,2 mm poszterior irányba és 1,7 mm a bregmától laterálisan, valamint 3,7 mm mélyen a dura felszínétől. A kanüloket akrilát és fogászati cement (Spofa Dental Adhesor, Prága, Csehország) segítségével rögzítettük a koponyához. A kísérletek megkezdése előtt 7 nap felépülési időt biztosítottunk a patkányoknak. A kísérleteket követően a patkányokat lefejeztük és 10 µl, 1g/100ml-es koncentrációjú metilénkék-oldatot (Reanal Ltd., Budapest, Magyarország) injektáltunk icv, majd a kanülok helyzetét vizuálisan ellenőriztük. Azokat az állatokat, amelyeknél a jobb oldalkamrában nem volt látható a metilénkék (100-ból 3 esetben), kizártuk a végső statisztikai elemzésből. Az altatást és a műtétet követően egy állat sem pusztult el.

Hét egymást követő napon a patkányok naponta kétszer (08:00-kor és 20:00-kor) kaptak intraperitoneálisan (ip) 2 mg/kg nikotint (Sigma-Aldrich Inc., St. Louis, USA), vagy 0,9%-os sóoldatot (B. Braun Inc., Melsungen, Németország). Ez az adagolási protokoll olyan plazmanikotinszintet hoz létre a patkányokban, amely megegyezik a naponta 1–2 doboz cigarettát elszívó személyek esetében mért adatokkal. Ezzel párhuzamosan a patkányok hét napon keresztül naponta egyszer (08:00-kor) icv 1 µg/2 µl ghrelint, vagy 1 µg/2 µl GHRP-6-ot, vagy 2 µl 0,9%-os sóoldatot is kaptak. A 8. nap reggelén (12 órával az utolsó ip beadást

követően) és a 9. napon (24 órával az utolsó ip beadást követően) a patkányok horizontális és vertikális aktivitását egy open-field elven működő Conducta-rendszerben vizsgáltuk. A patkányok horizontális és vertikális aktivitását egy 5x5-ös fotocella-sugarakból álló rendszerrel monitorizáltuk, és az adatokat egy számítógép 10 percig rögzítette egyenként. A horizontális aktivitás az általános aktivitást és éberséget méri, míg a vertikális aktivitás az exploratív és sztereotip viselkedésről szolgáltat információt.

Az eredmények statisztikai feldolgozását a GraphPad Prism 7 (GraphPad Inc., USA) programmal végeztük. A csoportok közötti különbségeket egyirányú varianciaanalízissel (one-way ANOVA) és Tukey-féle post hoc próbával, illetve Kruskal–Wallis-tesztel és Dunn-féle post hoc próbával értékeltük; a választott teszteket minden esetben Shapiro–Wilk-féle normalitásvizsgálat előzte meg. A statisztikai szignifikancia határát $p \leq 0,05$ szintben állapítottuk meg.

3.2. *In vitro* superfúzió kísérletek

In vitro kísérleteinkben 150-250 g súlyú hímnemű Wistar patkányokat ($N = 6$) használtunk. A patkányokat az ARRIVE irányelveknek megfelelően kezeltük és a vizsgálatokat az állatkísérletekre vonatkozó EU 2010/63/EU irányelvnek megfelelően végeztük. Az alkalmazott agonistákat (a nikotint és a ghrelint) a B. Braun Inc. (Melsungen, Németország), illetve a Bachem Inc. (Bubendorf, Svájc) vállalatok szolgáltatták. Az alkalmazott antagonistákat (a mekamilamint és a GHRP-6-ot) a Sigma-Aldrich Inc.-től (St. Louis, MO, USA) szereztük be. A Krebs-oldat 113 mM NaCl-t, 4,7 mM KCl-t, 1,2 mM MgSO₄-t, 25 mM NaHCO₃-t, 11,5 mM glükózt, 1,2 mM KH₂PO₄-t és 2,5 mM CaCl₂-t tartalmazott. Az oldatot a Reanal Ltd. (Budapest, Magyarország) biztosította. A tríciummal jelölt DA-t ([³H]DA) és az Ultima Gold szcintillációs folyadékot a Perkin-Elmer Inc.-től (Waltham, MA, USA) rendeltük. A superfúziós rendszer a MDE Ltd.-től (Heidelberg, Németország) vásároltuk és a módszert eredetileg Gaddum írta le.

A BNST-ből származó szeleteket 8 ml Krebs-oldatban inkubáltuk 37 °C-os vízfürdőben; az oldaton egy egyszer használatos tűn keresztül 30 percig 5 % CO₂-t és 95 % O₂-t tartalmazó gázkeveréket buborékolattunk át. Az inkubáció során Hamilton Microliter fecskendővel 5 µl [³H]DA-t (1 mCi/ml; 60 Ci/mmol) adtunk az oldathoz. Ezután hat-hat BNST-szeletet helyeztünk a superfúziós rendszer hengeres kamráiba, és Krebs-oldattal superfuzionáltuk őket 30 percig. A 300 µl/perc állandó áramlást többcsatornás perisztaltikus pumpa (Gilson Minipuls 2) biztosította. 30 perc elteltével további 32 percig folytattuk a superfúziót, ezalatt frakciókat gyűjtöttünk Eppendorf-csővekbe többcsatornás

frakciógyűjtővel (Gilson FC 203B). A szuperfúzió indítását követő 20. percben 100 μ M nikotint és/vagy 1 μ M ghrelint adagoltunk; ahol szükséges volt, ott a 10. percben előkezelésként 100 μ M mekamilamint és/vagy 1 μ M GHRP-6-ot (szelektív GHSR1a antagonistá) alkalmaztunk. Elektromos ingerlést a szuperfúzió kezdetétől számított 32. percben (tehát 2 perccel a frakciógyűjtés megkezdése után) adtunk: 100 V feszültségű, 5 ms időtartamú négyszögimpulzusok 10 Hz frekvenciával, 2 percen át, aranyelektrodákon keresztül, ST-02 stimulátorral mind a négy kamrában. Újabb 30 perc szuperfúziót követően a megmaradt BNST szeleteket eltávolítottuk, és 200 μ l Krebs-oldatban ultrahangos homogenizátorral (Branson Sonifier 250) szolubilizáltuk. A homogenizált szeleteket és a gyűjtött frakciókat külön-külön 3 ml Ultima Gold szcintillációs folyadékkal elegyítettük üvegfiolákban, majd a radioaktivitást Tri-Carb 2100TR folyadékszscintillációs spektrométerrel (Packard, USA) határoztuk meg. A frakcionális [3 H]DA-felszabadulást úgy határoztuk meg, hogy a begyűjtött frakciók radioaktivitását a szövetben visszamaradt radioaktivitáshoz viszonyítva százalékban fejeztük ki; a radioaktivitást impulzus per perc (CPM) egységben adtuk meg.

A statisztikai elemzést a Stata13 programmal (StataCorp, College Station, TX, USA) végeztük. A páronkénti összehasonlításokat ismételt mérések varianciaanalízisével (repeated-measures ANOVA), majd Tukey-féle post hoc próbával értékeltük. A $p \leq 0,05$ szintet tekintettük statisztikailag szignifikánsnak.

4. EREDMÉNYEK

4.1. A lokomóciós aktivitás

A 8. napon (12 órával az utolsó ip beadása után) a nikotinnal kezelt patkányoknál jelentős hiperaktivitást figyeltünk meg (horizontális aktivitás: $F(5,45) = 17.28$; $p < 0.001$; vertikális aktivitás: $F(5,45) = 1.97$; $p = 0.024$), amelyet a ghrelin és a GHRP-6 szignifikánsan csökkentettek. Amikor az állatokat nemek szerint csoportosítottuk, a horizontális aktivitás növekedése a hímeknél ($F(5,25) = 9.04$; $p = 0.001$) nagyobb mértékű volt, mint a nőstényeknél ($F(5,20) = 7.86$; $p = 0.008$), így a ghrelin és a GHRP-6 hatása statisztikailag csak a hímeknél volt szignifikáns, a nőstényeknél nem. Ezzel szemben a vertikális aktivitás mind a hímeknél ($F(5,25) = 11.67$; $p = 0.004$), mind a nőstényeknél ($F(5,20) = 10.872$; $p = 0.050$) szignifikánsan nőtt, viszont a ghrelin és a GHRP-6 hatása egyik nem esetében sem bizonyult statisztikailag szignifikánsnak.

A 9. napon (24 órával az utolsó ip beadása után) a nikotinnal kezelt patkányoknál jelentős hipoaktivitást észleltünk (horizontális aktivitás: $F(5,45) = 19.11$; $p < 0.001$; vertikális

aktivitás: $F(5,45) = 4.94$; $p = 0.013$). Ezt a hipoaktivitást mind a ghrelin, mind a GHRP-6 szignifikánsan gátolta. Amikor az állatokat nem szerint két csoportra osztottuk, a nikotinnal kezelt hímeknél ($F(5,25) = 7.94$; $p < 0.001$) és a nőstényeknél ($F(5,20) = 12.05$; $p < 0.001$) is egyaránt nagy mértékben csökkent a horizontális aktivitás és a ghrelin, valamint a GHRP-6 hatása mindkét nemnél szignifikánsnak bizonyultak. Ezzel szemben a vertikális aktivitás esetén a csökkenés a hímeknél ($F(5,25) = 2.81$; $p = 0.045$) jelentősebb volt, mint a nőstényeknél ($F(5,20) = 2.48$; $p = 0.079$), de a ghrelin és a GHRP-6 hatása egyik csoportnál sem bizonyult szignifikánsnak.

4.2. A dopaminfelszabadulás

A nikotin az elektromos stimulációt követően szignifikánsan növelte a patkány BNST-ben a frakcionált tríciummal jelölt DA ($[^3\text{H}]\text{DA}$) felszabadulását ($F(3,31) = 19.78$; $p < 0.001$), és ezt a hatást a mekamlamin szignifikánsan gátolta ($F(3,31) = 19.78$; $p < 0.001$). A ghrelin az elektromos stimulációt követően a nikotinnál is nagyobb mértékben növelte a patkány BNST-ben a frakcionált $[^3\text{H}]\text{DA}$ felszabadulását ($F(3,31) = 16.58$; $p < 0.001$), és ezt a hatást a GHRP-6 szignifikánsan gátolta ($F(3,31) = 16.58$; $p < 0.001$). Továbbá együttes alkalmazásuk esetén a ghrelin szignifikánsan felerősítette a nikotin által kiváltott frakcionált $[^3\text{H}]\text{DA}$ felszabadulást a patkány BNST-ben az elektromos stimulációt követően ($F(3,31) = 13.19$; $p < 0.001$). A nikotin és a ghrelin additív hatását részben a mekamlamin ($F(3,31) = 16.58$; $p < 0.001$), részben pedig a GHRP-6 ($F(3,31) = 13.5$; $p < 0.05$) gátolta. Korábbi vizsgálataink már kimutatták, hogy a ghrelin és a nikotin egyaránt serkentik a DA-felszabadulást a patkány amygdalában, és hogy a ghrelin felerősíti a nikotin által kiváltott DA-felszabadulást a patkány striatumban.

5. MEGBESZÉLÉS

5.1. A nikotin, a nikotinmegvonás, a ghrelin és a GHRP-6 *in vivo* hatásai

A 7 napon át nikotinnal kezelt patkányoknál a 8. napon megnövekedett a horizontális és a vertikális aktivitás. Ez az eredmény összhangban áll korábbi kutatásokkal, melyek szerint krónikus nikotinexpozíció során a 4., 8. és 10. napokon lokomotor hiperaktivitás figyelhető meg. A megfigyelt lokomotor hiperaktivitás magyarázható a DA koncentrációjának és a DA-receptorok (D1- és D2-típusú) striatumbeli sűrűségének növekedésével, valamint a középagy DA-receptorok túlérzékenységevel, amely általában néhány nap elteltével alakul ki nikotin hatására. A 9. napon a patkányokban az egy napja tartó akut nikotinmegvonás hatására csökkent a horizontális és a vertikális aktivitás. A nikotinmegvonási szindrómának van egy szomatikus összetevője, amelyet motoros hipoaktivitás, fokozott étvágy és testsúlygyarapodás jellemez, és

egy affektív összetevője, amelyet diszfória, szorongás és depresszió jellemez. A nikotin megvonást követően a fizikai tünetek már néhány órán belül jelentkeznek, és körülbelül 24 óra elteltével tetőznek. Az affektív tünetek már korán jelentkezhetnek, és akár hónapokig is fennállhatnak. Ez krónikus nikotinmegvonáshoz vezet, melyet a sóvárgás és a visszaesés fokozott kockázata jellemez. Mind a ghrelin, mind a GHRP-6 szignifikánsan csökkentette a nikotinnal kezelt patkányoknál a 8. napon megfigyelt lokomotoros hiperaktivitást. A 9. napon a nikotinnal kezelt patkányoknál megfigyelt lokomotoros hipoaktivitást is szignifikánsan gátolta a ghrelinreceptoron keresztül ható természetes és szintetikus peptid. A GHRP-6-ot általában ghrelinreceptor antagonistaként tartják számon, de számos esetben agonistaként működik (mint például a GH szekréciójának serkentése és a táplálékfelvétel fokozása). Így nem meglepő, hogy a ghrelin és a GHRP-6 hasonló hatást gyakorol a nikotin által kiváltott lokomócióra, és ez összefüggésben állhat a GH-szekretagógok hipotalamuszban és kisagyban kimutatott neuroprotektív hatásaival. A ghrelin, a nikotin és a GHRP-6 közötti kölcsönhatások különböző agyterületeken is fennállhatnak, beleértve a hipotalamuszt és a kisagyat is, de ezeket valószínűleg a kolinerg-dopaminerg jutalmazó kapcsolat közvetíti, amely magában foglalja az LDT-ből a ventrális tegmentális területbe (VTA) tartó afferens kolinerg projekciót, valamint a mezolimbikus dopaminerg pályát.

5.2. A nikotin, a mecamylamine, a ghrelin és a GHRP-6 *in vitro* hatásai

A nikotin az elektromos stimulációt követően szignifikánsan növelte a patkány BNST-ben a DA-felszabadulását, és ezt a hatást a nem szelektív nAChR-antagonista mecamylamin szignifikánsan gátolta. Ez az eredmény összhangban áll korábbi *in vivo* és *in vitro* vizsgálatokkal, amelyek kimutatták, hogy a nikotin számos szubkortikális és kortikális agyterületen fokozza a DA-felszabadulását. A nikotin DA-ra gyakorolt serkentő hatását feltehetően a BNST-ben található dopaminerg terminálokban kifejeződő különböző nAChR altípusok közvetítik, és ez hozzájárulhat a nikotin által kiváltott jutalomérzet kialakulásához. Számos tanulmány kimutatta, hogy a BNST-ben zajló dopaminerg jelátvitel szerepet játszik az olyan addiktív szerek, mint a nikotin által kiváltott jutalomérzet kialakulásában. A BNST-ben az extracelluláris DA-szint dóziszfüggő növekedését figyelték meg olyan mesterséges szerek, mint például a nikotin, beadása után. Emellett a BNST-ben fokozott DA-felszabadulást figyeltek meg természetes jutalmazó anyagok, például szacharóz adását követően is. Továbbá a BNST-ben a D₁ típusú DA receptorok blokkolása csökkentette mind az etanol-, mind a szacharóz-önadagolását. Több tanulmány utal arra, hogy a BNST-ben zajló DA-jelátvitel a nikotinmegvonás által kiváltott negatív affektus kialakulásában is szerepet

játszhat. A ghrelin DA-ra és a lokomotoros aktivitásra kifejtett serkentő hatását feltehetően a kolinerg–dopaminerg jutalmazó pályarendszer mentén szétszórtan található GHSR1a receptorok közvetítik. Ez a pályarendszer magában foglal egy afferens kolinerg vetületet, amely az LDT-ből indul ki és a VTA-ba vetül, valamint egy mezokortikolimbikus dopaminerg pályát, amely a VTA-ból ered, és rostokat küld többek között a ventrális striátumba, ennek képviselőiben a nucleus accumbensbe (NAcc). A ghrelin által aktivált kolinerg–dopaminerg jutalmazó rendszer serkentheti a BNST-ben található dopaminerg idegvégződésekből a DA-felszabadulását, és a nikotin által kiváltotthoz hasonló jutalomérzetet idézhet elő. Ezenfelül a ghrelin és a nikotin együttes adagolása szignifikánsan felerősítette a patkány BNST-ben az elektromos stimuláció hatására bekövetkező, nikotin által kiváltott DA-felszabadulást. Ezt a hatást részben a mekamlamin, részben pedig a GHRP-6 gátolta.

6. KÖVETKEZTETÉSEK

A jelenlegi és korábbi vizsgálatok alapján arra a következtetésre jutottam, hogy a nikotinmegvonás utáni 12. és 24. órában tapasztalt horizontális és vertikális aktivitásváltozásokat közepagy DA-mechanizmusok közvetítik, és ezek a változások ghrelinnel, illetve GHRP-6-tal mérsékelhetők. Ez a tanulmány elsőként szolgáltat *in vivo* bizonyítékot arra, hogy a ghrelin és a GHRP-6 egyaránt mérsékli a krónikus nikotinkezelés által kiváltott lokomotoros hiperaktivitást, valamint az akut nikotinmegvonás okozta lokomotoros hipoaktivitást, és e hatásokban lehetséges nemi különbségek is megfigyelhetők. Az *in vitro* vizsgálatom elsőként mutatta ki, hogy a nikotin szignifikánsan fokozza a DA-felszabadulását a BNST-ben, és ezt a hatást a mekamlamin szignifikánsan gátolta, valamint, hogy a ghrelin a BNST-ben a DA-felszabadulását a nikotinénál is nagyobb mértékben növelte, és ezt a hatást a GHRP-6 szignifikánsan gátolta. Továbbá, együttes alkalmazásuk esetén a ghrelin felerősítette a nikotin által kiváltott DA-felszabadulást a BNST-ben, és ezt az additív hatást részben a mekamlamin, részben a GHRP-6 gátolta. A ghrelin és a nikotin kölcsönhatásának pontos mechanizmusa azonban még nem tisztázott. Korábbi vizsgálataink már kimutatták, hogy a ghrelin és a nikotin egyaránt fokozzák a DA-felszabadulását a patkány amygdalájában, és hogy a ghrelin felerősíti a nikotin által kiváltott DA-felszabadulást a patkány striátumában. Preklinikai eredményeink klinikai jelentőséggel bírhatnak, mivel azt sugallják, hogy a ghrelin prognosztikai eszközként alkalmazható - például a dohányosok ghrelinszintjének mérésével előre jelezhető a visszaesés kockázata-, továbbá a ghrelinreceptor ígéretes farmakológiai célpontot jelenthet a nikotinfüggőség kezelésében.

KÖZLEMÉNYEK

A jelen tézis alapját képező eredeti közleményeim:

Ayman J, Palotai M, Dochnal R, Bagosi Z. Ghrelin Amplifies the Nicotine-Induced Release of Dopamine in the Bed Nucleus of Stria Terminalis (BNST). *Biomedicines* 2023 Sep, 11(9), 2456. doi: 10.3390/biomedicines11092456

Ayman J, Buzás A, Dochnal R, Palotai M, Jászberényi M, Bagosi Z. Changes in Locomotor Activity Observed During Acute Nicotine Withdrawal Can Be Attenuated by Ghrelin and GHRP-6 in Rats. *Biomedicines* 2025 Jan, 13(1), 143. doi.org: 10.3390/biomedicines13010143

A tézishoz kapcsolódó előadásom:

Ayman J, Bagosi Z. A ghrelin és a GHRP-6 hatásai a nikotin és a nikotinmegvonás okozta lokomóció és dopamin változásokra. MÉT, 29-31 May 2024, Debrecen, Hungary

A tézishoz kapcsolódó poszter-előadásaim:

Ayman J, Megyesi K, Dochnal R, Csabafi K, Bagosi Z. A ghrelin és a [D-Lys3]-GHRP-6 hatásai a krónikus nikotin adást követő akut nikotin megvonásra. FAMÉ, 7-9 June 2023, Mátraháza, Hungary

Ayman J, Dochnal R, Bagosi Z. Ghrelin amplifies the nicotine-induced dopamine release in the rat amygdala, bed nucleus of stria terminalis (BNST) and striatum. INC, 25-26 January 2024, Pécs, Hungary

ÖSSZES IMPAKT FAKTOR: 7.8

ÖSSZES IDÉZÉS: 2 (ÖNIDÉZÉS NÉLKÜL: 1

KÖSZÖNETNYÍLVÁNÍTÁS

Szeretném kifejezni őszinte hálámat professzoraimnak, kollégáimnak, a laboratóriumi asszisztenseknek és családomnak, akik nélkül ez a disszertáció nem készülhetett volna el. Elsősorban hálával tartozom Prof. Dr. Német Gábornak és Prof. Dr. Várbíró Szabolcsnak, amiért lehetővé tették számomra, hogy a Szülészeti és Nőgyógyászati Klinika mellett a Kóréletani Intézetben is dolgozhassak. Másodsorban hálás vagyok kollégáimnak, Dr. Buzás Andrásnak és Dr. Dochnal Robertának, akik megosztották velem ötleteiket. Továbbá köszönöm Dr. Csabafi Krisztinának és Dr. Palotai Miklósnak a statisztikai elemzések elvégzését, valamint Fráter Zsuzsannának és Kiss Gusztávnak a technikai segítséget. Harmadsorban a legnagyobb hálával tartozom Dr. Bagosi Zsoltnak elméleti és gyakorlati tanácsaiért. Meg vagyok győződve arról, hogy nélküle ez a doktori disszertáció nem készülhetett volna el. Végül, de nem utolsósorban szeretnék köszönetet mondani szüleimnek, két nővéremnek és öcsémnek, akik lehetővé tették számomra, hogy tanulhassak és megszerezhessem orvosi diplomámat, valamint – reményeim szerint – a PhD fokozatot is.

Végezetül megemlítem, hogy e munkát az EFOP-3.6.2-16-2017-00006, valamint a SZAOK-KKA-SZGYA (2023.02.01.–2025.01.30) pályázatok támogatták. Ezen támogatásokat a Szegedi Tudományegyetem Szent-Györgyi Albert Orvostudományi Kara biztosította a Prof. Dr. Szabó Gyula és Prof. Dr. Rakonczay Zoltán által vezetett Kóréletani Intézet számára.