

Semmelweis Egyetem Doktori Iskola
Semmelweis Egyetem, Testnevelési és Sporttudományi Kar
Nevelés- és Sporttudományi Doktori Iskola

**A természetes antioxidánsok és a fizikai aktivitás
szerepe az oxidatív stresszre a neurodegeneratív
elváltozásokban**

Szerző: Toldy Anna

Témavezető:

dr. Radák Zsolt, DSc, egyetemi tanár

Opponensek:

dr. Fehér János, DSc, egyetemi tanár

dr. Pucskó József, DSc, főigazgató helyettes

Bizottság:

Elnök: dr. Pavlik Gábor, DSc, egyetemi tanár

Tag: dr. Pucskó József, DSc, főigazgató helyettes

dr. Mészáros János, CSc, egyetemi tanár

dr. Ferdinándy Péter, DSc, egyetemi tanár

Budapest, 2006.

UMI Number: 3217005



UMI Microform 3217005

Copyright 2006 by ProQuest Information and Learning Company.
All rights reserved. This microform edition is protected against
unauthorized copying under Title 17, United States Code.

ProQuest Information and Learning Company
300 North Zeeb Road
P.O. Box 1346
Ann Arbor, MI 48106-1346

TARTALOMJEGYZÉK

Rövidítések.....	4.
1. Bevezetés.....	6.
1.1. Csalán	8.
1.2. Szabadgyökök, oxidatív stressz, antioxidáns rendszer	9.
1.2.1. Az öregedéssel együtt járó oxidáns, antioxidáns rendszerek változásai.....	15.
1.2.2. Rendszeres fizikai aktivitás hatása az oxidatív stresszre és az antioxidáns védekezésre.....	18.
1.2.3. Mozgás hatása az öregedés okozta az oxidatív stresszre, az antioxidáns védekezésre és a neurodegenerációra.....	21.
1.3. Gyulladásos transzkripciós faktorok	23.
1.3.1. Mozgás szerepe a gyulladásos transzkripciós faktorok regulációjában.....	24.
1.3.2. Gyulladásos transzkripciós faktorok szerepe az öregedésben, léziós modellek.....	25.
1.4. Neurotrophinok	28.
1.4.1. Mozgás és az agyi javító mechanizmusok.....	29.
1.4.2. Neurotrophinok és az öregedés.....	30.
2. Hipotézisek.....	31.
3. Módszerek	
3.1. Természetes körülmények között végzett kísérleti módszerek	
3.1.1. Kísérleti állatok, csalán táp, úszás protokoll.....	32.
3.1.2. Biokémiai mérések.....	33.
3.2. Léziós modell módszerei	
3.2.1. Kísérleti állatok, csalán táp, úszás, műtéti protokoll.....	35.
3.2.2. Magatartás és tanulási tesztek.....	37.

3.2.3. Biokémiai mérések.....	38.
4. Eredmények	
4.1. Természetes körülmények közötti vizsgálatok eredményei	
4.1.1. Testtömeg és szervsúly változások.....	38.
4.1.2. Biokémiai eredmények.....	43.
4.2. Léziós modell vizsgálatának eredményei	
4.2.1. Testtömeg és szervsúly változások.....	49.
4.2.2. Magatartás és tanulási tesztek.....	55.
4.2.3. Biokémiai eredmények.....	57.
5. Megbeszélés.....	65.
6. Következtetések.....	72.
Köszönetnyilvánítás.....	75.
Irodalomjegyzék.....	76.
Közlemények jegyzéke.....	95.
Összefoglalás.....	96.
Summary.....	97.

Rövidítések

ΔO_2 , ΣO_2 - szinglet oxigén

8dHdG- 8 dihidroxi- guanozin

AMP- adenin monofoszfát

AP-1-apoprotein 1

ATP- adenin trifoszfát

BDNF- brain derived nerve factor

CAT- kataláz

COX₂- ciklooxygenáz 2

CuZn-SOD- réz-cink szuperoxid diszmutáz

Ec-SOD- extracelluláris szuperoxid diszmutáz

Fe-SOD- vas szuperoxid diszmutáz

Mn-SOD- mangán szuperoxid diszmutáz

DNPH- dihidrofenilhidrazon

ED-epididimális

EDTA- etilén diamin tetra ecetsav

ETL- elektron transzport lánc

EMSA- electro mobility shift assay

EPR- elektron spin rezonancia

ETL- elektron transzport lánc

GPX- glutation peroxidáz

GSH- redukált glutation

H₂O₂ - hidrogén peroxid

HO[•]- hidroxil gyök

HOO[•]- hidroperoxil gyök

HRP- horseradish peroxidáz

I κ B- inhibitor kappa B

IL-1,6- interleukin 1,6

JNK- c-Jun NH₂ terminális protein kináz

Jun, Fos és Fra géncsalád

MAP- mitogén aktivált protein kináz
MDA- malondialdehid
Mtⁿ⁺ és Mt⁽ⁿ⁺¹⁾⁺ - redukált vagy oxidált átmeneti fémion
NBM- nucleus basalis magnocellularis
NF-kB- nuclear faktor kappa B
NGF- nerve growth factor
NMDA- N-metil D-aszpartát
NO- Nitrogén monoxid
NOS- nitrit oxid szintáz
NT3- neurotrophin 3
O₂[•]- szuperoxid gyök
O₂⁻- szuperoxid gyök
ONOO⁻- peroxinitrit
PBK- protein kináz B
RCD-reaktív karbonil derivatív
RelA, RelB, c-Rel, NF-kB1, NF-kB2- nukláris faktor kappa B fajták
RNI- reaktív nitrogén intermedier
ROI- reaktív oxigén intermedier
ROO[•]- peroxil gyök
ROOH- hidroperoxid
RP-retriaperitoneális
SOD- szuperoxid diszmutáz
TMB- tetra metil benzidin
TNF- α - tumor nekrozis faktor- α
Trk-tropomiozin receptor kináz

1. BEVEZETÉS

A mai, minden tevékenységünket leegyszerűsíteni törekvő környezetben egyre gyakrabban merül fel a kérdés, hogy vajon fiziológiai szempontból mennyire hasznos is ez nekünk. Minden tevékenységünket úgy igyekszünk alakítani, hogy a legkisebb energia befektetéssel a legnagyobb eredményt, eredményességet érhessük el. Ennek az életmódnak az egyik legkiemeltebb rizikófaktora az inaktivitás. Társadalmunkban nincs idő rendszeres fizikai aktivitást végezni, és a gyermekek figyelmét sem hívják fel kellőképp az aktív kikapcsolódás fontosságára. Egyre több a túlsúlyos gyermekek száma, amely korai hipertóniához, cukorbetegséghez, ízületi deformitáshoz vezethet. Az inaktivitás mellett a megfelelően összeállított diéta, és az ételek minősége is jelentősen befolyásolja egészségünket. Ezen életmódbeli változások egyenes következményei a gyakran csak középkorúaknál kialakulni látszó, de egy hosszú patológiás láncfolyamatot akumulálódása során létrejövő, életmóddal összefüggő betegségek megjelenése. Ezek a patológiás folyamatok életminőségünket és élethosszunkat is csökkenthetik. Legegyszerűbb eszköz a kialakulásuk megakadályozására a megelőzés. A jó minőségű és hosszan tartó, fizikai és fiziológiai egészség megtartása egyre fontosabb területté válik az egészségügy, a prevenció és a kutatás területén belül is.

Magyarország népességének 14%-a 65 év feletti lakosból áll. Közülük csak körülbelül 10% végez rendszeresen fizikai aktivitást. Evvel szemben a mozgásszervi betegségek, az életmóddal összefüggő betegségek száma, és a rákos megjelenések egyre nagyobb mértéket öltenek körükben. Az életmód megváltozása miatt kialakult betegségek, mint a kardiovaszkuláris és pulmonáris betegségek, túlsúlyosság, diabétesz, rák és a mi esetünkben is vizsgált neurodegeneratív elváltozások stb. megelőzhetőek egészséges életmód kialakításával idős korban is, valamint a rendszeres mozgás és megfelelő diéta segít egy jobb minőségű, értékesebb életmód megteremtésében.

A neurodegeneratív betegségek külön csoportot alkotnak, fiziológiás hátterük részletesen feltárt, de mégis akadnak szürke foltok kialakulásuknak okaival kapcsolatban. A neurodegeneratív betegségek közé tartozik a ma leggyakoribbnak mondott Alzheimer és Parkinson kór, a stroke és az isémiás folyamatok, melyek az agyi

neuronális kapcsolatok és metabolikus érintettségét mutatják. Számos más kutatás is feltételezi, hogy a neurodegeneratív betegségek megelőzhetőek az életmód megváltoztatásával. A kalória megvonás, az intellektuális aktivitás, a mozgás és a komplex környezet kialakítása jól bevált módszerek, melyek növelik az élettartam hosszát, triggerelik az agyi javító mechanizmusok működését, és csökkentik a neurodegeneratív betegségek kialakulásának kockázatát (25, 113, 127, 125).

Ezért jelen disszertáció célja volt mind a diéta, mind a rendszeres fizikai aktivitás az agyi szövetekre gyakorolt biokémiai vizsgálata, és bizonyítani a beavatkozások fontosságát és hasznosságát az egészséges életmód megtartása érdekében mind természetes mind neurodegeneratív körülmények között.

1.1. Csalán

A csalán (*Urtica dioica*) a csalánfélék családjába tartozó, az ország egész területén előforduló, kétlaki, évelő növény. A drogja (*Urticae folium*) glikozidákat, cseranyagot, egy gyantaszerű anyagot: csalánmérget, hangyasavat, ecetsavat, hisztamint, B- és C-vitamint, viaszt, cukrot, klorofillt (melyet ételszínezékeknek használnak-E140, és a gyógyszeriparban használnak) (22), szerves savakat, sárga színanyagot, glükokinint (mely a vércukrot csökkenti), agglutinint és ásványi sókat tartalmaz (151). A csalánt már a népi orvoslásban is használták, mint gyógynövény és fontos táplálék-kiegészítő bizonyos tünetek kezelésében. A fiatal leveleit megfőzve levesbe adagolva, vagy szárított leveleit teaként hasznosították. A csalán könnyen emészthető, gazdag ásványokban (legfőképp vasban), C-vitaminban és karotinokban, pro-A-vitaminban (6). Számos tanulmány kimutatta, hogy a csalán gazdag esszenciális aminosavakban (121), aszkorbinsavban (122), továbbá tartalmaz még fontos karbohidrátokat, esszenciális zsírsavakat, főként n-3 zsírsavakat, mint a-linolénsav (18:3n-3) és linolsavat (18:2n-6) (71).

A csalánnal foglalkozó kísérletekben kimutatták, hogy a csalán vizes oldata akutan és krónikusan adagolva is csökkenti a vérnyomást, vazorelaxáns hatással bír, fokozódik a nátrium, kálium ürítése, mely kardiovaszkuláris és vesefunkciós hatást bizonyít. (175, 176). A csalán fokozza az inzulintermelést, és tartósan csökkenti a cukorszintet, így a diabétesz kezelésében fontos szerepet játszhat (20, 58). Dendritikus sejteket vizsgálva megállapították, hogy csökkenti az elsődleges T- sejtés választ, így a reumatoid artritisz kezelésében is effektíven alkalmazható (24). A gyulladásos folyamatokat befolyásolva gátolja az Nukleáris faktor-kB (NF-kB) I κ B gátlófaktorának a disszociációját a komplexről, és krónikus adagolással mind, a TNF- α , mind az IL-1 β szintjét csökkentette humán kondrocitákban (155, 162). A csalán szerepet játszik az antioxidáns mechanizmusokban is, SOD és CAT aktivitását az elő gyomorban és a tüdőben is emeli (138). Az adagolásáról szóló adatok eltérőek, az extraktumtól kezdődően a természetes állapotú felhasználásán keresztül 4-100 mg/testsúly kg-ig alkalmazták.

Csalán szerepe a patológiás folyamatokban

A csalánt eddig öregedéssel kapcsolatban nem vizsgálták, de néhány patológiás folyamatban bebizonyították hatékonyságát.

CCL₄ által okozott máj fibrózisban és cirrózisban szignifikánsan csökkentette a cirrózisos terület nagyságát, effektív preventív beavatkozásnak bizonyult (178). A csalánt továbbá vizsgálták reumatoid arthritisz dendritikus sejtjeiben, melyek perifériás mononukleáris vérsejtek kultúrájából származtak. Itt a csalán csökkenteni tudta a gyulladáshoz vezető faktorok aktivitását, és megelőzte a dendritikus sejtek kifejlődését, csökkentette az elsődleges T-sejtes válaszok indukálását (24).

A csalánra az irodalomban olvasott pozitív, de főként jelentős gyulladáscsökkentő hatása miatt esett a választás, és egyéni érdeklődésem tárgya is volt. A léziós modell által bemutatott vizsgálatban, ahol a neurodegeneratív betegséget modellező lézió gyulladáshoz, antioxidáns következményeit vizsgáltuk, a csalán irodalomban bemutatott gyulladásgátló, antioxidáns hatásai miatt fontos befolyásoló beavatkozás, illetve preventív eszköz lehet vizsgálatunkban.

1.2. Szabadgyökök, oxidatív stressz, antioxidáns rendszerek

Szabadgyökök

A szabad gyökök olyan atomok vagy molekulák, melyek külső elektronhéján egy vagy több párosítatlan elektron található (122, 180). Ezek a gyökkel rendelkező molekulák, atomok igen reaktívak, ugyanis arra törekednek, hogy energetikailag stabilabb állapotba kerüljenek, úgy hogy párosítatlan elektronjaik ellenkező spinű párjaikat megtalálják (10). Ezért reakcióba lépnek a körülöttük levő molekulákkal, reakciós láncot indítanak el, amely során újabb és újabb gyökök keletkeznek. A folyamat akkor ér véget, ha a gyök egy másik gyökkel reagál, vagy egy folyamat eredményeként semlegesítésre kerül nem reaktív terméket eredményezve. A szabad gyökök számos biológiai folyamatban részt vesznek.

Szabadgyök termelő rendszerek

A szervezetben termelődő szabadgyökök mennyisége, és eliminálása jól szabályozott mechanizmusokon keresztül történik. A szabad gyökök teljes eliminálása szépszist okoz és halált, hisz a szabadgyökök fontos szerepet játszanak a szervezet baktériumok, vírusok elleni védekezésben is. Azonban a szabadgyök termelődés fokozódása különböző patológiás folyamatokat hoznak létre, ezért szükség van a gyöktermelő és elimináló folyamatok egyensúlyának megtartására.

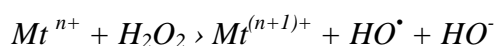
A szervezet oxidatív anyagcseréje magában foglalja a molekuláris oxigén redukcióját, ami a mitokondriumokban folyik. Ha az oxigén korlátlan mennyiségben áll rendelkezésre, ez a magasan szabályozott rendszer biztosítja a folyamatos ATP termelést, ami többek között az izmok kontrakciójához is nélkülözhetetlen. Az energiaszabályozás során az oxigén egy négy-elektronos redukción esik át. A folyamatot a citokróm oxidáz katalizálja. A teljes oxigén 2-4 %-a azonban egy-elektronos redukción esik át, szuperoxid gyököt hozva létre. További elektron leadással a szuperoxidból (O_2^{\bullet}) hidrogénperoxid (H_2O_2) keletkezik, amely „kiszökve” a redukciós láncból károsíthatja az egyes sejtalkotókat. Valószínűleg a koenzim-Q az a hely, ahol ezek a szabad gyökök kikerülnek a redukciós láncból (93, 101).

A beléggzéssel felvett oxigént a vér szállítja a megfelelő helyre, melynek során a vörösvértestekben lévő hemoglobin molekula hem részének vas (II) ionjához kötődik az oxigén. A komplexben a vas és az oxigén között az elektroneloszlás könnyen eltolódik az oxigén felé. Az elektroneloszlás megváltozásának eredményeként az oxigén egyik párosítatlan elektronja párt kap és szuperoxid gyökké alakul, míg a vas az elektron elvándorlása miatt vas (III) ion-formát ölt. Az elektron-eltolódás addig nem okoz gondot, amíg a komplex létezik. A szervezetben található oxigént szállító hemoglobin mennyiségnek mintegy 3%-a „ereszti el” a kialakult szuperoxid gyököt, amely a véráramba jut (180).

Szervezetünk jelentős mennyiségű átmeneti fémet használ fel a különböző enzimek által irányított, katalizált folyamataihoz. Az átmeneti fémek közös jellemzője, hogy legalább kétféle vegyértékű formában létezhetnek. Az alacsonyabb vegyértékforma könnyen

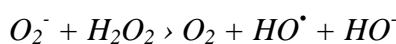
oxidálódik magasabb vegyértékűvé, melynek eredményeként elektron szabadul fel, amely be tud lépni a szabad gyökképző folyamatokba a megfelelő szállító rendszereken keresztül. A leggyakoribb két vegyértékváltó fém a vas és a réz. A vas könnyen alakul kettőből három, míg a réz egyből kettő vegyértékűvé. Ez a két fém a leggyakoribb katalizátora a szabad gyökképző folyamatoknak (180). A két legismertebb reakció a *Fenton-* és a *Haber-Weiss reakció*.

A legtöbb hidroxil gyök a szuperoxid gyök redukciója során jön létre redukált átmeneti fémekkel reagálva. A folyamatot *Fenton reakciónak* (59) hívjuk:

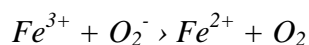


ahol Mt^{n+} és $Mt^{(n+1)+}$ jelöli a redukált vagy oxidált átmeneti fémiont. Feltételezik, hogy a hidroxil gyökök jelentős mennyisége az egyes sejtekben a Fenton-reakcióból származik, bár a folyamat igen lassú. Mivel mindkét szubsztrát – a vas ion és a hidrogénperoxid is – szükséges a reakció lezajlásához, ezért folyamatosan kell, hogy rendelkezésre álljon a hidroxil gyök képződéséhez. A vas ionok mennyisége limitálja a termelődő hidroxil gyökök mennyiségét, fokozva a szöveti sérülést és a sejtkárosodást. A vas ionok számos biológiai folyamatban részt vesznek, az egyes fehérjék nélkülözhetetlen részeként (hemoglobin, ferritin, citokrómok), de csak kis mennyiségben képezik aktív komplexek részét, amelyre jó példa a Fenton-reakció (92).

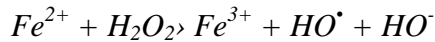
A *Haber-Weiss reakció* (73) során a szuperoxid gyök reagál hidrogénperoxiddal, miközben hidroxil gyök keletkezik.



A Haber-Weiss reakció ritkán fordul elő in vivo. A reakció az alábbi két reakció összegeként írható le. Mivel a szuperoxid gyökredukáló szerként hat, redukálja a vas ion oxidált formáját, amely ebben a formában a Fenton reakciót fokozza.



A redukált vas ion a hidrogénperoxiddal reagálva hidroxil gyököt képez.



E kettő reakció összesítése a Haber-Weiss reakció (180).

A belélegzett oxigén 10-15 %-át a különböző oxidáz enzimek használják fel a szervezet számára feleslegessé vált anyagok elbontása során. Egyes betegségeknél, ahol a szabadgyökök szabályozásában zavar keletkezik a szabadgyökök okozta sérülés mértéke nő. A zavar következménye, hogy a szervezetben a szükségesnél magasabb lesz a szabad gyökkoncentráció (180).

A purinvázis vegyületek (ATP, AMP) lebomlása során az utolsó lépésben xantinból húgysav képződik. Az isémiás folyamatok a xantin dehidrogenáz xantin oxidázzá alakulásához vezetnek (egy kalcium dependens proteáz által). A xantin oxidáz molekuláris oxigént használ fel elektron donorként a xantin előállításához, mely során szuperoxid gyök is keletkezik. A legtöbb emberi szövetben csak igen kis aktivitása van a xantin dehidrogenáznak és oxidáznak más fajokhoz viszonyítva. Ez az enzim az izmok ereinek epitéliumában található, amely egy potenciális szuperoxid gyökforrás az izom szomszédságában (92).

D-aminosav oxidáz

A szervezet számára használhatatlan D-aminosavakat bontja el (180).

NAD(P)H oxidáz

A neutrofilekben és számos egyéb sejtben fordulnak elő (92).

A prostaglandinok inger hatására számos sejtfeleségben, stresszhatásra a vázizmokban termelődnek. A prosztanoid bioszintézis során a prosztanoid metabolizmus köztes termékei közül számos szabadgyök, és aktív oxigén termékek keletkeznek (92).

A fehérvérsejtek az idegen betolakodók ellen fagocitózissal védekeznek. A folyamat során szabadgyököket termelnek, ami pl. a baktériumok sejtfalát károsítja, s ezáltal a baktériumot elpusztítja. De ugyanígy az elpusztult sejtek, ill. az egyes sejtalkotók „eltakarítása” is hasonló módon történik a gyulladásos folyamatokban (92).

Reaktív oxigén intermedierek (ROI), oxidatív stressz

A reaktív oxigén intermedierek az oxigénből származó olyan molekulák, melyek maguk is reaktívak, illetve könnyen alakulnak át reaktív anyagokká. Ezen anyagok jelenléte az élő rendszerekben teljesen természetes. A ROI kontrol nélküli termelődése in vivo oxidálja az olyan biomolekulákat, mint a nukleinsavak, fehérjék, zsírok, ami a genetikai információt megváltozásához, a fehérjéket denaturálásához, az enzimeket inaktiválódásához és a biológiai membránokat átrendeződéséhez vezethet (1. Táblázat). A ROI-k oxidatív stresszt okoznak, káros in vivo oxidatív folyamatot, amely az oxidáns-antioxidáns egyensúly megbomlásának eredménye. A ROI-k károsítják a szervezetet, szerepet játszanak számos degeneratív folyamatban, mint az öregedés, érlelmeszesedés, neuronális megbetegedések, gyulladások, bőrbetegségek stb. (123).

Oxidatív stressz akkor fordul elő, ha az oxidáns és antioxidáns rendszerek egyensúlya megbomlik, és a redox állapot az oxidáció irányába tolódik el. Ha az oxidáns kapacitás nagyobb az antioxidáns kapacitásnál a ROI egy része kiszabadul az antioxidáns rendszer hatása alól. Oxidatív stressz során az egyes szövetek és szervek biomolekulái károsodnak. Az oxidált termékek mennyisége jelzi az oxidációs és javító rendszerek között fennálló kapcsolatot (123).

Antioxidáns rendszerek

Az oxidatív stressz kivédése érdekében a szervezet saját, az evolúció során elsajátított, és külső antioxidáns rendszerével védekezik a károsodások ellen (2. Táblázat). Az antioxidáns védekező rendszer az antioxidáns enzimekből és a biológiai antioxidánsokból áll, melyet a szervezet képes előállítani, ezért külső forrásból szerzi meg. Vannak olyan antioxidánsok, melyek a szervezetben szintetizálódnak oxidatív stressz hatására. Az antioxidáns enzimek és a glutation (GSH) tartoznak ebbe a csoportba, de léteznek olyan antioxidánsok is pl. vitaminok, amelyek nem termelődnek a szervezetben, így nem is indukálhatók, a táplálékkal kell felvenni őket.

1. Táblázat: Reaktív oxigén intermedierek a biológiai rendszerekben (123)

ROI	Molekuláris forma	Képződés
Szabad gyökök		
Szuperoxid gyök	O_2^-	Az alapállapotú oxigén egy - elektronos redukciója.
Hidroperoxil gyök	HOO^\bullet	A szuperoxid gyök protonációja.
Hidroxil gyök	HO^\bullet	A hidrogénperoxid egy - elektronos redukciója és az alapállapotú oxigén három - elektronos redukciója.
Nitrogén monoxid	NO	A nitrit egy - elektronos redukciója.
Peroxil gyök	ROO^\bullet	A hidroperoxid egy - elektronos redukciója.
Nem gyök természetű molekulák		
Szinglet oxigén	$\Delta O_2, \Sigma O_2$	Az alapállapotú oxigén gerjesztése során jön létre
Hidrogénperoxid	H_2O_2	Az alapállapotú oxigén két – elektronos redukciója, amit a protonálódása követ; és a peroxid ion protonációja.
Peroxinitrit	$ONOO^-$	A nitrogén monoxid reakciója a szuperoxid gyökkel.
Hidroperoxid	ROOH	A szinglet oxigén oxigenálódása telítetlen összetevők által és autooxidáció.

A szabadgyök-felesleg kialakulása és/vagy a felesleg tartós felszaporodása ellen a védelmi rendszer a keletkezett gyököket hatástalanítja (szuperoxid anion és más kisebb reaktivitású gyököket), vagy gátolja a szabad gyökök képződését a kiindulási anyagok más úton történő elbontásával (nagy energiájú, rövid élettartamú gyökök ellen) mint primer védelmi vonal, vagy a gyökök okozta sérüléseket kijavítja (nagy reaktivitású gyökök esetében) a szekunder védekezési lánc tagjaként (180).

2. Táblázat: Biológiai védelem az oxidatív stresszel szemben (123)

Antioxidáns védelem	Előfordulás
Védekező antioxidáns enzimek	
Szuperoxid diszmutáz CuZn-SOD	citoszol
Ec-SOD	extracelluláris tér
Mn-SOD	mitokondrium
Fe-SOD	citoszol, növények
Kataláz (CAT)	peroxiszómák
Glutation peroxidáz (GPX)	citoszol, extracelluláris tér, biomembránok
Természetes Antioxidánsok	
E-vitamin	biomembránok, lipoproteinek
C-vitamin	citoszol, extracelluláris tér
Karotinoidok	biomembránok, lipoproteinek
Redukált glutation (GSH)	citoszol, extracelluláris tér

1.2.1. Az öregedéssel együtt járó oxidáns, antioxidáns rendszerek változásai

Az elmúlt évtizedekben rengeteg munka jelent meg az öregedés és a szabadgyökök kapcsolatáról. Számos vizsgálat mutatta ki az oxidatív stressz által keletkezett DNS, lipid és fehérjetermékek akkumulációját. Harman ezt az interakciót a következőképp fogalmazta meg: „Maga az öregedés folyamata lehetséges, hogy nem

más, mint egyszerűen az összeadódott, random szabadgyökök okozta sérülés eredménye.” (82).

Nem egy kutatómunka mutatott rá arra a feltételezésre, hogy az öregedéssel összefüggő betegségek, de maga az öregedés folyamata is genetikus instabilitásból, a sejtek megváltozott, nem megfelelő differenciálódásából adódik (41, 74). Más vélemények szerint ROI az elsődleges öregedést okozó faktor, mely az egyik leggyakrabban hivatkozott öregedés teóriára épül. Elsődlegesen a DNS sérülés fokozódik az öregedés folyamatában. Ez a sérült DNS olyan folyamatokat is elindíthat, amely a sejt proliferációban résztvevő gének átírását indukálhatja, vagy épp blokkolhatja azoknak a géneknek az expresszióját, melyek eredményeként a sejt-sérülés növekedni fog az öregedéssel. Ezek az oxidatív sérülések permanens sérülésekhez is vezethetnek, mely megváltoztatja a DNS szekvenciáját, vagy mutációt okoz. Ezek az akkumulálódó folyamatok aztán kialakíthatnak egy alacsonyabb anyagcserét, megváltoztathatják a kalória bevitelt, gyorsíthatják az öregedést és lerövidíthetik az élettartamot (167). Hansford (78) szerint az öregedés egy nem programozható, de elkerülhetetlen mellékhatása a ROI okozta membrán és végérvényesen differenciálódott sejtek mitokondrium genomjának. A mitokondriális DNS sérülése blokkolja a mitokondriális populáció felfrissítését, majd a bioenergia csökkenéséhez és sejtpusztuláshoz vezet.

Az izomfunkció csökkenése jól megfigyelt jelenség öregedés alatt. Számos posztmitotikus, mitokondriumban gazdag szövet, mint az agy, a szív és vázizom mutatják a legnagyobb ROI okozta oxidatív sérülést időskorban (182), és nem meglepően ezek a szövetek a fő célpontjai elsősorban az öregkori betegségeknek (15, 37). A csökkent motoros kapacitás időseknél komplex folyamat eredménye, hisz a motoros aktivitás a centrális és a perifériás vezérlés, a humorális faktorok és a magatartási minta eredményeként jönnek létre (108). A metabolikus és mitokondriális enzimek aktivitása csökken az öregedéssel, és a kontraktilis funkció elveszik, valószínűleg izomspecifikus módon (79). Az öregedéssel a szarkolemma és szakroplazmatikus retikulum összetett működése megváltozik, és a kalcium kibocsátás a depolarizáció alatt kevésbé hatásos, nem képes teljes izomkontrakciót létrehozni (127). Az izom maga is elszenved korrall járó oxidatív sérüléseket, amint a proteinek, a lipidek

és a DNS is (97). A mitokondrium citokróm c oxidáz kapacitása is csökken az izomsejtekben, melyet részben a DNS sérülés magyaráz (103). A komplex IV aktivitásának csökkenése, mely az egyik legfontosabb antioxidáns komplexnek is titulált egység a terminális oxidációban, csökkent kapacitása miatt nagyobb elektron kiszivárgásnak ad teret az elektrontranszport-láncban, ahol szuperoxid gyökök sokasága képes képződni a molekuláris oxigén jelenléte mellett. Így a mitokondrium membránlipidjei peroxidatív modifikáción esnek át (190), mely további ROI generációt hozhat létre különböző enzimikus folyamatokon keresztül beleértve a ciklooxygenázt, NADPH oxidázt és a xantin oxidázt is (160). Ezenkívül öregedő szervezetben magas malondialdehid (MDA) koncentrációt találtak a váz és szívizomban is, mely a lipidsérülés markere (98, 60)

Más kísérletek az antioxidáns rendszert vizsgálták, ahol pozitív korrelációt mutattak ki a szöveti antioxidáns rendszer aktivitása és az élettartam hossza között (19, 41). További kutatások szerint számos külső faktor, mely emelte a szabadgyök termelődés okozta oxidatív sérülést, csökkentette az élettartamot (148), míg azok a külső faktorok, amelyek csökkentett kalória és protein bevitelt produkáltak, növelték azt (189, 191).

Az oxidatív anyagok megtámadják a szervezet szöveteit, melynek védelmére az antioxidáns rendszer hivatott, bár számos esetben azt látjuk, hogy nem sikerül ezt a feladatot ellátniuk. Így a szabadgyökök ellepik a szövetet, és meggyorsítják az öregedés folyamatát. A megfelelő védekezés érdekében fontos mind a preventív eljárásokkal, mind a javító mechanizmusokat triggerelésével foglalkozni.

Az idős embereknek azok a kockázatok vannak kitéve, hogy az antioxidáns kapacitásuk csökken a kevesebb kalória bevitel, a nem megfelelő emésztés, a csökkent tároló és visszatartó kapacitás, és a megnövekedett elimináció miatt. Ezért ajánlott idős korban a minél nagyobb mennyiségű külső antioxidáns bevitel. Az antioxidáns enzimek aktivitása időseknél nem mindig változik, ezért az öregedést nem lehet egyértelműen az antioxidáns rendszer kapacitásának csökkenésével magyarázni (153), bár az idős sejtek könnyen sebezhetővé válnak az oxidatív molekulákkal szemben.

Publikációk szerint az aktív ROI felelős a megváltozott funkciójú proteinek keletkezéséért, és azoknak sejtekben való felszaporodásáért is idős patkányokban (70). Az irodalomban találunk példát arra is, hogy a proteinek idősödő szervezetben megváltoztatják szerkezetüket (167), azonban csak kevés tanulmány foglalkozott azzal a ténnyel, amire eddig még magyarázatot sem találtak, hogy a proteinek féléléte megnő az időseknel. Ennek fontos szerepe lehet a sejtek, szövetek molekuláinak életének meghosszabbításában. Fontos megemlíteni, hogy a megnövekedett protein élethossz mellett a nagyobb oxidatív sérülés, mely elérheti az adott sejt teljes proteintartalmának 30-50%-át is, akkumulálódott sérült proteineket, csökkent aktivitású enzimeket eredményez, melyhez hozzájárul a proteázok aktivitásának csökkenése is. Ez súlyos következményekkel jár az idős sejtekben (170).

Egyértelmű evidenciák léteznek a respiratorikus lánc funkció-csökkenésére is az öregedéssel kapcsolatban, mely számos szövetben, vagy kompartmentben kimutatható, mint pl. a Parkinson kórban a komplex 1-ben. Halliwell és Gutteridge (74) munkájában rámutatott arra is, hogy a központi idegrendszer is jelentős oxidatív stressznek van kitéve az idősödő agyban. A ROI fontos szerepet játszik számos neurodegeneratív betegség patológias folyamataiban, mint a Parkinson kórban (33), az Alzheimer kórban (56), vagy az amiotrophikus laterális szklerózisban (21). Fontos megemlíteni, hogy az apoptotikus folyamatok indukálása, mellyel a sejteket saját maguk elpusztítására törekednek, jelentős szerepet játszik az Alzheimer és Parkinson neurodegeneratív formákban is (33, 192).

1.2.2. Rendszeres fizikai aktivitás hatása az oxidatív stresszre és az antioxidáns védekezésre

Fizikai aktivitás és oxidatív folyamatok

A fizikai aktivitás hatására fokozott oxigénfogyasztás történik, fokozódik a szabadgyökök termelése, ami a fokozott oxigénfelvétel következménye. A mai napig számos kísérleti vizsgálat tárgya a különböző tevékenységformák szabadgyök termelő szerepe. Az egyes tevékenységformák eltérő szerepet játszanak a szabadgyök

termelődés folyamatában. A mozgás által kiváltott oxidatív stressz számos szövetben nyomon követhető. A legrészletesebben vizsgált szövetek közé tartozik a vázizom, a szív, a máj, de az agy kevésbé feltárt terület. A vázizomban számos úton keletkezhetnek szabadgyökök, melynek mennyisége függ az izom kontrakció módjától, intenzitásától és terjedelmétől. A mozgás energia szükséglete, az oxigén-fogyasztás, és a lágy szövetek mechanikai igénybevétele mind befolyásolják az egyes mozgásformák szabad gyöktermelésre kifejtett hatását. Az alkalmankénti, nagy megterhelést okozó, nagy izomcsoportokat igénybevevő terhelések nagyobb szöveti sérülést okoznak, mint a mindennapos terhelések (31, 92).

A szervezetben másodlagos szabadgyök-források is léteznek, melyek a szabadgyökök okozta, vagy más okból bekövetkező sérülést követően lehetnek fontosak. Ezek a gyökforrások a károsító folyamatok elindításában fontosak, vagy csupán a szervezet adaptációs válaszában részt képeznek, amely a károsodott szövet hatékony javítására irányul (92).

A gyulladásos folyamatokat a makrofágok és más fagocitáló sejteknek a vérből és a sejtek közötti térből történő inváziója jellemzi. Ezek az infiltráló sejtek nélkülözhetetlenek a szövet gyors, hatékony regenerációjához. A fagocitózis részeként nagy mennyiségű gyököt termelnek a nekrotikus területek növekedésének elkerülése miatt, bár ezzel egyben a környező szöveteket is károsíthatják. A szabad gyökképződésnek ez a módja nem specifikus, minden sérült szövetben előfordul függetlenül a mechanizmustól, amely a sérülést okozta (92).

A fehérjék oxidatív módosulásait általában a H_2O_2 gyök indítja el. A fehérjék számos módon oxidálódhatnak:

1. A fehérjék oxidálódása, ami a fehérjék fragmentációjához vezet.
2. Fehérje-fehérje keresztkötések kialakulása.
3. Az aminosav oldalláncok oxidációja.
4. Reaktív karbonil származékok (RCD) keletkezése.
5. Fehérjék elvesztik fizikai aktivitásukat.
6. A fehérjék hidrofóbitásuk megváltozik, majd proteaszóm lebontja őket.

A fehérjék minden aminosav maradéka ki van téve a szabadgyökök támadásának. A fehérjék oxidatív módosulása fémionok által katalizált folyamat. Az aminosavak közül az arginin, lizin, prolin, aszpartin és glutamin oxidatív módosulása eredményezi a RCD kialakulását, amit dihidrofenilhidrozonnal (DNPH) lehet kimutatni (132).

A lipidek oxidálódása során elsődlegesen a membránok károsodnak. A sejtmembránok olyan ultrastruktúrák, amelyek léte biztosítja a sejtek életfunkcióinak zavartalanságát. A sejtmembránok 6-10 nanométeres vastagságú kvázi-folyadékok. Az eukarióták óriásira nőtt sejtjeiben zajló életfolyamatok a belső membránstruktúrák kiterjedt felületét igénylik. Ezek biztosítják az anyagcsere-intermedierek térbeli elválasztását. A sejtmembránok külső és belső felszíne eltérő; a külső felszín lényegesen több funkciót lát el, mint a belső (17).

Rendszeres fizikai aktivitás

Jól ismert, hogy a rendszeres mozgás markánsan javítja az egészséget és az élet minőségét, azon paradox ellenére, hogy a mozgás növeli a szervezetben a termelődő szabadgyökök mennyiségét. A rendszeres fizikai terhelés a szervezetet a mozgás által kiváltott változásokhoz való alkalmazkodásra készíteti. Mindez hipertrófiát, jobb szívfunctiót, alacsonyabb nyugalmi pulzust, hatékonyabb glükózfelvételt, jobb ellenálló-képességet eredményez. A fizikai aktivitás során megnövekedett oxigénfelvétellel kapcsolatos fokozott szabadgyök termelés az adaptációs folyamat kulcseleme. Érdekes, hogy mind az aerob, mind az anaerob tevékenység növeli a szabadgyökök termelését, de a gyökök termelődési útjai eltérőek. Az antioxidáns enzimek aktivitása a szabad gyöktermelés arányától függ. Általában megállapítható, hogy a rendszeres mozgás növeli az antioxidáns enzimek aktivitását, továbbá hogy a mozgás indukálta szabad gyöktermelés, és ezzel kapcsolatban az egyes sejtalkotók (DNS, fehérjék, lipidek) oxidatív károsodása stimulálja a javító rendszert. Az oxidatív sérülésektől védő és a sérüléseket javító rendszerek nagyon plasztikusak és könnyen indukálhatóak. Wiese és munkatársai (185) leírták, hogy H_2O_2 hatására fokozódik a CAT és GPX transzkripciója.

A mozgás indukálta metabolikus kihívásra a szervezet egyik válasza a fehérjék szintézise, a másik a fehérjék lebontása. Úgy tűnik, hogy a rendszeres fizikai terhelés mindkettőt növelni tudja. Ji és munkatársai (95) kimerülésig tartó futószalagos futás után emelkedett proteolízisről számoltak be patkányok vázizmában. Radák és munkatársai (150) a proteoszóm komplexek aktivitásának növekedéséről számoltak be patkányok vázizmában 9 hétig tartó úszás hatására, bár az RCD értéke nem változott szignifikánsan. Hasonló eredményeket mutattak ki humán vizsgálatokban is (136, 157). A rendszeres mozgás növeli a fehérjék turnover-jét, ezáltal csökken a fehérjék féléletideje, ami egyfajta adaptív válasz a mozgás által kiváltott stresszre. A fokozott fehérje lebontás fokozhatja a sejtek antioxidáns védelmét (45). Rendszeres mozgás hatására a DNS javító enzimek hatékonysága is nő, csökkentve a DNS oxidatív módosulásait, illetve az ezekből adódó mutációk mértékét. Tehát az antioxidáns és javító rendszerek a rendszeres terhelés hatására megsemmisítik a mozgás hatására termelődött szabadgyököket, illetve ezek káros hatásait, valamint fokozottabb védelmet és jobb ellenállást biztosítanak az oxidatív stresszel szemben.

Meg kell említeni azonban, hogy az egyszeri és a rendszeres terhelés hatásai eltérőek. Az egyszeri terhelés során csak kis mértékű alkalmazkodás figyelhető meg az oxidatív károsodások miatt, ami gyakran az egyszeri (kimerülésig tartó) terhelések után csak rövid ideig jelenik meg. Másfelől a rendszeres fizikai terhelésnek számos kedvező hatása van, ami a szervezet alkalmazkodását eredményezi a további erősebb stresszekkel szemben is (149).

1.2.3. Mozgás hatása az öregedés okozta oxidatív stresszre, az antioxidáns védekezésre és a neurodegenerációra

A rendszeres mozgás eredményeként a kevésbé aktív idős emberekhez képest az élettartam akár átlagban 2 évvel is meghosszabbodhat (139, 159), továbbá azoknál, akik rendszeresen edzenek jóval később jelentkeznek a mozgáskorlátozottság, akár 15 évvel is eltolódhat a nem-aktív egyénekhez képest. Ezek az eredmények is bizonyítják, hogy a rendszeres fizikai aktivitás kitolja az öregedéssel összefüggő betegségek kezdetének

idejét, és csökkenti a betegségek megjelenése, és a halálozás közti eltelt évek hosszát is. Ez a lecsökkent betegeskedési időszak szignifikáns javulást mutat az életminőségben, és nagymértékben mérsékli az egészségügyi kiadásokat (63).

Mivel a mozgás növeli az anyagcserét, mely a nagyobb oxigénfelvétellel jellemzett, valószínű a ROI mennyisége is növekedni fog. Azonban az irodalom adatai szerint a rendszeres mozgás hatására adaptív mechanizmusok is beindulnak, és javítják az antioxidáns rendszer hatásosságát (96).

Habár az idős izom jelentős ROI növekedést mutatott akut terhelés alatt, amely eliminálódott rendszeres mozgás hatására. 8-10 hetes fizikai aktivitás csökkentette a lipidperoxidáció mértékét (109). Hasonló tréninghatás volt megfigyelhető az idősödő miokardiumban is (60). Idős állatokból izolált izom-mitokondrium jobb respiratorikus kontrollt mutatott nem-edzett társaikhoz képest külső oxidáns terhelés után (34). Ezek az eredmények is mutatják, hogy az idősödő szervezet izomműködése is képes adaptálódni a megváltozott körülményekhez. Igaz ugyan, hogy az idősödő szervezet izomzata jobban ki van téve az oxidatív stressznek, mégis van számos aspektus, ami igazolja, hogy érdemes az időseknek is részt venniük rendszeres sporttevékenységben.

Először is azért is, mert idősödő izomzat progresszív oxidatív enzim szint csökkenés, és energiatermelés figyelhető meg (78), de a kitartó tréning effektíven csökkenteni tudja az izom protein veszteségét, és a mitokondriális oxidatív kapacitás csökkenését is (61). A megnövekedett mitokondriális kapacitás az elektron transzport lánc (ETL) effektívebb működésén keresztül jobb oxidatív foszforilációt és kevesebb elektronszökést eredményez (44). Mozcás hatására a megnövekedett citokrómc oxidáz szint az ETL-ben csökkenti az oxigén szabadgyökké alakulásának lehetőségét (133).

Másodsor, a rendszeres mozgás emeli az antioxidáns rendszer kapacitását az idősödő izomzatban, bár az eredmények nincsenek teljesen összhangban. Egyes esetekben az izom GPX aktivitása nőtt idős izomban tréning hatására a mitokondriális enzimek aktivitásával együtt (99, 77), míg mások nem tudtak kimutatni jelentős változást sem az SOD, sem a GPX, sem a CAT adaptációjában (109, 114).

Harmadszor, a kimerülésig tartó rendszeres fizikai aktivitás csökkentette az izom GSH és E-vitamin szintjét, és csökkentette a mitokondriális respiratorikus funkciót a váz- és a szívizomban (109, 111, 5), valamint a lipidperoxidáció szintje is nőtt az izomban (171). Ez az eredmény is arra utal, hogy megerőltető mozgás csökkenti az izom antioxidáns kapacitását és a protektív hatását (69). Ezért megfelelő kontroll mellett kell végezni a fizikai aktivitást, hogy elérjük a kívánt pozitív hatást.

1.3. Gyulladásos transzkripciós faktorok

A szervezetben lejátszódó számos patológiás folyamat velejárója a gyulladás, amely több kísérő mechanizmust von maga után. Két prominens transzkripciós faktora a nukleáris faktor kappa B, **NF-kB** és az aktivátor protein 1, **AP-1**.

A gyulladásos folyamatokat sérülések, fertőzések okozhatják, mellyel a szervezet önmagát próbálja megvédeni a stresszhelyzetektől. Így a gyulladás normális körülmények között védekező mechanizmus, azonban az elhúzódó, vagy nem megfelelő mechanizmusú folyamatok a szövetekben sérülést okozhatnak, melyet fájdalom kísér. Hasonló folyamatok zajlanak le a reumatoid artritisznél is. Az NF-kB normális sejtműködés mellett sejtjezőként is működik, bár ennek okait még kevésbé ismerik. Elsődleges aktivátorai a citokinek, de másodlagos aktivátorként szerepel pl. a ROI okozta oxidatív stressz is (177, 152, 48). Két fő citokin is fontos szerepet játszik az NF-kB aktiválásában számos más faktorok mellett, a tumor nekrozis faktor TNF- α valamint az interleukin1 IL-1. Mindkettőt immunsejtek termelik, melyek a makrofág folyamatok részeként aktiválódnak fertőzés vagy szöveti sérülés eredményeként. Ezek a pro-inflammációs citokinek hozzákapcsolódva az NF-kB felületén levő receptorhoz, aktiválják a komplexet. Az NF-kB normál esetben inaktív állapotban a sejt plazmában található meg, majd aktiválva a sejt magba jut. Az aktiválás eredményeként majdnem 60 féle gén átírása történik meg, melyek részt (68) vesznek a gyulladás kialakításában és terjedésében is.

Öt féle NF- κ B protein létezik emlősökben (RelA, RelB, c-Rel, NF- κ B1, NF- κ B2) és számos homo és –heterodimert (p60, p65 fehérjék) alkotnak, melyekből mindegyik egy speciális géncsoportot aktivál. A dimerekhez kötődik az inhibitor protein B, I κ B, és inaktivált állapotban tartja a fehérje komplexet a citoplazmában. Az aktiváció egy jelátviteli rendszeren keresztül foszforizálja a dimert, és az I κ B leválik a komplexről az I κ B kináz segítségével, mely specifikus szerin/treonin kináz. Így az NF- κ B a nukleuszba kerül koaktivátor proteinek segítségével, és stimulálja a célgének átírását, köztük az I κ B gént is, mely negatív visszacsatolást eredményez magán az NF- κ B-n.

Az AP-1 transzkripció faktor Jun, Fos és Fra proto-onkogéncsalád tagjaiból felépülő heterodimer. Az AP-1 különböző sejtes és promotáló mechanizmusokban a génextpressziót változtatja meg egyes citokinek, növekedési faktorok, oxidatív stressz hatására (1, 102). Az AP-1 fontos szerepet játszik a sejtek differenciálódásában, transzformációjában, sejtproliferációjában, sejtpusztulásban és immunrendszer aktiválásában is (102).

Az AP-1 egyik legfontosabb, és a legjobban tanulmányozott összetevője a c-Jun. A c-Jun fontos szerepet játszik a sejtek fejlődésében és a proliferációjában (162, 163, 128), aktiválása számos marker segítségével végbemehet. A c-Jun által aktivált gének átírása hatással van aktiválására, mRNS-ének termelésére és a proteinjének stabilitására. Az NH₂ végű transzaktiválású doménjének foszforizálása a JNK (c-Jun NH₂ terminális protein kináz) (129, 72) segítségével (163, 164, 129, 54, 131, 85) számos növekedési faktor, stressz és gyulladáscitokinek gén regulációs hatását befolyásolhatja a c-Jun-on keresztül (46, 35, 184).

1.3.1. Mozgás szerepe a gyulladáscitokinek transzkripció faktorok regulációjában

A mozgás szelektív változásokat okoz az izomban a gének expressziójában, mely különböző funkció és strukturális változásokat hoz létre a vázizomzatban. A mozgás szerepe a gyulladáscitokinek mechanizmusokban még nem teljesen tisztázott, ezen a területen csak kevés számban jelentek meg publikációk. Legjobban az akut terhelésekhez köthető

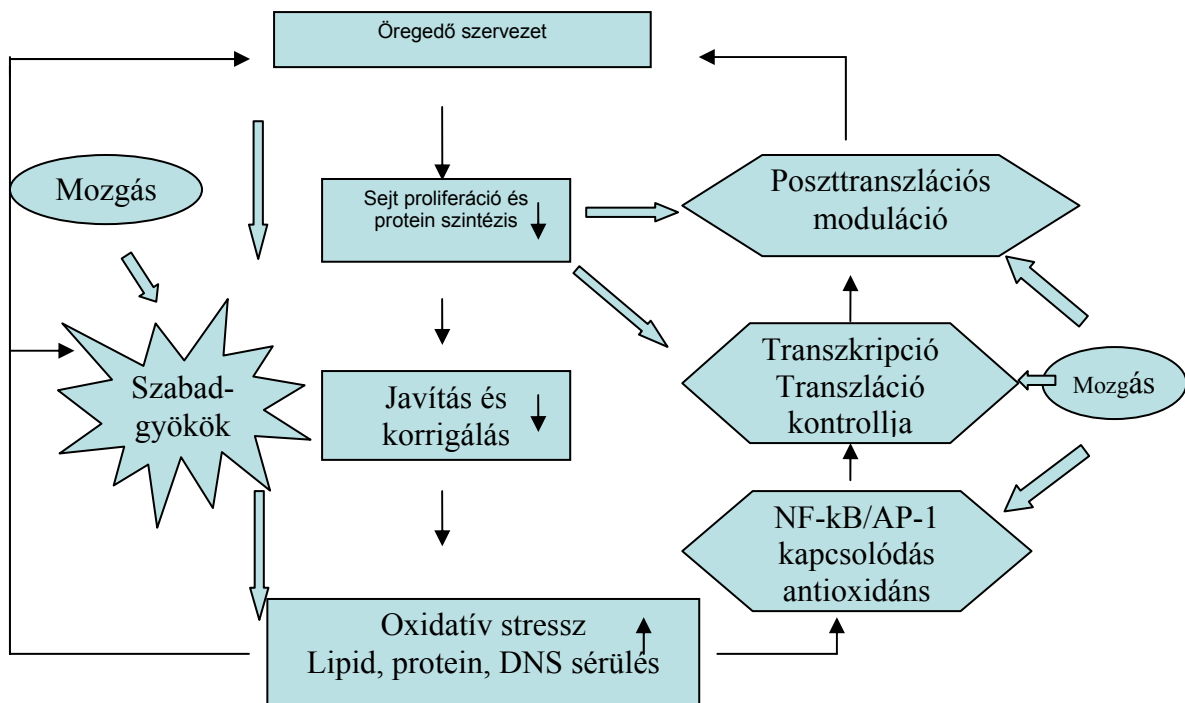
transzkripciós faktorok jelátvitelének részleteit tanulmányozták. Az akut terhelés (futás) állatkísérletekben redox szenzitív módon változtatta az NF-kB aktivitását. Akut terhelés alatt nő az izomban a ROI mennyisége, amelynek hatására az NF-kB aktivitása is emelkedik (100). Az akut terhelés alatti ROI termelődés fagocita infiltrációt okoz a sejtekbe, amely az NF-kB p65-ös elemének aktiválódását hozza, továbbá a jelátviteli rendszert aktiválva a génátíráson keresztül indukálja a gyulladással kapcsolatos citokinek termelődését (8). Az NF-kB aktivitásában gyors válaszreakció történik. Akut terhelés után mérve 1-3 órán keresztül 50%-os emelkedés figyelhető meg, amely majd 5 óra múlva visszatér a nyugalmi szintre (86). Hasonló módon akut mozgás növeli a JNK aktivitását, mely indukálja a c-Jun protein aktivitását, és transzkripciós folyamatokat indít el. Ezek a válaszok lokálisan értendők, valószínűleg a kontraktilis vázizom saját belső válaszai a fizikai aktivitásra, mely a kontraktilis struktúra transzkripciós változásokat okozó kapcsolatát mutatja (9). A rendszeres mozgás transzkripciós faktorokra kifejtett hatásában irodalmi adatok nem jelentek meg, de Radák és munkatársai munkájából valószínűsíthető, hogy a ROI csökkenése a redox-szenzitív kapcsolat végett az NF-kB aktivitását is csökkenti.

1.3.2. Gyulladásos transzkripciós faktorok szerepe az öregedésben, léziós modellek

Másodlagos sérülés az agyban isémia hatására leukocita infiltrációt okoz agyi parenchimában, mely folyamat a proteozom degradáción keresztül az NF-kB hatására indul el (186). Az NF-kB fontos szereppel bírhat a normál öregedő szövetekben, és a neurodegeneratív betegségek, köztük az Alzheimer kór gyulladásos folyamataiban is, hisz aktiválása számos olyan gyulladásban résztvevő gén átírását indukálja, mint a COX₂, mely a legfontosabb szereplője a gyulladásoknak. Az AP-1 aktivitása nem mutatott kapcsolatot a COX₂ átírásával (116). Az állatkísérletekben leírt példák szerint, ahogy az állatok öregednek állandó izomméret, izomtömeg és izomerő csökkenés, azaz szarkopénia folyamata jelentkezik (157). Ennek következményeként csökken a teljesítmény, és nagyobb eséllyel alakul ki izomsérülés is (139). Jól ismert tény, hogy az izomsérülés területén gyulladásos folyamatok ROI-t, vagy reaktív nitrogén intermediereket (RNI) termelnek (28, 142). Intenzív fizikai aktivitás növeli a TNF- α , IL-1 és IL6 termelődését immunsejtekben és/vagy a sérült szövetekben (29). Az

izomsérülés korai fázisában ezek a citokinek fontos szerepet játszanak a gyulladásos folyamatokban az adhéziós molekulák expressziójának és a nitrit oxid (NO) szintáz endothélis sejtekben való indukálásban (67). A következményként kialakult vazodiláció facilitálja a citokinek sérült területre való infiltrációját. Számos citokin képes ROI-t generáló enzimekhez kapcsolódni, mint a lipooxygenáz, NADPH oxigenáz és xantin oxidázhoz (62). A kontrakció indukálta izomsérülés folyamata komplex a benne szereplő gyulladásos, ROI termelő rendszerek interakciója miatt (3. Táblázat).

3. Táblázat: Az öregedéssel együttjáró oxidatív változások izomban (97)



A gyulladásos faktorok szoros összefüggésben vannak az antioxidáns rendszerekkel is, mint az MnSOD-dal, melynek aktivitása öregedéssel csökken. Így úgy tűnik, a szövetek jobban ki vannak téve az oxidatív stressznek, és a gyulladásos folyamatoknak is. Öregedéssel az NF-kB és az AP-1 mRNS expressziója is csökken, tovább fokozva a kockázatot. Az NF-kB és AP-1 is fontos szerepet játszik az MnSOD gén expressziójában is, amit valószínűleg a gyulladásos folyamat oxidatív stressz megnövekedése miatt aktivál (130, 161). Egy megjelent közlemény szerint azonban a

rendszeres fizikai aktivitás növelve az NF-kB és AP-1 aktivitását, fokozta az MnSOD génexpresszióját az idősödő szervezetben is (88). Természetesen az agy is próbál védekezni saját védelmi vonalával az őt ért neurodegeneratív sérüléssel szemben, ezért gyorsan aktiválja a gliasejteket, és bizonyos feltételek mellett granulocitákat, T-sejteket, monocitákat és makrofágokat hív segítségül a sérült területhez a véráramból, melyeket az adhéziós molekulák és citokinek triggerelnek (172). Mégis főként az idősödő agyban ezek a folyamatok nem tudják gyorsan helyrehozni a sérülést és a gyulladást, ami további neuronok sérüléséhez vezet.

Neurodegeneratív lézió az előagyban

Számos folyamatot tanulmányoztak, melyek sejtpusztulást okoznak az agyban, melyhez tartozik a hipoxia, isémia, krónikus neurodegeneratív betegségek, excitotoxikus neurostimuláció, oxidatív stressz (26, 38, 123). Az agyi isémia excitotoxikus léziója jól áttanulmányozott terület, ahol a neurális sérülés összefüggést mutat az excitatorikus aminosavak neurotranszmitter mechanizmusával, továbbá a nekrosis utáni állapotban nagy mennyiségű glutamát szabadul fel, amely kontrollálhatatlan pre- és poszt-szinaptikus kalcium felszabaduláshoz vezet (16). A kalcium létfontosságú a sejtek közti kommunikációban, és fontos modulátora a sejtes metabolikus folyamatoknak. Így a patológiás kalcium diszreguláció a lipázok, proteázok és endonukleázok túlzott stimulációját okozza (56, 65). A masszív kalcium beáramlás a sejtbe az N-metil-D-aszpartát (NMDA) receptor ioncsatornákon és a kalcium csatornákon keresztül történik, mely visszafordíthatatlan neurális sérülést okoz (2, 56). A nucleus basalis magnocellularis (NBM) az előagy része, melynek kaudális végében levő nucleus basalis Meynert rész kolinerg rostokat tartalmaz. Ezek a kolinerg rostok a neokortexbe futnak, köztük a mozgásban is fontos szerepet játszó prefrontális kéregbe, valamint a hipokampuszba, mely vissz szabályozza az NBM magot (187, 109). Az NBM kolinerg léziója részletesen tanulmányozott folyamat, mely kolinerg rost veszteséget eredményez a cortex területén (114, 54).

1.4. Neurotrofinok

A neurotrofinok növekedési faktorok. Tagjai:
nerve growth faktor, **NGF**;
brain derived growth faktor, **BDNF**;
neurotrofin 3, NT-3;
neurotrofin 4/5, NT-4/5.

A neurotrofinok oldható növekedési faktorok, melyek 120 aminosavból álló homodimerből állnak (128). 2 transzmembrán receptorhoz, a tropomiozin receptor kináz, Trk és a p75 neurotrofin receptorhoz kötődnek (TNF receptor). A Trk receptorokból 3 féle ismert eddig. A TrkA NGF-re, a TrkB BDNF-re, míg a TrkC NT3-ra specifikus. Szintézisük és szekréciójuk idegi aktivitásfüggő. Receptor működésük nem teljesen feltárt, és rendkívül bonyolult folyamat. Hatásukat elsősorban az újonnan képződött idegsejtekre fejtik ki. Nagyon leegyszerűsítve a Trk receptoron átmenő jelrendszer a neuronok túlélését, a p75 pedig a sejtpusztulást promotálja (47). A neurotrofinok hatása helytől, ingerülettől függően nagyon különböző lehet. Pl. az NGF egyes sejtcsoportokon a túlélést, más területen pedig a sejthalálózást facilitálhatja. Az NGF főként az előagy kolinerg pályáin fejt ki hatását, míg a BDNF a gerincvelő motoneuronjain hatásos. Az érző neuronpályákon főként TrkB receptorok expressziója kifejezett, míg a nagy proprioceptív pályákon TrkC expresszió és NT3 aktivitás, kis nociceptív neuronokon TrkA expresszió NGF függő válaszoktól befolyásolt (43).

A neurotrofinok hatása dózisfüggő. Kis dózisban hatás specifikusak, túlzott termelődésük csak általános hatások kifejtésére teszi őket lehetővé, és BDNF-re a receptorok deszenzitiválódnak. A TrkA foszforizálódása NGF hatására időben tovább tarthat. A neurotrofin receptorok és faktorok egymással szoros kapcsolatban vannak, egymás aktivitását befolyásolhatják (89, 105, 14).

Jelátviteli rendszerük nem teljesen tisztázott. A legtöbb tanulmány a TrkA-ra készült. A TrkA ERK-MAP kináz rendszeren keresztül a sejtek differenciálódását, neuritogenezist és a neuronok túlélését promotálja (40).

A protein kináz B PBK/AKT rendszeren majd a proapoptózis protein Bad aktiválásán keresztül a sejtek túlélését stimulálja (42), valamint PLC γ aktiválásán keresztül a neuronok plaszticitását (30).

A neurotrofinok csökkentik a strukturális és élettani változásokat az idegsejteken, és saját génexpressziójukat is regulálják. Segítik az újonnan képződött sejtek túlélését, részt vesznek a szinaptikus plaszticitásban, a tanulást és a memóriát serkentik. Csökkentik az oxidatív stresszt, és védekeznek a neuronokat ért neurotoxikus, metabolikus és apoptotikus hatások ellen (26, 119, 52).

1.4.1. Mozgás és az agyi javító mechanizmusok

A neurotrofinok mennyiségét és aktiválását a mozgás, az inger gazdag környezet, a kalória visszafogás és az intellektuális aktivitás is növeli (125). Mivel a mozgás kapcsolatban áll az oxidatív folyamatok és a gyulladásos transzkripciós faktorok befolyásolásával is, ezért a neurotrofinok aktivitása fontos lehet ezen folyamatok vizsgálatában. Az irodalom csak néhány példát hoz fel a mozgás neurotrofinokra kifejtett hatására. Elsősorban az mRNS és receptorok transzkripciójának mértékében találtak változást BDNF-nél, míg az NGF-nél nem sikerült kimutatni jelentősnek mondható változásokat.

A futás emeli a BDNF mRNS és TrkB receptor expresszióját a hipokampuszban a mozgás időtartamával egyenes arányban. A rendszeres mozgás hirtelen befejezése azonban gyors BDNF csökkenést okoz, amely a kiindulási szint alá is eshet. Ez a csökkenés több napig is fennállhat, és ezen időszak alatt esendővé teheti a sejteket sérülésekkel, degenerációkkal szemben (183). Az agy számos, főként a legplasztikusabb területein, mint pl. a kortexben, a kisagyban, a lumbáris gerincvelői szakaszban a futás hatására emelkedést találtak a BDNF mRNS transzkripció mértékében, mely bizonyítja a mozgás fontosságát a neurotrofinok aktivitásában (135).

1.4.2. Neurotrophinok és az öregedés

A neurotrophinok funkciójából adódóan elvárható lenne, hogy eredményesen lépjenek fel a neurodegeneratív betegségekkel szemben. Ezek a növekedési faktorok segítik a sérült proteinek túlélését, és meghosszabbítják életüket, úgy hogy valószínű reindukálják a neuronok funkcionális működését. A neurodegeneratív betegségeknek problematikus része, hogy nem teljesen tisztázott a mögöttük rejlő patofiziológiai folyamat. Bizonyított, hogy a nekrotikus és apoptotikus mechanizmusok által a neuronok elpusztulnak (52). Érdekes, hogy ugyanaz a neurotrophikus extracelluláris stimulus, mely irányítja az ontogenetikus sejtpusztulást és túlélést, reaktivizálódni látszik a patofiziológias folyamatok során a kifejlett idegrendszerben, ezért is érdemes vizsgálni a neurotrophinok neuroprotektív hatását. A neurotrophinok nem csak kiterjesztik aktivitásukat a specifikus neuron-populációkra, de aktiválva más jelátvivő rendszereket megelőzik az apoptotikus vagy excitotoxikus neuronális sejtpusztulást. Azonban számos kísérletben azt figyelték meg, hogy a neurotrophinokkal való kezelés nem ad biztos választ arra, hogy vajon megakadályozzák-e az apoptózist, nekrozist, a ROI okozta sérülést vagy az excitatórikus sejthalálózást (50, 53).

Öregedéssel a neurotrophinok aktivitása csökken, ami elsősorban a neurotrophin génexpresszió csökkenésének köszönhető. A kevés megjelent publikáció ellenére is úgy tűnik, hogy a neuronokat védelmező rendszer aktivitásának csökkenése esendővé teszi a neuronokat a neurodegenerációra (84). Elsősorban a BDNF csökkenését figyelték meg, az NGF szintje nem változott az öregedéssel összefüggésben (165). Öreg hipokampusz és hipotalamusz szövetekben, melyek jelentős plaszticitással bíró területek, szintén hasonló módon csökkenést találtak a BDNF és TrkB receptorának expressziójában, amely változás összefügghet az öregedéssel járó kognitív és endokrin funkciók romlásával (166). Az öregedés okozta BDNF csökkenést azonban ki lehetett védeni rendszeres fizikai aktivitással az öregebb szervezetben is, mint ahogy azt látjuk Adlard (4) munkájából is. A léziós neurodegeneratív modellekben ennél diverzebb képet kapunk. Brechtold (23) a szepto-hipokampális terület kolinerg, afferens rostok léziójánál a kiindulási BDNF szinthez képest csökkenést találtak a génexpresszióban, míg a mediális szeptum kolinerg rostjainak sérülése nem okozott változást. Gabaerg

mediális szeptum lézióval együtt pedig a BDNF génexpressziójának teljes regulációs felborulását figyelték meg. A lokomotoros aktivitás vizsgálatánál csökkent az agyi sérüléseknek mértéke és a halálozás gerbil előagy isémiás modellénél. A csökkenést az NGF neuroprotektív hatásának tulajdonították (173). NGF befecskendezése majmok agyába csökkentette a kolinerg területek léziós kiterjedését (179) és javította a kognitív funkciókat (168). Így, összefoglalva elmondhatjuk, hogy minden olyan terápiás vagy természetes beavatkozás hasznos lehet a neurodegeneráció megelőzésében, ami emeli a neurotrophinok szintjét az adott szövetben, vagy önmaguk és/vagy receptoruk génexpresszióját.

2. HIPOTÉZISEK

Kísérleti célul tűztük ki a csalán, az úszás valamint a két tényező együttes hatásának meghatározását az agyi oxidatív folyamatok, gyulladós transzkripciós és neurotrophikus faktorok befolyásolásában természetes körülmények között.

Feltételeztük, hogy:

a, a csalán antioxidáns hatással bír, míg az úszás csökkentheti a ROI mennyiségét.

b, az úszás képes triggerelni az agyi neurotrophikus faktorok működését.

c, csökkenti a gyulladós transzkripciós faktorok átírásának aktivitását, gyulladásgátló hatással bír.

d, a két beavatkozás képes egymás hatását erősítve pozitív irányba befolyásolni a feltételezett változásokat.

Ezen kívül célul tűztük ki a csalán, az úszás, valamint a két változó együttes preventív hatásának bemutatását az excitotoxikus, NMDA lézió okozta progresszív elváltozások oxidatív, gyulladós és apoptotikus folyamataiban.

Feltételeztük, hogy:

e, a rendszeres edzés hatására a kísérleti állatok jobb eredményt érnek el az agyi funkciókat mérő tesztekben, mint a kontroll állatok.

f, a csalánnal kiegészített diéta antioxidáns hatása miatt kedvező irányba változnak az agyi funkciók.

g, mivel az NF-kB serkenti számos pro-inflammációs citokin és egyéb fehérje szintézisét, azt feltételeztük, hogy az NMDA-lézió növeli az NF-kB DNS-hez való kötődését, s erre a csalán valamint az edzés is szupresszáló hatással lesz.

h, az NMDA-lézió rontja az agyi funkciókat, s kedvező hatást vártunk a csalánnal kiegészített diétától és a testedzéstől is.

3. MÓDSZEREK

3.1. Természetes körülmények között végzett kísérleti módszerek

3.1.1. Kísérleti állatok, csalán táp, úszás protokoll

A kísérletben 28 hím Wistar patkány vett részt, melyek a kísérlet megkezdése előtt 4 hónaposak voltak. Az állatok egészségesen, minden előzetes beavatkozás nélkül kezdték meg a kísérleteket. Minden csoportban 7 állat eredményét vizsgáltuk. A kísérleti állatok 4 csoportra lettek felosztva, melyek a következők:

- **kontroll (C)** csoport beavatkozás nélkül vett részt a kísérletben
- **csalán táppal** etetett állatok (**N**) a kísérlet megkezdése előtt 2 hetes előtétetésben vettek részt, és 6 hétig csalánnal kiegészített tápon éltek
- edzett, **úszott** csoport (**SW**) 6 hetes úszásban vett részt.

- két beavatkozás együttes hatását a **kombinált, úszott és csalán táppal** etetett csoportnál (**CBD**) vizsgáltuk.

Az úszás 6 hétig tartott. Az állatok súlyának és vízfogyasztásának monitorozása a kísérlet teljes szakasza alatt folyt. Minden csoport állatai a dekapitálás után feldolgozásra kerültek. Szerveiket (máj, diafragma, szív, izom, agy) folyékony nitrogénben lefagyasztottuk, és feldolgozásig -70 °C-on tároltuk. Az állatok lép, mellékvese, herék, ondóhólyagok, csecsemőmirigy, retriperitoneális és epididimális zsírdépők mérése a feldolgozás után azonnal megtörtént.

Csalán táp

A standard állattáp (Bioplan Kft, Budapest) 1 testtömeg %-ban (30mg/testtömeg kg) tartalmazott szárított csalánt, melyet a Herbária Kft-től vásároltunk, a Herbária csalánteája is ezt a szárított csalánlevelet (*Urtica dioica* L.) tartalmazza. Ez a megállapított mennyiség 75 kg-os emberre vonatkoztatva 5g szárított csalánlevelet jelent. A gyógynövényt apró, porszerű állagúra zúztuk, hogy a tápban homogén eloszlását biztosítsuk. A táplálékhoz való hozzájutás nem volt limitálva.

Úszás protokoll

Az állatokat az úszáshoz, és a víz közegéhez pár napig szoktattuk, majd hetente emeltük a vízben eltöltött időtartamot, mely az 5. hétre elérte a 1,5 órát. Az 1,5 óra is elegendőnek bizonyult, szemmel láthatólag az állatok fáradásig úsztak. Az úszott csoportok az aktív fázisukban heti 5-ször úsztak. A víz hőmérsékletét 21 °C-ra állítottuk be.

3.1.2. Biokémiai mérések

NF-kB, AP-1, c-jun, foszforizált c-jun

Az NF-kB és az AP-1 transzkriptor faktorok DNS-hez való kötődésének aktivitása Electrophoretic Mobility Shift Assay-el (EMSA) történt Kim és munkatársai (104) munkája alapján csoportonként összevont kisagyi mintákból. A nukleáris

extraktum elkészítése Hattori és munkatársai (83) ajánlása szerint történt. A felhasznált oligonukleotid NF-kB-re 5'-GAGAGGCAAGGGATTCCCTTAGTTAGGA-3', NGF-re 3'-ACTCCCGGAAGGGAATCAATC-5' volt, melyet végeinél ^{32}P -vel jelöltünk [γ ^{32}P]-ATP felhasználva, valamint T4 polinukleotid kinázt. A kötődési assayhez 10 μg nukleáris proteint összekevertünk a megjelölt próbával 1%-os Nonidet P40-et tartalmazó pufferben. Az inkubálás 20 percig tartott, és a [γ ^{32}P] megjelölt oligonukleotid-protein komplexet elválasztottuk a szabad oligonukleotidoktól elektroforézissel 5%-os natív gélen keresztül 50 mM Tris-HCl (pH 8.0), 45 mM Sodium borát, és 0.5 mM EDTA-t tartalmazó futtató pufferben. A szeparáció, és a gél vákumszárítása után autoradiográfián keresztül Fuji X-ray filmre $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on 1 napon keresztül lett exponálva. A c-Jun és foszforizált c-Jun (Santa Cruz, CA, USA) aktivitását Western Blot technikával mértük.

BDNF, NGF

A BDNF és NGF protein koncentráció E-Max Immunoassay (Promega, Madison, WI) méréssel történt. Standard, 96 lyukú, lapos aljú ELISA plate-eket karbonát coating pufferben inkubáltuk egy éjszakán keresztül $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on, mely tartalmazott a méréseknek megfelelően vagy több kötődési fejjel anti-NGF, vagy egy kötődési fejjel rendelkező anti-BDNF-et. Másnap a plate-eket 1xB&S pufferrel blokkoltuk 1 órán keresztül szobahőmérsékleten. 0-500 pg koncentrációban készítettünk dupla standard mintasort, melyhez a mintáink koncentrációját viszonyítottuk. Minden mintához ezután 100 Al-t adtunk és NGF-nél 6 órán át, BDNF-nél 2 órán át inkubáltuk szobahőmérsékleten. A mintákat majd egy másodlagos egy kötődési fejjel anti-NGF (éjszakán keresztül 4°C -on) vagy több kötődési fejjel rendelkező BDNF antitesttel (1 órán keresztül szobahőmérsékleten) inkubáltunk. Ezután a lyukakban levő mintákat antipatkány IgG (NGF) vagy anti-IgY (BDNF)-vel inkubáltattuk, majd HRP-hez konjugáltuk 2.5 órán át (NGF) és 1 órára (BDNF) szobahőmérsékleten. TMB oldatot adtunk a mintákhoz, hogy a minták megszíneződjenek 10 perc alatt szobahőmérsékleten, majd a reakciót 1 N HCL hozzáadásával állítottuk meg. Az abszorbanciát A45 (Molecular Devices ThermoMax microplate reader, SOFT max PRO v3.1 szoftverrel, Sunyvale, CA) mértük le.

RCD (Reaktív karbonil derivatív)

Az RCD pontos meghatározása spektrofotometriás módszerrel történt. 300-400 µg jobb agyfélteke szövetből mértük. A mintákat 1:4 arányban hígítottuk lízis pufferrel. A mintákat 20%-os triklórecetsavval kezeltük, majd 11000 G-n 10 percig centrifugáltuk. A fehérjét 10mM 2,4-dinitrophenilhidrazonnal (DNPH), illetve a vakmintákat 2 N HCl oldattal inkubáltuk 15 °C-on egy órán keresztül. Az újabb centrifugálás után a mintákat etanol-etil (1:1) oldatban mostuk ki háromszor, és minden mosás után centrifugáltuk. a folyamat végén 8 M ureában oldottuk fel a proteint, fél órással 28 °C-os inkubálás után, majd a minták abszorbanciáját fotométerrel olvastuk le 370nm-en. Az eredmények értékelése, fehérjemérés Levine és munkatársai, és Radák és munkatársai (112, 146) szerint történt.

EPR

Az EPR, elektron spin rezonancia vizsgálata Stadler és munkatársai (169) mérései alapján történt. A mérések X-band kompjúter vezérelt spektrométerrel történtek (Magnettech GmbH, Belin, Németország). A meghatározás körülbelül 100mg kisagyi és frontális kérgi szövetből történt, melyet a szeparálás után azonnal, rúd-alakban folyékony nitrogénben fagyasztottunk le. A minták spektruma 77K-n lett meghatározva. Szerkezeti beállítások: 100kHz modulációs frekvencia, 0.7050 mT modulációs amplitúdó, 18 mW mikrohullám teljesítmény, 1 perces szkennelési idő és 20.63 mT területi törlés. A kiértékelés Rockenbauer féle (156) modell szerint történt. Sudan Red Oil Red O festés és neurofibrillált impregnáció volt még emellett alkalmazva.

3.2. Léziós modell módszerei

3.2.1. Kísérleti állatok, csalán táp, úszás, műtéti protokoll

A kísérletben 64 hím Wistar patkány vett részt, melyek a kísérlet megkezdése előtt 4 hónaposak voltak. Az állatok egészségesen, minden előzetes beavatkozás nélkül kezdték meg a kísérleteket. A kísérleti állatok 4 csoportra lettek felosztva. Minden csoportban így 12 állat szerepelt. A kontroll (C) csoport beavatkozás nélkül vett részt a kísérletben, a csalán táppal etetett állatok (N) a kísérlet megkezdése előtt 2 hetes

előzetésben vettek részt, az edzett csoport (SW) úszásának megkezdése előtt, valamint a két beavatkozás együttes hatását a kombinált, úszott és csalán táppal etetett csoportnál (CBD) vizsgáltuk. Majd minden csoportot további két csoportra osztottunk fel annak megfelelően, hogy álműtétet (SH) vagy NMDA léziót eredményező műtétet (OP) végeztünk el rajtuk (mely a *Műtét, NMDA lézió* alponban részletesen is kifejtésre kerül). Így végül minden csoportban 6-6 állat maradt.

Kontroll (C)

-álműtött (SH)

-NMDA műtött (OP)

-úszott, álműtött (SWSH)

-úszott, NMDA műtött (SWOP)

Csalán (N)

-álműtött (SH/NSH)

-NMDA műtött (OP/NOP)

-úszott, álműtött (SWSH/CBDSH)

-úszott, NMDA műtött (SWOP/CBDOP)

Tehát összesen 8 csoport különbségét vizsgáltuk a jelen kísérletben. Az úszás 8-9 hétig tartott. Az állatokon két csoportba osztva végeztük el a megfelelő műtéti beavatkozásokat, majd ezt követően tanulós és magatartásos tesztek próbáltunk ki a kísérleti alanyokon. Az állatok súlyának és vízfogyasztásának monitorozása a kísérlet teljes szakasza alatt folyt. A tesztek követő második napon dekapitáció után, minden szerv (máj, diafragma, szív, izom, agy) mintáit folyékony nitrogénben azonnal lefagyasztottuk, majd a feldolgozásig -70 fokon tároltuk. Az állatok lép, mellékvese, herék, ondóhólyagok, csecsemőmirigy, retriperitoneális és epididimális zsírdepók mérése a feldolgozás után azonnal megtörtént.

Csalán tápés úszás protokoll (lásd.34.o.)

Műtét, NMDA lézió

Minden csoport fele excitotoxikus NMDA agyi léziónak volt kitéve, míg a csoportok másik fele álműtéten esett át. A jobboldali agyfélteke NBM régiójába unilaterálisan NMDA oldatot injektáltunk, úgy hogy az injektálás a nukleusz középső részében történjen, ahol a nukleusz projekciós kolinerg rostjai futnak ipszilaterálisan a neokortex felé (114). A műtétet pentobarbitális altatásban végeztük el (60mg/kg). A patkányok sztereotax alá voltak helyezve, és két dorzoventrális pozícióból az NBM (0.6mm) magba lassan, lépcsőnként, 20 percen keresztül injektáltuk az oldatot. Ezután a tő 5 percig in situ bent maradt a beinjektált területen, hogy a teljes felszívódást biztosítsuk, és elkerüljük a kihúzásnál az oldat kifolyását. A bal agyfélteke intakt maradt, hogy teljes kontrollként szolgáljon.

3.2.2. Magatartás és tanulási tesztek

Open-field teszt

A tesztet öt nappal a műtétek elvégzése után végeztettük el az állatokkal. Az állatokat egy olyan kör alakú zárt, 35 cm magas fallal körülvett térbe helyeztük be, melynek 80 cm volt az átmérője, és 20 (koncentrikus és sugárirányú) szektorra volt felosztva (136). Az állat 3 percig tartózkodott az arénában, ahol a támasztott ágaskodások, szabad ágaskodások (amit mi egy összesített számmal értékeltünk), bólusok számát, vizeletürítést, mosakodásokat, átlépett mezők számát és a behelyezéstől számított mozgás megkezdését számoltuk.

Passzív elhárító teszt

Az Ader (3) által leírt módszert alkalmaztuk. A berendezés egy fekete, elsötétített, és egy megvilágított fehér, 40x40x40 cm-es részből állt. A két kamrát egy elhúzható ajtóval felszerelt fal választotta el egymástól. Az első napon, az Open-field teszt utáni 2. napon, a műtétet követő 7. napon az állatokat egy percre elhelyeztük a berendezésben, hogy ismerkedjenek az új környezettel, és a fehér kamrát megvilágítottuk. A második nap a megvilágítás után, amikor az állatok átmentek a fekete, sötét helységbe, lezártuk az ajtót és elektromos ingerlést adtunk a padlót képező

fémrácsra (0.6 mA, 3 sec). A harmadik napon megfigyeltük és regisztráltuk, hogy az állatoknak mennyi idő elteltével lépnek be újra a negatív élményt, elektromos ingerlést adó helységbe. Ha nem léptek be 3 perc alatt, akkor 100%-os teljesítményt nyújtottak. Az állatok helyiségbe való belépéséig eltelt idejét hasonlítottuk össze, melyet látencia időként jelenítettünk meg az eredményekben.

3.2.3. Biokémiai mérések (*NF-kB*, *AP-1*, *RCD*, *BDNF*, *NGF*, *EPR*- lásd 34-36.o.)

Statisztikai analízisek

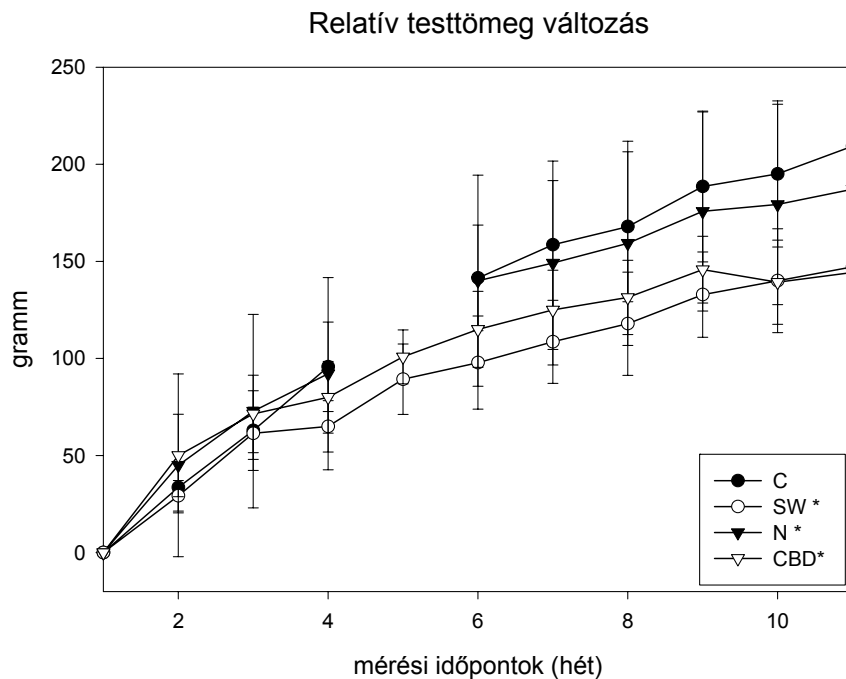
A statisztikai eredmények különbségét ANOVA méréssel határoztuk meg, melyet Tukey-és Duncan-féle post-hoc teszt követett. A parametrikus változók különbségét Fischer és Student T-teszttel állapítottuk meg. A magatartás és tanulási tesztek kiértékelésére Mann- Withney nonparametrikus tesztet, valamint a változók összefüggéseinek vizsgálatára Pearson-féle korrelációt használtunk. A szignifikancia szintjét $p < 0.05$ -nél határoztuk meg.

4. EREDMÉNYEK

4.1. Természetes körülmények közötti vizsgálatok eredményei

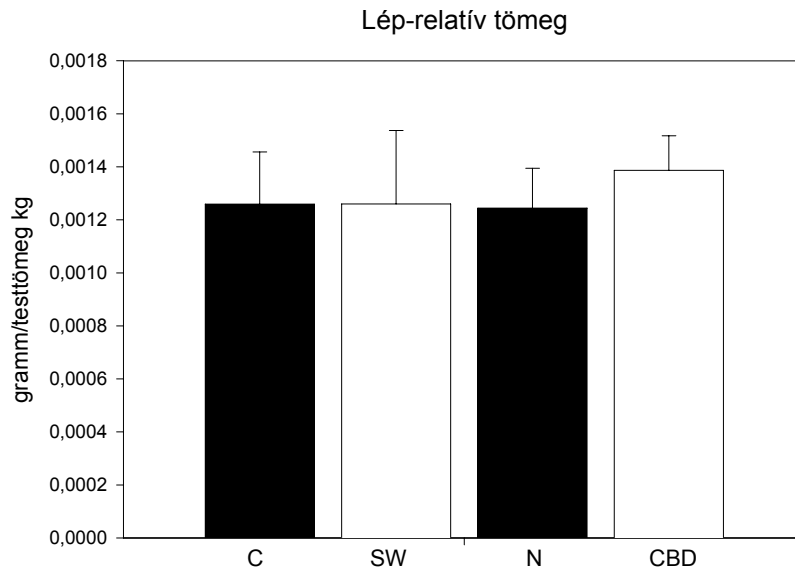
4.1.1. Testtömeg és szervsúly változások

A hathetes beavatkozás időszaka alatt az állatok súlya folyamatosan volt mérve. A súlygyarapodások karakterisztikája minden csoportnál egyenletes tömegnövekedést mutatott. Az úszás az ábrán a 2. héten kezdődött. A csoportok között szignifikáns különbséget mutatott minden csoport a kontroll csoporthoz képest, az úszás mind az SW, mind a CBD csoport tömegnövekedésének mértékét csökkentette, és jól láthatóan elválasztotta a nem úszott C és N csoportokétól (1. Ábra).

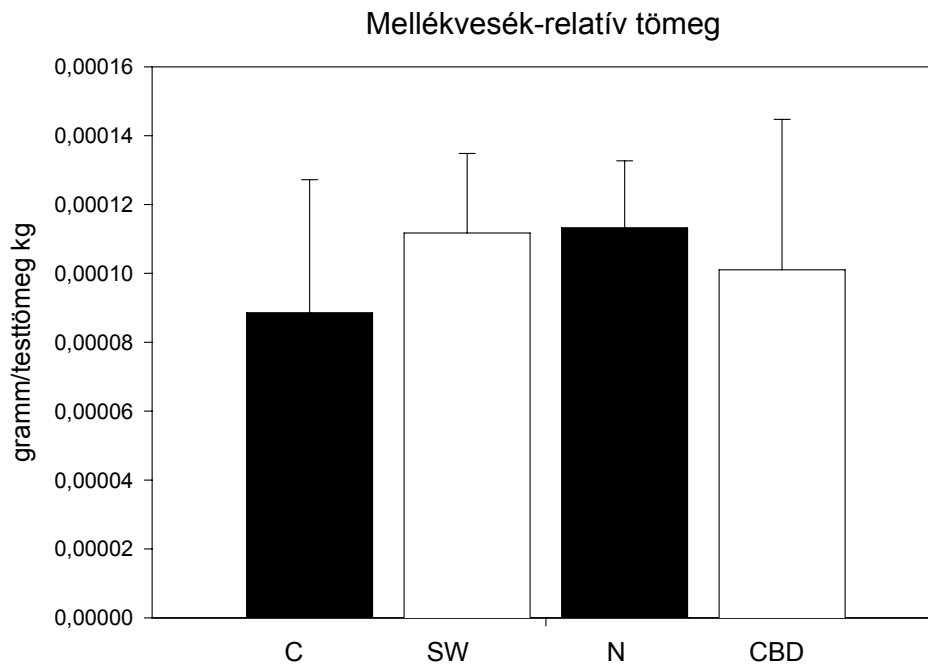


1. Ábra: A kísérleti csoportok tömegének alakulását mutatja a kísérlet első napjától az utolsó beavatkozásig. ($*p < 0.05$ vs. C). A grafikon eredményei a csoportonként 7 állat átlag \pm S.D. értékeit demonstrálják. C- kontroll, SW- úszott, N- csalántápos, CBD-kombinált csoport.

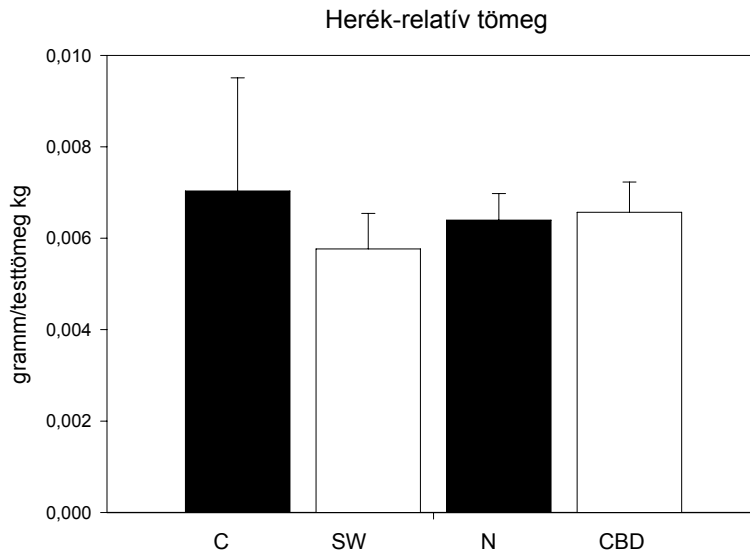
A következő ábrákon a lép (2. Ábra), mellékvesék (3. Ábra), herék (4. Ábra), csecsemőmirigy (5. Ábra), retroperitoneális zsír (6. Ábra), epididimális zsír (7. Ábra), ondóhólyagok (8. Ábra) relatív tömegei láthatóak a teljes testsúlyhoz viszonyítva, mely adatokból az úszás stressz hatására és a zsírtömeget csökkentő hatására voltunk kíváncsiak. Azonban a csoportok szervsúlyai között nem találtunk szignifikáns változást.



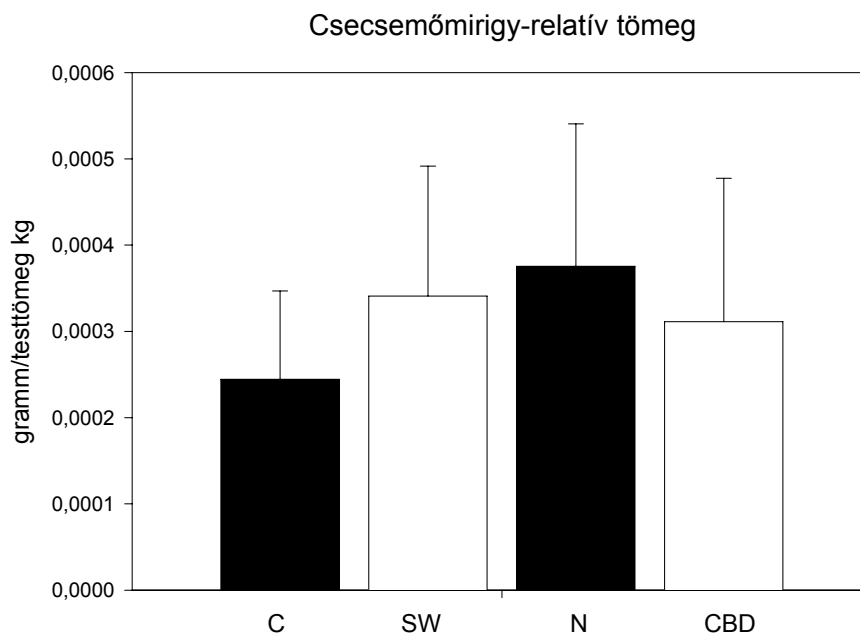
2. Ábra: A lép relatív tömege. Az eredmények a csoportonként 7 állat átlag \pm S.D. értékeit demonstrálják. C- kontroll, SW- úszott, N- csalántápos, CBD- kombinált csoport.



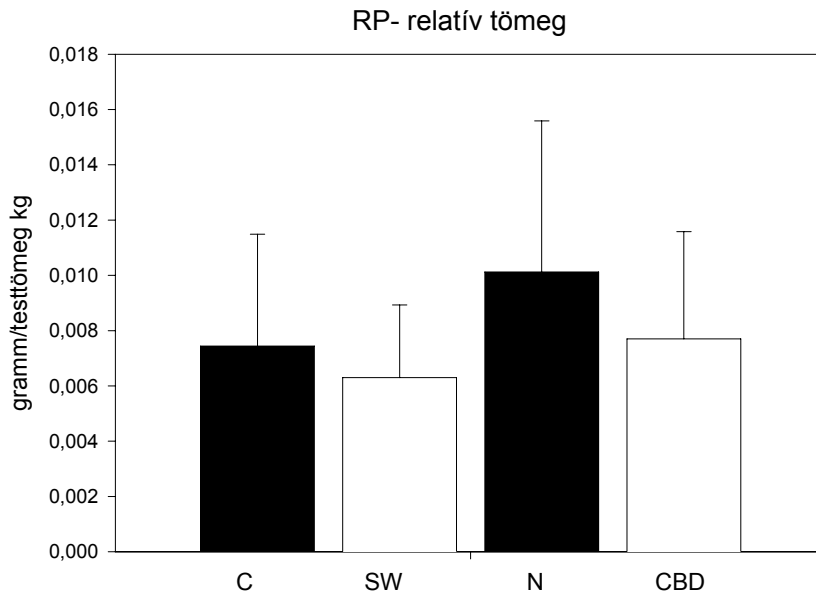
3. Ábra: A mellékvesék relatív tömege. Az eredmények a csoportonként 7 állat átlag \pm S.D. értékeit demonstrálják. C- kontroll, SW- úszott, N- csalántápos, CBD- kombinált csoport.



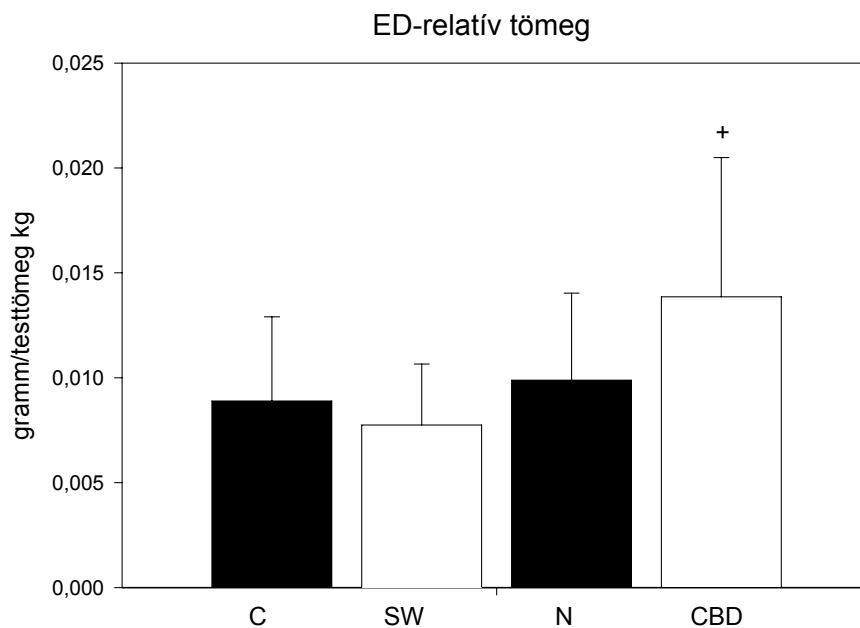
4. Ábra: A herék relatív tömege. Az eredmények a csoportonként 7 állat átlag \pm S.D. értékeit demonstrálják. C- kontroll, SW- úszott, N- csalántápos, CBD- kombinált csoport.



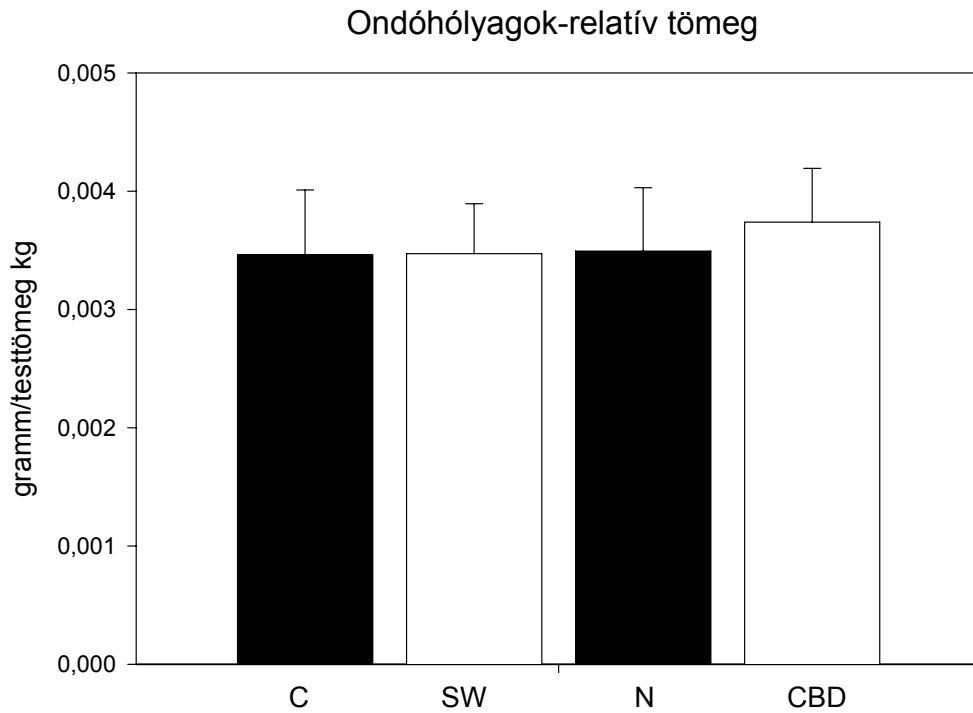
5. Ábra: A csecsemőmirigy relatív tömege. Az eredmények a csoportonként 7 állat átlag \pm S.D. értékeit demonstrálják C- kontroll, SW- úszott, N- csalántápos, CBD- kombinált csoport..



6. Ábra: A retroperitoneális zsír relatív tömege. Az eredmények a csoportonként 7 állat átlag \pm S.D. értékeit demonstrálják C- kontroll, SW- úszott, N- csalántápos, CBD- kombinált csoport..



7. Ábra: Az epididimális zsír relatív tömege. (+ $F < 1$; $p < 0.05$ SW vs. CBD) Az eredmények a csoportonként 7 állat átlag \pm S.D. értékeit demonstrálják. C- kontroll, SW- úszott, N- csalántápos, CBD- kombinált csoport.

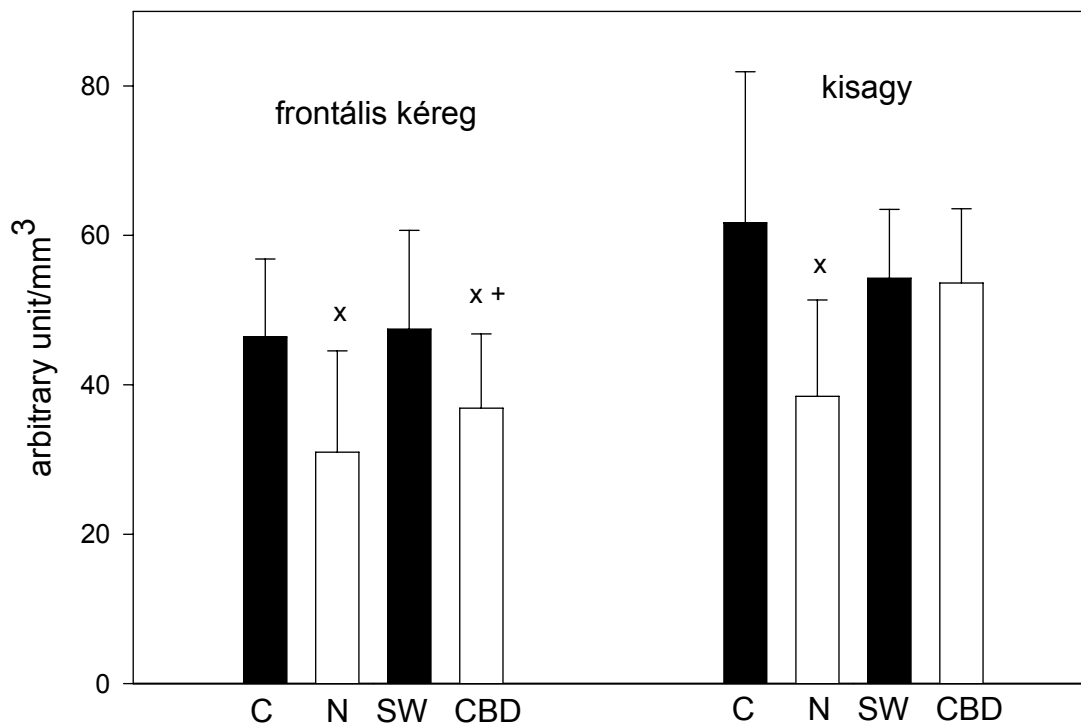


8. Ábra: Az ondóhólyagok relatív tömege. Az eredmények a csoportonként 7 állat átlag \pm S.D. értékeit demonstrálják. C- kontroll, SW- úszott, N- csalántápos, CBD- kombinált csoport.

4.1.2. Biokémiai eredmények

Az EPR mérések eredményei szerint a csalánnal etetett csoport szignifikánsan csökkentette a szabad elektronok számát a kontroll és úszott csoporthoz viszonyítva mind a kisagy, mind a frontális kéreg területén. A rendszeres úzás azonban nem hozott változást az EPR eredményekben (9. Ábra).

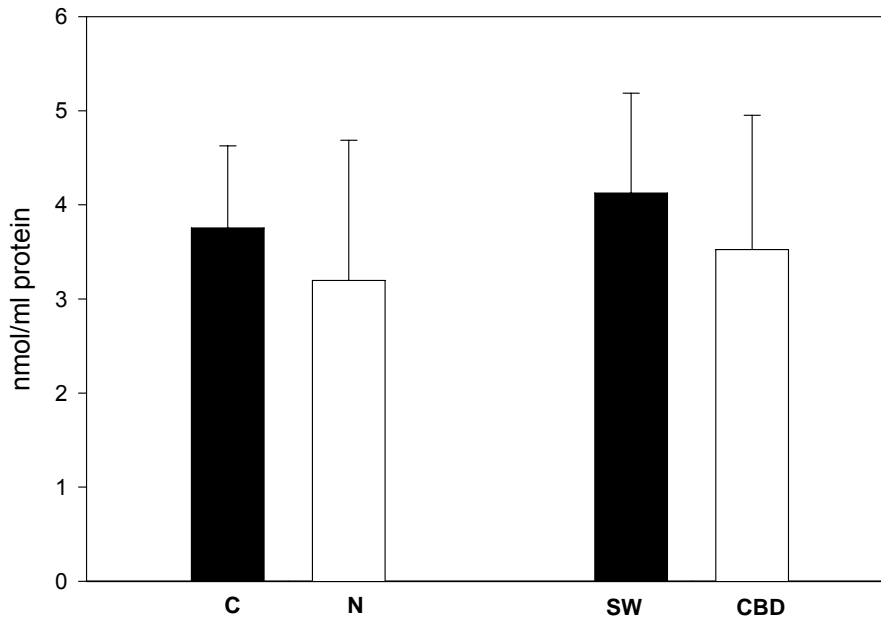
Szabad elektron akkumuláció



9. Ábra: A frontális kéreg és a kisagy EPR mérésének szabad elektron mennyisége. ($\times F < 1$; $p < 0.05$ vs. C), ($+ F < 1$; $p < 0.05$ vs. SW). Az eredmények a csoportonként 6 állat átlag \pm S.D. értékeit demonstrálják. C- kontroll, SW- úszott, N- csalántápos, CBD-kombinált csoport.

Az RCD fotometriás mérése nem mutatott különbséget a csoportok között, de a változások képe hasonló tendenciát mutatott, mint amit az EPR eredményekben is találtunk (10. Ábra).

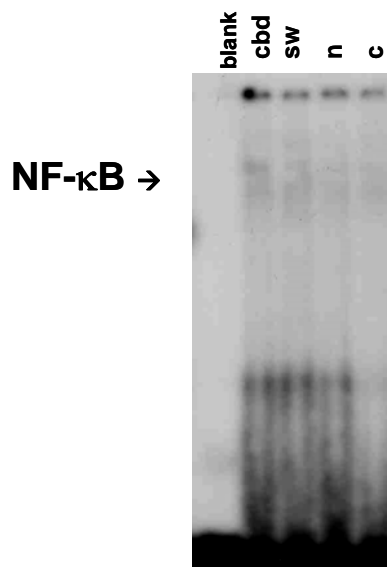
Protein karbonil koncentráció



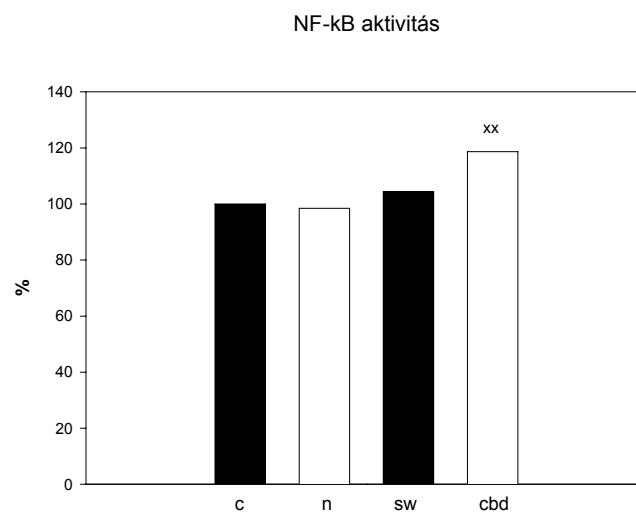
10. Ábra: A RCD kvantitatív fotometriás mérése. Az eredmények a csoportonként 7 állat átlag \pm S.D. értékeit demonstrálják. C- kontroll, SW- úszott, N- csalántápos, CBD-kombinált csoport.

A gyulladássos transzkripciós faktorok DNS-hez való kapcsolódásának mértékét EMSA-val állapítottuk meg. Ezek szerint az NF- κ B DNS-hez való kötődésének mértéke csak a kombinált csoportban volt szignifikánsan magasabb (11. Ábra), míg az AP-1-re vonatkozó adatok más karakterisztikát mutattak, mely szerint egyedül a csalántáppal etetett csoportnál volt jelentős növekedés detektálható (12. Ábra).

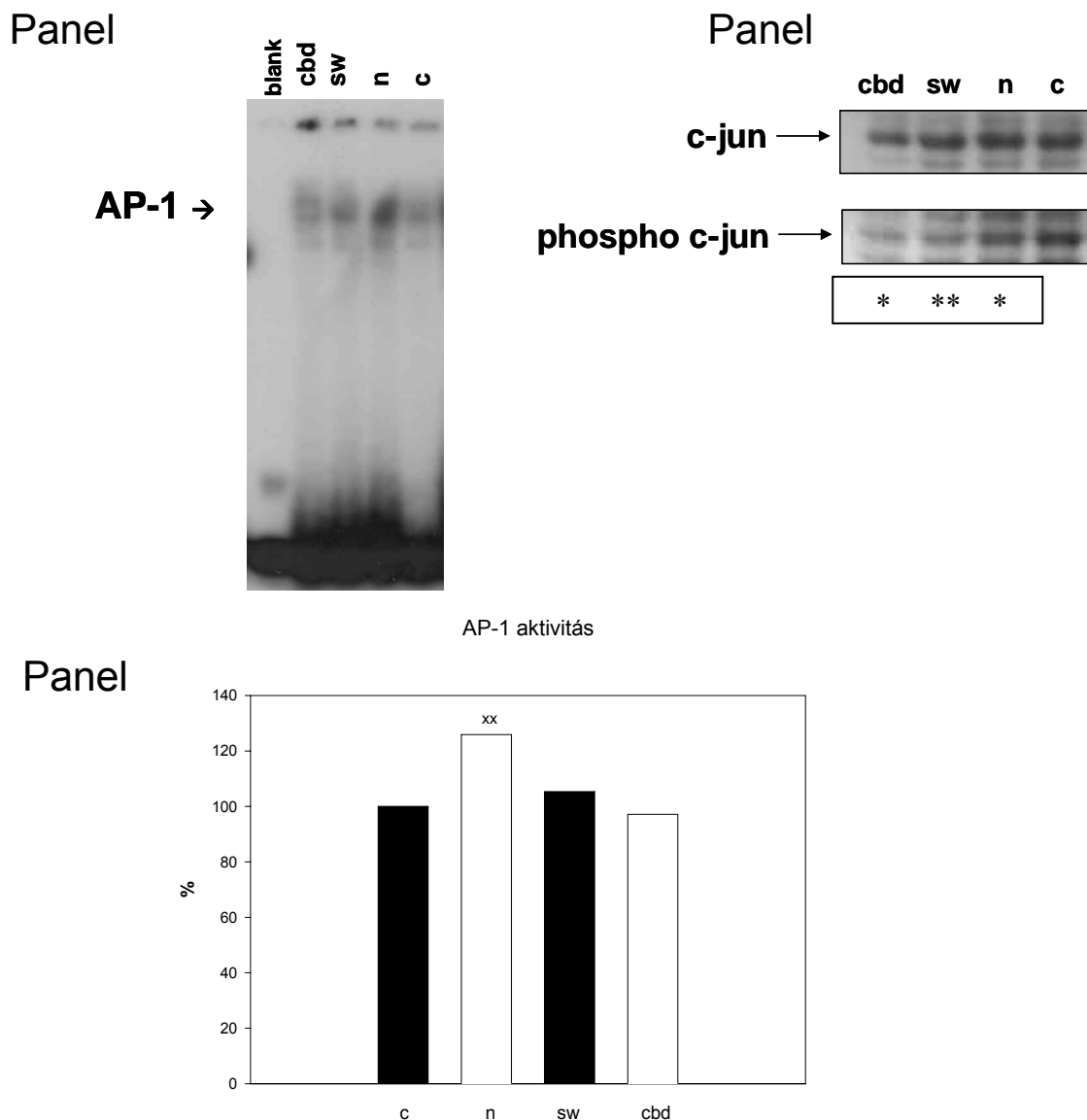
Panel A



Panel B



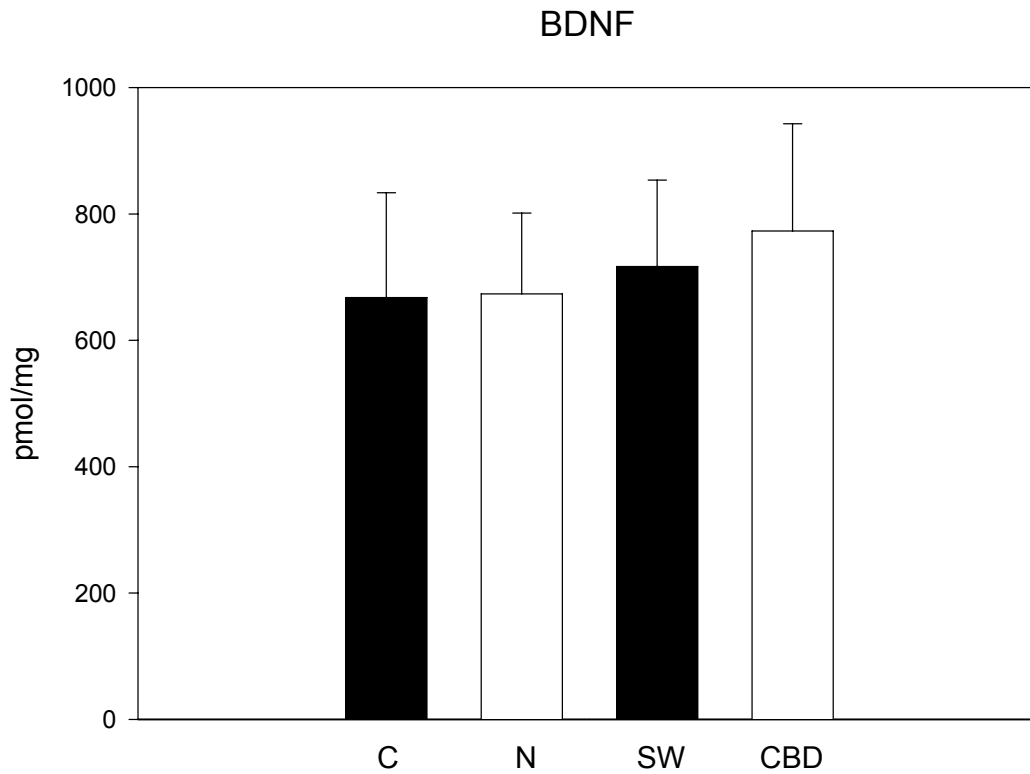
11. Ábra: Az NF-κB DNS-hez való kapcsolódásának aktivitása EMSA-val mérve (Panel A). Az oszlopok a 7 állat kisagyának pool-ozott mintáinak átlag eredményét mutatja. A Panel B az EMSA assay denzitometriás képét demonstrálja. A jelölt érték meghaladja a ^{xx} ≤ 20%-ot. C- kontroll, SW- úszott, N- csalántápos, CBD- kombinált csoport.



12. Ábra: A Panel C az AP-1 DNS-hez való kapcsolódásának mértékét jelöli. Az oszlopok a 6 állat kisagyának pool-ozott mintáinak átlag eredményét mutatja. A Panel A az EMSA assay denzitometriás képét demonstrálja. A Panel B a c-jun és foszforizált c-jun aktivitást mutatja. A jelölt érték meghaladja a $^{xx} \leq 20\%$ -ot. C- kontroll, SW- úszott, N- csalántápos, CBD- kombinált csoport.

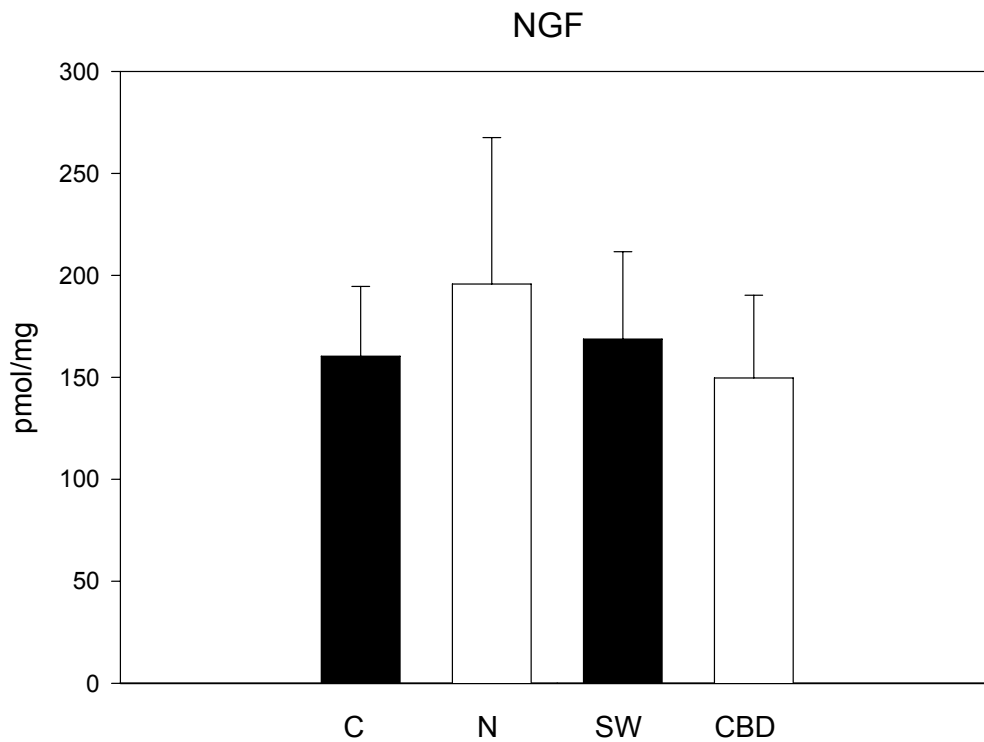
A c-jun foszforizálásában egyedül a hathetes rendszeres úszás mutatott jelentős csökkenést, míg a csalántáppal való etetés csak kisebb mértékű különbséget mutatott a kontroll csoport eredményeihez képest (12. Ábra, Panel B).

A neurotrofinok, BDNF és NGF protein mennyiségében sem az úszás, sem a csalántáp nem eredményezett változást. (13., 14. Ábra)



13. Ábra: A BDNF protein mennyiség E-Max ImmunoAssay rendszerrel mérve teljes jobb agyfélteke homogenátból. Az eredmények a csoportonként 7 állat átlag \pm S.D. értékeit demonstrálják. C- kontroll, SW- úszott, N- csalántápos, CBD- kombinált csoport.

A csoportok változói közötti korreláció analízis szignifikáns összefüggést mutatott az RCD és a BDNF protein mennyisége között ($r= 0.87$; $p< 0.01$).



14. Ábra: Az NGF protein mennyiséget E-Max ImmunoAssay rendszerrel teljes jobb, agyfélteke homogenátumokból. Az eredmények a csoportonként 7 állat átlag \pm S.D. értékeit demonstrálják. C- kontroll, SW- úszott, N- csalántápos, CBD- kombinált csoport.

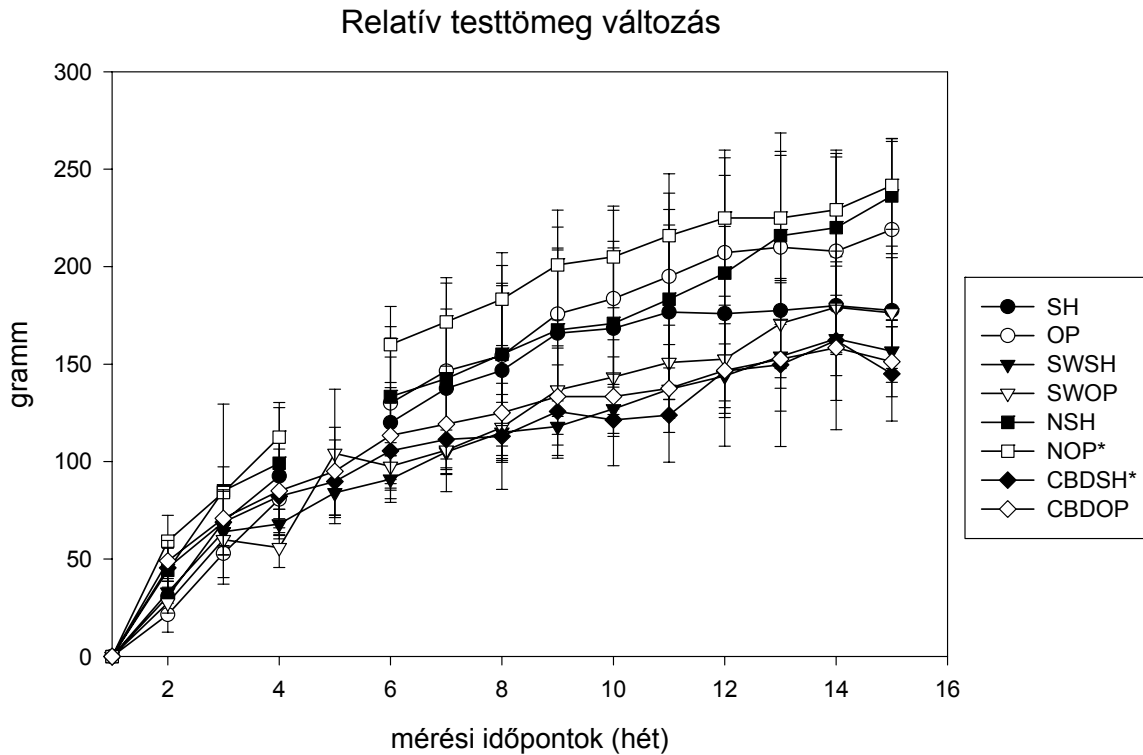
4.2. Léziós modell vizsgálatának eredményei

4.2.1. Testtömeg és szervsúly változások

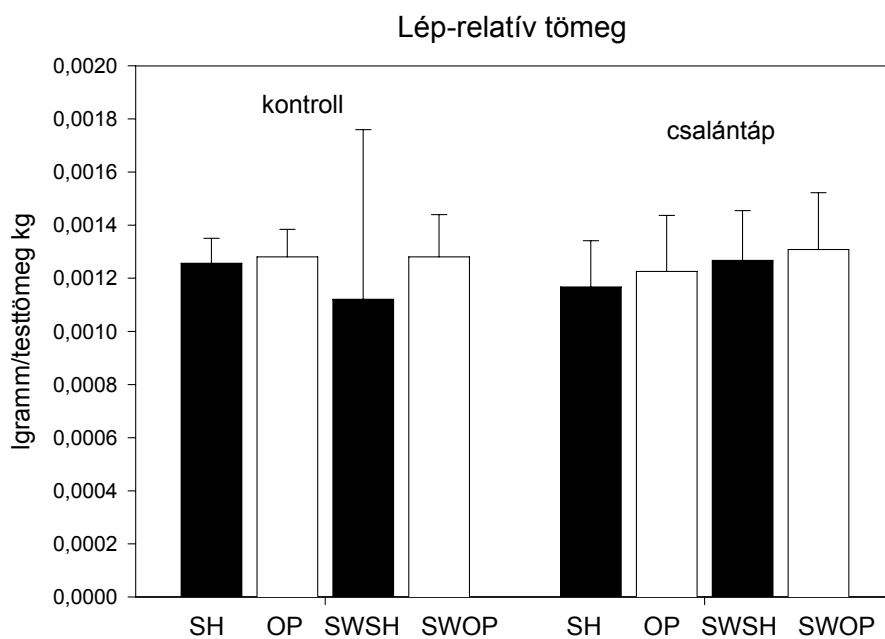
A nyolc-kilenc hetes beavatkozás időszaka alatt az állatok súlya folyamatosan mérve volt. A súlygyarapodások karakterisztikája minden csoportnál egyenletes tömegnövekedést mutatott. Az úszást a 3. hétnél kezdték el, míg a csalántápos diétát a 0. héten. A magatartás tesztek a 13. héten kezdődtek. Szignifikáns különbség volt az SH vs. CBDSH és NOP között, valamint a NOP csoport és minden más csoport között. A legalacsonyabb testsúlyt az úszó csoportok közül a CBDSH, CBDOP, SWSH csoportok érték el. Az SH, az abszolút kontroll csoport súlygyarapodását követte az SWOP csoport, míg meglepő módon a legnagyobb súlygyarapodást a csalántáppal etetett NSH,

NOP csoportok valamint az OP csoportok értek el. A három különböző súlygyarapodási karakterisztikát mutató kategóriák csoportjai jól elkülönülnek (15. Ábra).

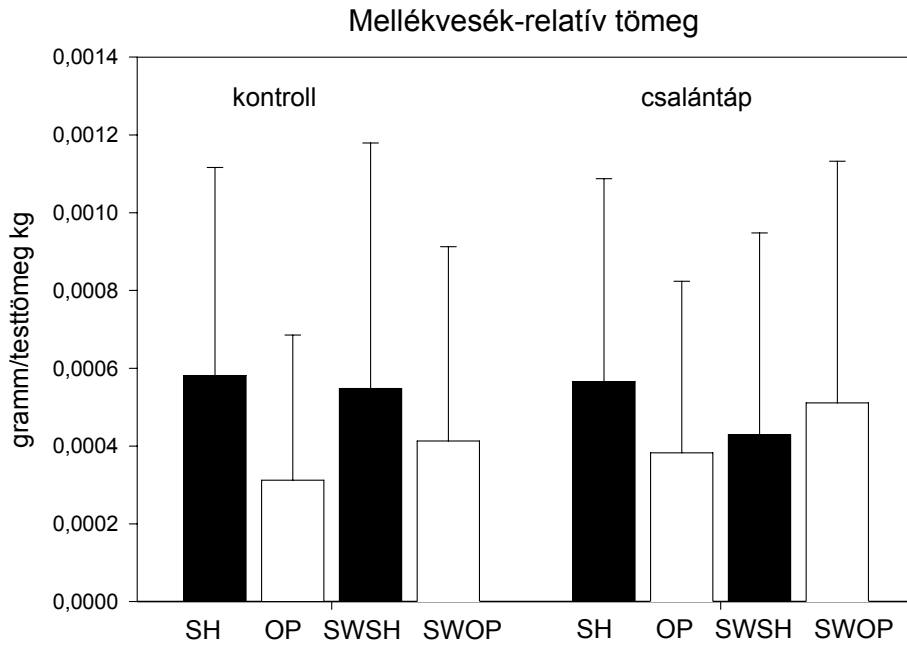
A következő ábrákon a lép (16. Ábra), mellékvesék (17. Ábra), herék (18. Ábra), csecsemőmirigy (19. Ábra), RP zsír (20. Ábra), ED zsír (21. Ábra), ondóhólyag (22. Ábra) relatív tömegei láthatóak a teljes testsúlyhoz viszonyítva. Szignifikáns különbséget találtunk a csoportok relatív ED zsírtömegében, ahol a kontroll SH vs. csalántápos SWSH és SWOP, valamint a kontroll SWOP csoportok; a kontroll OP vs. kontroll SWOP, csalántápos SWOP és SWSH csoportok között. Míg az RP zsírdepónál a kontroll SH vs. kontroll SWOP, csalántápos SWOP és SWSH hasonlóan az ED-hez, valamint a csalántápos SH vs. csalántápos SWOP, kontroll SWOP csoportok között láttunk jelentős relatív zsírtömeg csökkenést (20., 21. Ábra). Ez az eredmény azonban nem volt összhangban a csalántáppal etetett csoportok össztömeg növekedésének eredményeivel. Ez a két csalántápos SH és OP csoport érte el a legnagyobb súlygyarapodást miközben a zsírdepóik nem különböztek a kontrol álműtött csoporttól. Megfigyeléseink szerint a csalántáppal etetett állatok sokkal mozgékonyabbak voltak normál tápon élő társaikkal szemben. Lehetséges, hogy a nagyobb mozgásigény, vékonyabb testalkathoz vezetett.



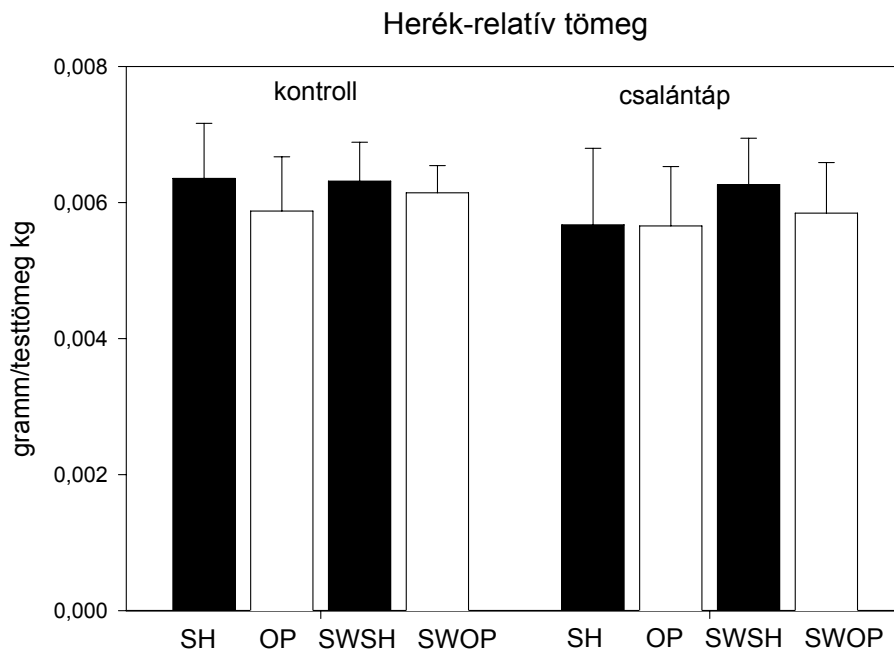
15. Ábra: A kísérleti csoportok tömegének alakulását mutatja a kísérlet első hetétől az utolsó beavatkozásig. (* $p < 0.05$ vs. SH). A grafikon eredményei a csoportonként 6 állat átlag \pm S.D. értékeit demonstrálják. SH- kontroll álműtött, OP- kontroll NMDA léziós, SWSH- kontroll, úszott, álműtött; SWOP- kontroll, úszott, NMDA léziós, NSH- csalántápos álműtött, NOP- csalántápos NMDAműtött, CBDSH- kombinált álműtött, CBDOP- kombinált NMDA műtött csoport.



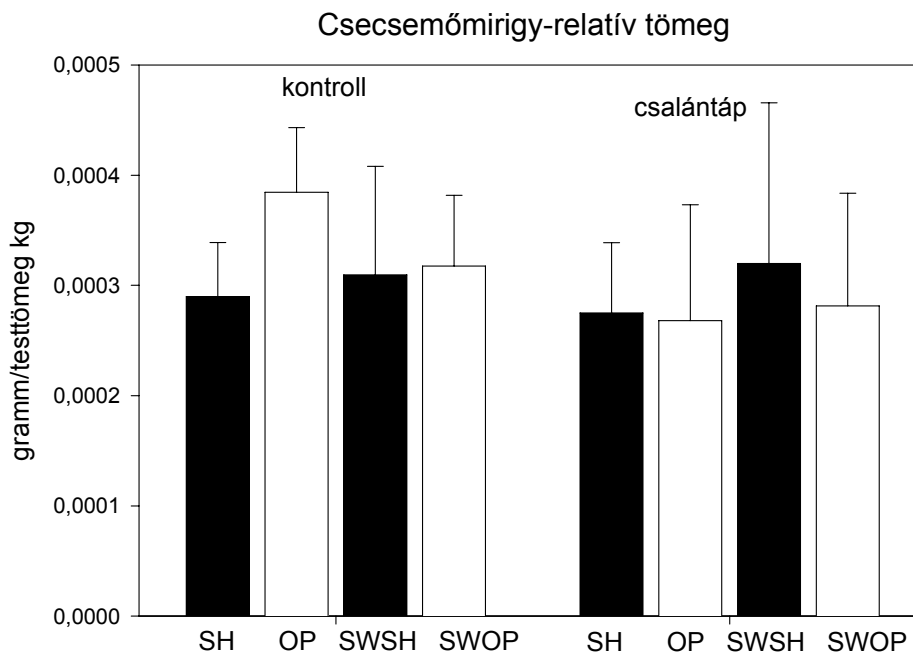
16. Ábra: A lép relatív tömege. Az eredmények a csoportonként 6 állat átlag \pm S.D. értékeit demonstrálják. SH- álműtött, OP- NMDA műtött, SWSH- úszott álműtött, SWOP- úszott NMDA műtött csoport.



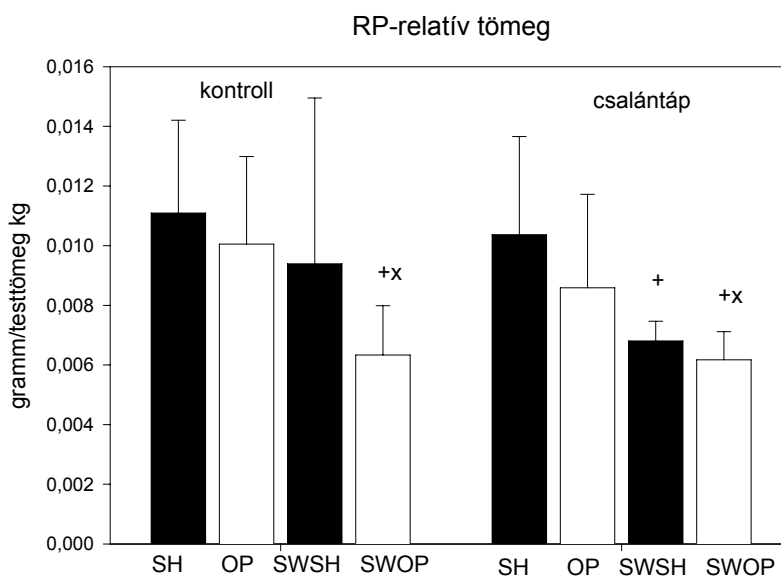
17. Ábra: A mellékvesék relatív tömege. Az eredmények a csoportonként 6 állat átlag \pm S.D. értékeit demonstrálják. SH- álműtött, OP- NMDA műtött, SWSH- úszott álműtött, SWOP- úszott NMDA műtött csoport.



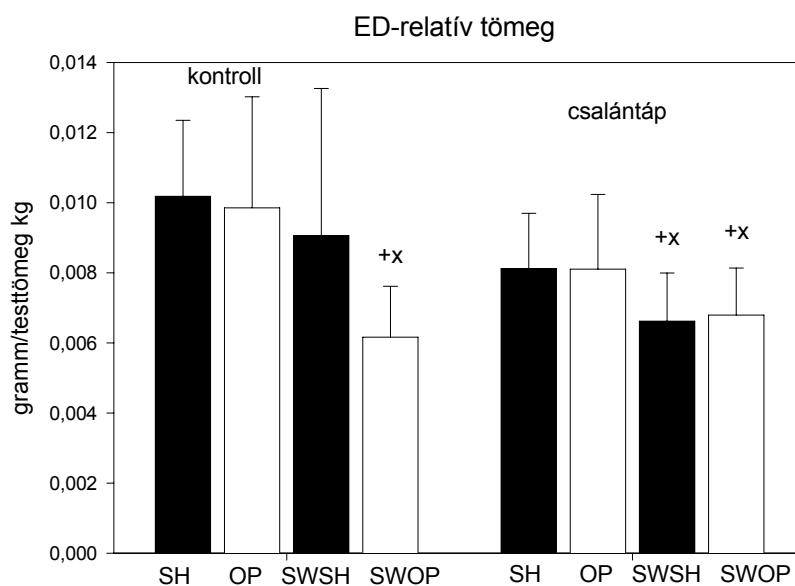
18. Ábra: A herék relatív tömege. Az eredmények a csoportonként 6 állat átlag \pm S.D. értékeit demonstrálják. SH- álműtött, OP- NMDA műtött, SWSH- úszott álműtött, SWOP- úszott NMDA műtött csoport.



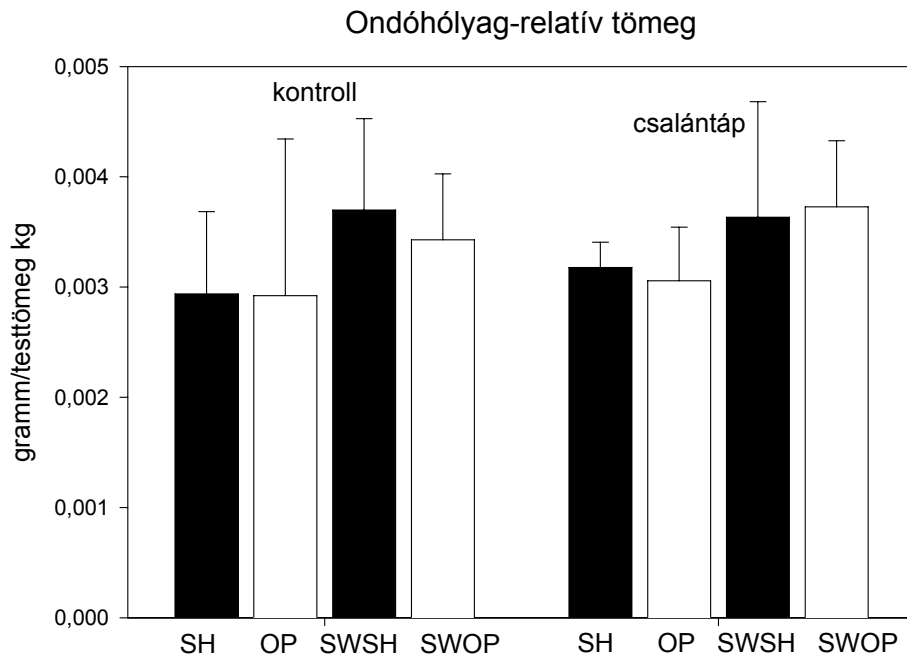
19. Ábra: A csecsemőmirigy relatív tömege. Az eredmények a csoportonként 6 állat átlag \pm S.D. értékeit demonstrálják. SH- álműtött, OP- NMDA műtött, SWSH- úszott álműtött, SWOP- úszott NMDA műtött csoport.



20. Ábra: A retroperitoneális zsír relatív tömege. ($+F < 1$; $p < 0.05$ vs. kontroll SH; $x F < 1$; $p < 0.05$ vs. csalántáp SH). Az eredmények a csoportonként 6 állat átlag \pm S.D. értékeit demonstrálják. SH- álműtött, OP- NMDA műtött, SWSH- úszott álműtött, SWOP- úszott NMDA műtött csoport.



21. Ábra: A epididimális zsír relatív tömege. ($+F < 1$; $p < 0.05$ vs. kontrol SH; $x F < 1$; $p < 0.05$ vs. kontroll OP). Az eredmények a csoportonként 6 állat átlag \pm S.D. értékeit demonstrálják. SH- álműtött, OP- NMDA műtött, SWSH- úszott álműtött, SWOP- úszott NMDA műtött csoport.

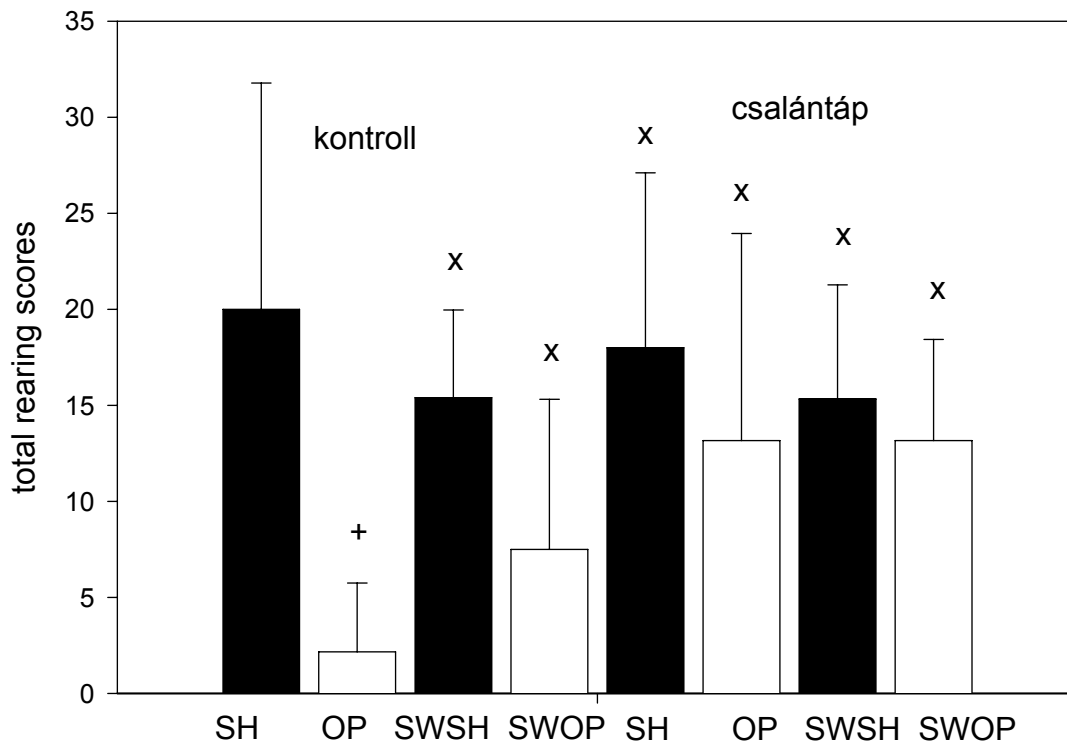


22. Ábra: Az ondóhólyagok relatív tömege. Az eredmények a csoportonként 6 állat átlag \pm S.D. értékeit demonstrálják. SH- álműtött, OP- NMDA műtött, SWSH- úszott álműtött, SWOP- úszott NMDA műtött csoport.

4.2.2. Magatartás és tanulási tesztek

Az NMDA léziót elszenvedett állatok szignifikáns aktivitásbeli csökkenést mutattak az Open-field tesztben a kontroll álműtött csoportéhoz képest, melyet a 23. Ábra demonstrál. Míg a csalántáppal etetett és kombinált csoportok NMDA léziós állatai jelentős javulást mutattak az aktivitási teszt ágaskodásainak (rearing) számát összegezve.

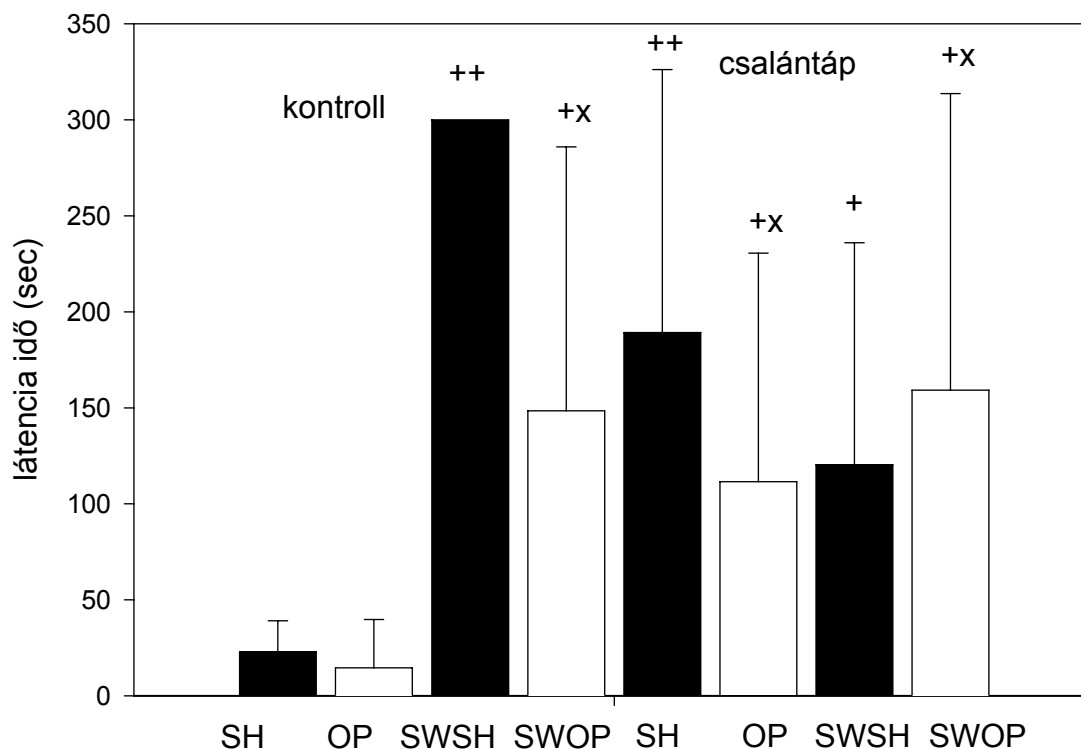
Open-field teszt



23. Ábra: Az oszlopok az Open-field teszt teljes ágaskodásainak számát mutatják. (⁺ $p < 0.05$ vs. kontroll SH, ^x $p < 0.05$ vs. kontroll OP). Az eredmények a csoportonként 6 állat átlag \pm S.D. értékeit demonstrálják. SH- álműtött, OP- NMDA műtött, SWSH- úszott álműtött, SWOP- úszott NMDA műtött csoport.

A kognitív funkciókat összegző passzív elhárítási teszt eredményei értelmében az álműtött állatokhoz képest is mind az úzás, mind a csalántáp jelentős kognitív funkcionővekedést eredményezett. Az NMDA sérülés szignifikánsan rontotta a tanulási képességeket. Azonban mind a csalán, mind az úzás hatása jelentősen javította az NMDA lézió okozta gyenge teljesítményt, és a két beavatkozás együttes hatása további javulást mutatott, mintegy bizonyítva a rendszeres úzás és csalánnal kiegészített táplálkozás fontosságát (24. Ábra).

Passzív hártási teszt



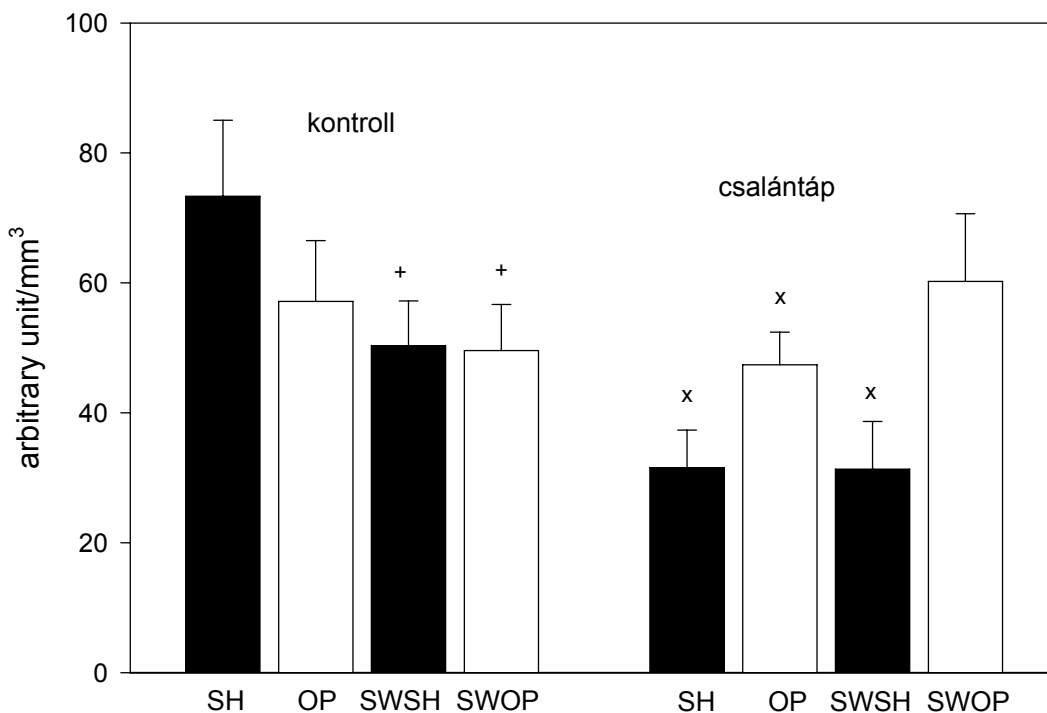
24. Ábra: Az ábra a passzív elhárítási teszt látencia idejének eredményeit mutatja.

(⁺⁺p<0.01, ⁺p<0.05 vs. kontroll SH). (^{xx}p<0.01, ^xp<0.05 vs kontroll OP). Az eredmények a csoportonként 6 állat átlag ± S.D. értékeit demonstrálják. SH- álműtött, OP- NMDA műtött, SWSH- úszott álműtött, SWOP- úszott NMDA műtött csoport.

4.2.3. Biokémiai eredmények

A frontális kéreg EPR eredményei kimutatták, hogy a csalán jelentős antioxidáns tulajdonsággal bír, képes csökkenteni az adott kérgi szövet szabad elektronjainak számát az álműtött és NMDA operált állatoknál is. Ugyanitt az úszás a kontroll csoporthoz képest, csökkentette mind az álműtött, mind az NMDA léziós állatok szabadgyök mennyiségét. A kombinált csoport az álműtött csoportnál mutatott szignifikáns csökkenést az álműtött, kontroll csoporthoz képest (25. Ábra).

Szabad elektron akkumuláció a frontális kéregben(EPR)

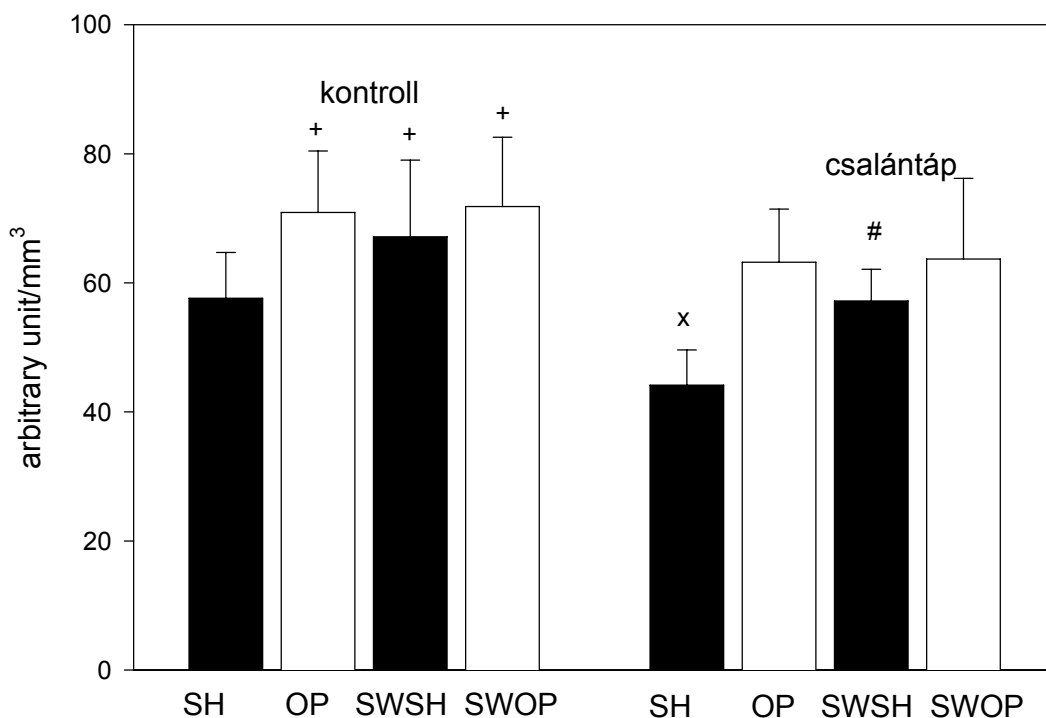


25. Ábra: Az oszlopok a szabad elektron mennyiség értékeit mutatják egy adott területen a frontális kérgi szövetben. (^xF<1, p<0.05 vs. kontroll SH.), (⁺F<1, p<0.05 vs. kontroll SH) Az eredmények a csoportonként 6 állat átlag ± S.D. értékeit demonstrálják.

SH- álműtött, OP- NMDA műtött, SWSH- úszott álműtött, SWOP- úszott NMDA műtött csoport.

A kisgyi szabad elektron akkumulációnak mértéke adott területen csökkenést csak a csalántáppal kezelt álműtött csoportnál mutatott, míg NMDA léziós párjánál nem tudta kivédeni az NMDA lézió szabadgyök mennyiségét növelő hatását. Az úszás ezen a területen szignifikánsan növelte a szabad elektronok számát, és nem volt hatással az NMDA lézióra. A kombinált csoport álműtött állatainak eredményei igaz szignifikánsan alacsonyabbak voltak úszott kontroll párjaiktól, mégis kisebb mértékben emelte az úszás a szabad elektronok számát a csalántápos álműtött párjához képest (26. Ábra).

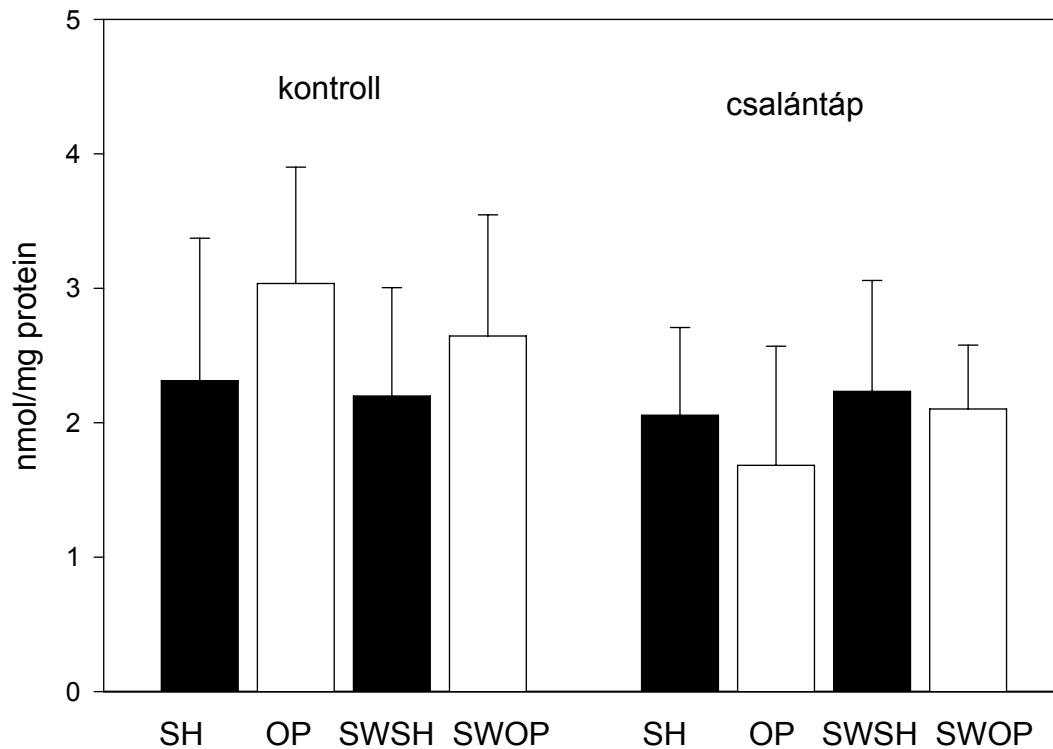
Szabad elektron akkumuláció a kisagyban(EPR)



26. Ábra: Az oszlopok a szabad elektron mennyiség értékeit mutatják egy adott területen a kisgyi szövetben. (⁺F<1, p<0.05 vs. kontroll SH) (^xF<1, p<0.05 vs. kontroll SH) ([#]F<1, p<0.05 vs. kontroll SWSH). Az eredmények a csoportonként 6 állat átlag ± S.D. értékeit demonstrálják. SH- álműtött, OP- NMDA műtött, SWSH- úszott álműtött, SWOP- úszott NMDA műtött csoport.

Az agyban található proteinek sérülésének mértéke a sérülés eredményeként képződött karbonil kötések mennyiségének meghatározásával történt, mely csoportjai között nem találtunk különbséget (27. Ábra).

Protein karbonil koncentráció

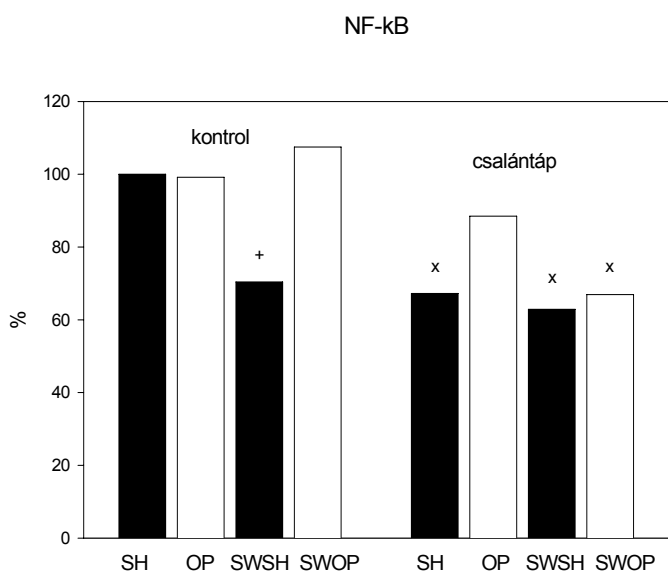


27. Ábra: Az ábrán a protein RCD kvantitatív fotometriás mérésének az eredményeit jelöltük. Az eredmények a csoportonként 6 állat átlag \pm S.D. értékeit demonstrálják.

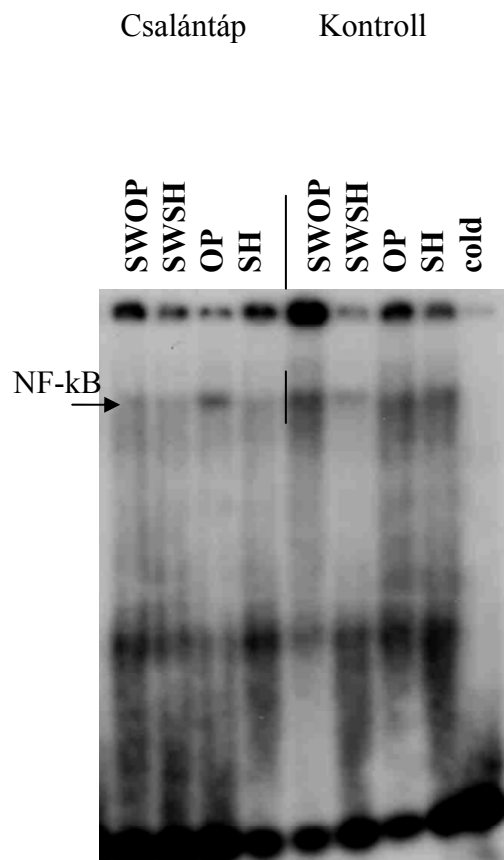
SH- álműtött, OP- NMDA műtött, SWSH- úszott álműtött, SWOP- úszott NMDA műtött csoport.

A pool-ozott kisgyi homegenát minták EMSA kiértékelése után azt találtuk, hogy az NMDA lézió nem okozott változást az NF-kB DNS-hez való kötődésének aktivitásában. Azonban mind a rendszeres úszás, mind a csalántáp önmagában és kombinálva is csökkentette az álműtött csoportok NF-kB aktivitását. A kombinált kezelés jelentős gyulladáscsökkentő hatása az NMDA léziós csoport értékeit is csökkenteni tudta (28. Ábra).

Panel A



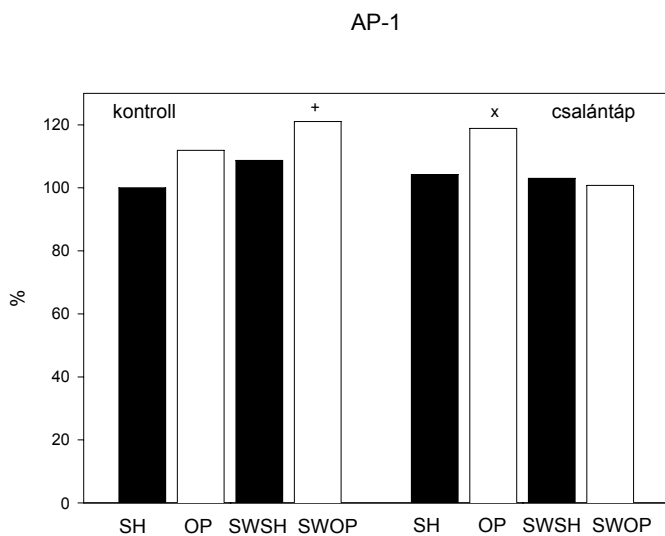
Panel B



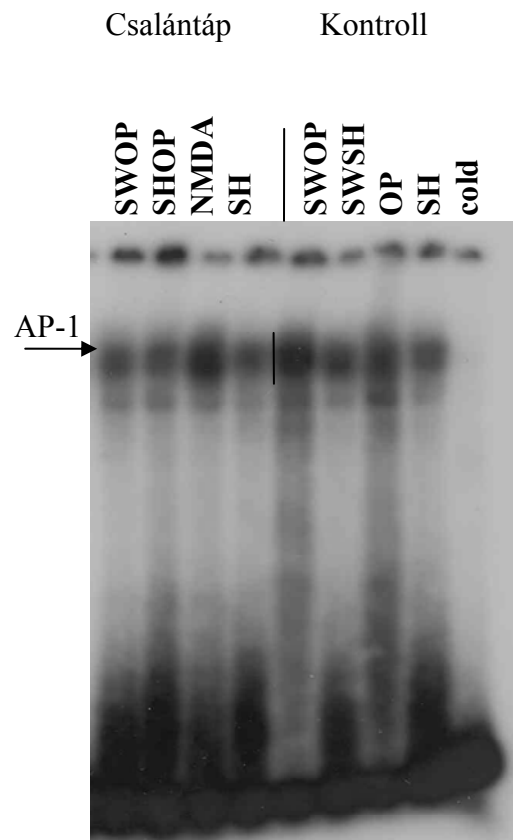
28. Ábra: Az NF-kB DNS-hez való kapcsolódásának aktivitása EMSA-val mérve (Panel A). Az oszlopok a 6 állat kisagyának pool-ozott mintáinak átlag eredményét mutatja. A Panel B az EMSA assay denzitometriás képét demonstrálja. A jelölt értékek meghaladják a $^{+,x} \leq 20\%$ -ot. SH- álműtött, OP- NMDA műtött, SWSH- úszott álműtött, SWOP- úszott NMDA műtött csoport.

Az AP-1 DNS-hez való kapcsolódásának mértéke azonban merőben más képet mutatott, mint az NF- κ B aktivitása. Itt az NMDA lézió jelentős aktivitás-növekedést eredményezett, egy csoportot kivéve, a csalántápos SWOP-ot, ahol a kombinált tényezők hatására az AP-1 aktivitása NMDA léziónál sem emelkedett a kontrol álmutótt csoporthoz képest (29. Ábra).

Panel A

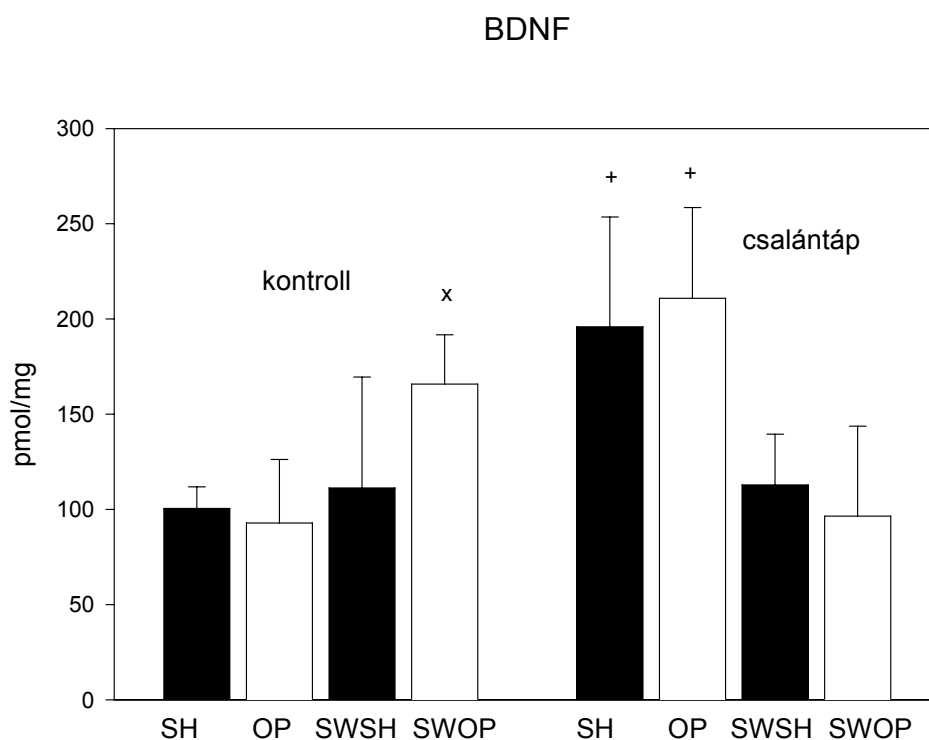


Panel B



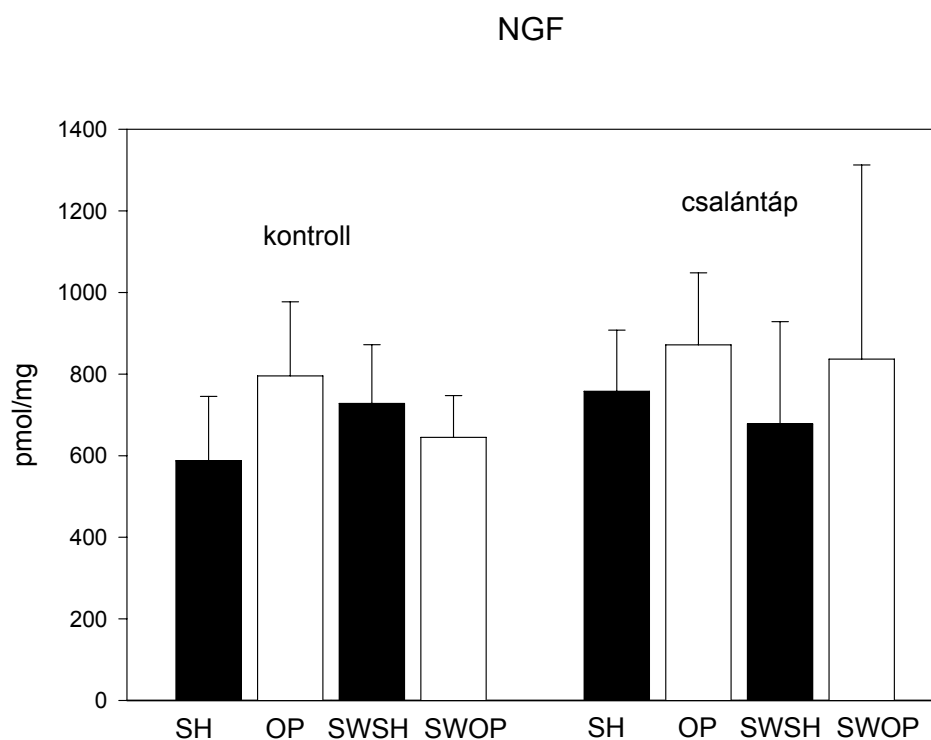
29. Ábra: A Panel A az AP-1 DNA-hez való kapcsolódásának mértékét jelöli. Az oszlopok a 6 állat kisagyának pool-ozott mintáinak átlag eredményét mutatja. A Panel B az EMSA assay denzitometriás képét demonstrálja. A jelölt értékek meghaladják a $^{+,x} \leq 20\%$ -ot. SH- álmutótt, OP- NMDA mütött, SWSH- úszott álmutótt, SWOP- úszott NMDA mütött csoport.

Az NMDA lézió érdekes módon az úszott, NMDA léziós csoport BDNF protein koncentrációját növelte meg jelentősen az agyi homogenát mintákban, míg a legmarkánsabb növekedés a csalántápos, álműtött és NMDA léziós csoportoknál volt megfigyelhető, de ez utóbbi két csoport növekedése azonos mértékű volt (30. Ábra). A mért másik neurotrophin, az NGF protein mennyiségére a kísérleti beavatkozások nem voltak hatással (31. Ábra).



30. Ábra: A BDNF protein tartalom E-Max ImmunoAssay rendszerrel volt mérve teljes jobb agyfélteke homogenátból. (^xF<1, p<0.05 vs. kontroll SH) (⁺F<1, p<0.05 vs. kontroll SH). Az eredmények a csoportonként 6 állat átlag ± S.D. értékeit demonstrálják. SH- álműtött, OP- NMDA műtött, SWSH- úszott álműtött, SWOP- úszott NMDA műtött csoport.

A korreláció analízisből nyert adatok szerint, pozitív korreláció figyelhető meg a kisagy EPR és az Open-field aktivitás eredményei között ($r=-0,318$; $p=0,02$), valamint a protein RCD mennyisége és a redox szenzitív NF-kB ($r=0,77$; $p=0,045$) és AP-1 ($r=0,68$; $p=0,06$) transzkripciós faktorok között.



31. Ábra: Az NGF protein mennyiséget E-Max ImmunoAssay rendszerrel határoztuk meg teljes jobb agyfélteke homogenátumokból. Az eredmények a csoportonként 6 állat átlag \pm S.D. értékeit demonstrálják. SH- álműtött, OP- NMDA műtött, SWSH- úszott álműtött, SWOP- úszott NMDA műtött csoport.

5. MEGBESZÉLÉS

Jelen kísérletben a hathetes úszás és a csalánnal kiegészített diéta hatásait vizsgáltuk 4 hónapos, hím Wistar patkányokon. A szervek és a teljes testtömeg mérések alapján megállapíthatjuk, hogy az úszás sem a csecsemőmirigyben, sem a mellékvesék méretében nem okozott változást, így nem jelent jelentősebb stressz-hatást az állatok számára. A csoportok tömeggyarapodása minden csoportban kisebb volt, mint a kontroll csoportban. Ez azért is meglepő, mert eredményeink szerint a csalánnal etetett csoportok nagyobb zsírdepó növekedést mutattak, valamint a retroperitonális zsírdepó relatív súlya a kombinált csoportnál volt a legnagyobb, ahol a legkisebb zsírtömeg gyarapodást vártuk.

Tudomásunk szerint ez az első kísérletek közé tartozik, mely az agyi szövetek ROI mennyiségét mérte hosszantartó fizikai aktivitás után. Az EPR eredményekből az derült ki, hogy a rendszeres úszás nem volt befolyással a szabad elektronok szintjére sem a kisagy, sem a frontális kérgi területeken, melyhez hasonló képet mutatott a protein karbonil derivatívok szintje is. Az irodalomban számos esetben vizsgálták az oxidatív rendszerek változását rendszeres futószalagon való futás közben, ahol szignifikáns változást találtak a DNS sérülésben patkány szívizomban, májban. Radák és munkatársai viszont csökkenést találtak 8 hetes úszásnál a 8-OHdG szintnél patkányvégtag izomban (10, 148). A proteinsérülés RCD markernél emelkedés volt megfigyelhető a végtag izmokban 8 hetes futás után (187), de csökkenést mutattak ki a 4 hetes úszás után szintén a végtagizomzatban (146), és 8 hetes úszást követően a szívizomban (147). A lipidsérülés szintjében is (42, 36) növekedést találtak, ami arra enged következtetni, hogy a rendszeres fizikai aktivitás jelentősen befolyásolja a ROI termelődést intenzitástól függően. A kísérlet nem vizsgált részeként meg kell említeni az antioxidáns rendszer fontosságát. Természetesen a jelen kísérletben nem tudjuk megállapítani, hogy az úszás nem növelte a ROI termelődést vagy csak az antioxidáns rendszer dolgozott nagyobb hatásfokkal, és képes volt semlegesíteni a megnövekedett aerob kapacitás által termelt ROI-t. Számos megjelent kutatás enged arra következtetni, hogy a rendszeres fizikai aktivitás hatására antioxidáns rendszerek nagyobb hatásfokú

mechanizmussal jobban semlegesítik a termelődő szabadgyököket, amiben a sérülést javító rendszerek is szerepet játszhatnak. Ezeket az antioxidáns enzimeket azonban elsősorban az izomban vizsgálták (100, 87, 94).

Láthatjuk, hogy a csalán emellett fontos antioxidáns táplálék-kiegészítőként van jelen, hisz más irodalmi adatokhoz hasonlóan, ahol agyi területen a csalán extraktum antioxidáns hatását figyelték meg (141), mi is jelentős szabadelektron csökkenést tapasztaltunk a kisagyi és frontális kérgi szövetekben.

Az NF- κ B és az AP-1, olyan redox-szenzitív és oxidatív folyamatok által aktivált transzkriptor faktorok, melyek regulálják a gyulladáshoz kapcsolódó folyamatokban részt vevő gének expresszióját, sejtek közötti kommunikációt, sejt proliferációt és apoptózist is (13). Számos sejtmechanizmus képes aktiválni az NF- κ B-t köztük a citokininek, melyek elsősorban az NF- κ B komplex I- κ B, gátlófaktor összetevőjének hatását szüntetik meg, így aktiválják az NF- κ B-t (12). Az NF- κ B aktiválására képes a ROI termelődésének megnövekedése is, mely számos, a gyulladáshoz kapcsolódó fehérjék átírását indukálja (36). Úszás hatására nem találtunk változást az NF- κ B DNS-hez való kötődésének mértékében, azonban a kombinált csoportnál jelentős növekedést látunk, ami azért is meglepő, mert külön-külön a beavatkozások nem mutattak változást. Egy irodalmi adat szerint a csalán extraktum képes csökkenteni a gyulladáshoz kapcsolódó folyamatok progresszióját az I- κ B disszociációjának gátlásán keresztül (155), azonban mi nem találtunk változást az NF- κ B aktivitásában. A különbség a két kísérlet között a felhasznált csalán dózisában, az extraktum és a szárított csalán minőségében, és a különböző kísérleti beállításokban keresendő.

AP-1 transzkripció faktor homo és -heterodimerekből felépülő protein, mely tagja a Jun (c-Jun, c-Jun-B, c-Jun D) és Fos (c-Fos, Fos B, Fra-1 és Fra-2) azonnali korai válaszú gének (immediate early respond genes) családjának. Az AP-1 aktivitásának eredménye szorosan összefügg az AP-1 komplex dimerjeinek kombinációjától. Az NGF csökkenése a c-Jun és a foszforizált c-Jun mennyiségének növekedését eredményezi neuronkultúrákban, míg a domináns, negatív c-Jun izoform mikroinjektálása blokkolja a sejthalálózást, mely feltételezi, hogy az AP-1 aktivitása szükséges a neuronális

sejthalálózás folyamataihoz (75). Számos más irodalmi adatból tudjuk, hogy a JNK és c-Jun aktivitása a sejtpusztulásban számos mechanizmuson keresztül megtörténhet (trophikus faktorok csökkenése, DNS sérülés, oxidatív stressz, β -amiloid felszaporodás, és excitotoxikus stressz) (181).

Mivel kísérletünkben az AP-1 DNS-hez való kötődésének aktivitása szignifikánsan nőtt a csalán hatására, feltételezzük, hogy a csalán jelentős fiziológias szereppel bír a gyulladáson és apoptotikus folyamatok befolyásolásában. A csalán csökkenteni tudta a c-Jun aktivitását, de a hathetes rendszeres úszás volt a leghatásosabb a foszforizált c-Jun aktivitásának csökkentésében, mind az úszott, mind kombinált csoportban. Mivel a c-Jun fontos szerepet játszik az apoptózis folyamatában, feltételezni lehet, hogy mind a csalán, mind az úszás csökkenti az apoptózis kockázatát. Összefoglalásul az úszás, mint az NF-kB transzkripciós faktor aktivitásának növelője, és a c-Jun aktivitásának csökkentője valószínű antiapoptotikus hatással (8, 117) bír, míg a csalán az AP-1 aktivitásának növelésével és a c-Jun alulregulálásával szintén antiapoptotikus és a sejtek túlélését serkentő hatással rendelkezik (107).

A BDNF és NGF neurotrophikus faktorok protein mennyiségét teljes, jobb agyfélteke homogenizátumokból határoztuk meg. NGF és BDNF a két leghatásosabb neurotrofin, melyek a központi idegrendszerben játszanak fontos szerepet a memória és tanulási folyamatokban, az agyat érő inzultusokban, amely kategóriába tartoznak a léziós, excitotoxikus folyamatok is (118). Az akaratlagos mozgásról kimutatták, hogy felülregulálja a protein mennyiségét, és az mRNS szintjét ezeknek a trophikus faktoroknak (38), bár a jelen kísérletben mi nem voltunk képesek szignifikáns változást detektálni a BDNF vagy NGF protein mennyiségben. A különbségek adódhatnak az úszás és futás különbségéből, a futás effektívebbnek bizonyul a trophikus faktorok befolyásolásában (49), de más faktorok különbségéből is, mint a kor vagy a motiváció.

2.5. MEGBESZÉLÉS

A 2. fejezetben bemutatott kísérletben a rendszeres fizikai aktivitás, és a csalánnal kiegészített diéta preventív hatását vizsgáltuk az excitotoxikus NMDA

lézióban, különböző agyi területeken. A kísérlet legfontosabb eleme volt, hogy mind a csalán, mind a rendszeres úszás, de kiváltképp a két beavatkozás együttes hatása javítani tudta az NMDA lézió okozta magatartás érdeklődésbeli és aktivitásbeli nagymértékű csökkenését, valamint a kognitív funkciók és a memória romlását nem csak álműtött, de NMDA léziós állatoknál is. Ezeket a változásokat többé-kevésbé a mért biokémia markerek is támogatták.

A szövetek súlyának és az állatok tömegének monitorozása továbbá rámutatott arra, hogy a csecsemőmirigy, és a mellékvesék méretének hasonlósága miatt az úszás nem jelentett stressz helyzetet az állatoknak (65, 76). Az úszás természetesen csökkentette a zsírdepók méretét, amely pozitív élettani hatást feltételez, hiszen vékonyabb testalkatot eredményezett. Érdekes módon a csalánnal etetett állatok érték el a legnagyobb súlygyarapodást a kísérlet végére, ami nem volt összhangban a zsírdepók nagyságával. Ugyanis a kontroll állatok súlya jóval alacsonyabb volt a csalántáppal etetett állatokénál, de zsírdepók nagysága nem különbözött szignifikánsan egymástól. Megfigyeléseink szerint a csalántáppal etetett állatok sokkal mozgékonyabbak és aktívabbak voltak a normál táppal etetett párjaikhoz képest. Megfigyeléseinket nem tudjuk az irodalomhoz hasonlítani, mert eddig ilyen irányú kísérletek nem jelentek meg.

Az NMDA lézió a magatartási viselkedések közül legjobban az ágaskodások teljes számát tekintve csökkent, ami az állatok idegen környezetbe való kerülése hatására azt mutatta, hogy csökkent az explorációs tevékenységük, bátortalanabban és sokkal kevesebbet mozogtak az idegen térben. Ezt az irodalmi adatok is megerősítik, ahol az Open-field tesztben Harkány és munkatársai (81) idegesebb viselkedést és hipoaktivitást figyeltek meg az állatoknál NMDA lézió hatására. Evvel szemben azok az NMDA sérült állatok, amelyek csalánnal kiegészített diétán éltek ezt a visszafogottságot nem mutatták, és nem volt szignifikáns különbség köztük és álműtött párjaik között. Az úszás magában és csalánnal kombinálva is kivédte a lézió káros hatásait, így mindegyik NMDA műtött csoport hasonló értékeket mutatott, mint álműtött párjaik.

A kognitív, memóriai funkcióit vizsgáló passzív elhárítási teszt is hasonló képet mutatott. Itt a legegységelműbb, kiemelkedően pozitív változást az úszás eredményezte az

álműtött csoportnál, amely NMDA-t kivédő hatása a léziós csoportnál is megmutatkozott. Az irodalmi adatok szerint az NMDA műtött állatok kognitív funkciója jelentősen csökkent, melyet ugyanezen az agyi területen vizsgáltak, mint a jelen kísérletünkben (80). Hasonlóképp a csalán is jelentősen javított a kognitív funkciókon mind álműtött, mind léziós modellben.

Az eredményekből azt feltételezzük, hogy a léziós terület mérete kisebb volt az úszás és a csalán pozitív, preventív hatásainak következtében, vagy a két beavatkozás olyan funkcionális egyensúly eltolódást okozott a javító mechanizmusok irányába, mely az excitotoxikus lézió ellenére is gyorsan, hatásosan eliminálni tudta a neurodegeneratív behatás következményeit.

Az NMDA lézió hatására nőtt a szabad elektronok mennyisége a kisagy területén. A szabadgyökök termelődése részben következménye lehet a sérülés területén keletkező gyulladáshoz vezető reakcióknak is. Más kísérletek is jelentős gyulladáshoz vezető folyamatok létéről számoltak be hasonló típusú lézióknál (91, 18, 172), bár a kísérlet gyulladáshoz vezető transzkripciós faktora, az NF- κ B DNS-hez való kapcsolódásának aktivitása nem támasztotta alá a gyulladás jelenlétét. Az NMDA léziós csoport NF- κ B aktivitása nem különbözött az álműtött csoporttól. Az úszott álműtött csoportnál, a csalántípusú álműtött és a kombinált csoportok mindkét műtött formájában észleltünk jelentős csökkenést. Riehemann és munkatársai (155) hasonló eredményeket mutatott ki a csalán hatásaként, ahol a csalán extraktum csökkentette a gyulladás mértékét az NF- κ B aktivitásának gátlásán keresztül. Egy legutóbbi kísérlet olyan adatokat közöl támogatva eredményeinket, mely szerint az öregedéssel együtt jár a gyulladáshoz vezető folyamatok aktivátora, az NF- κ B aktivitásának növekedésével, melyet a rendszeres mozgás csökkenteni tud (145).

Az AP-1 transzkripciós faktor, ami szintén részt vesz a gyulladáshoz vezető folyamatok kialakulásának és progressziójának triggerelésében más képet mutatott, mint az NF- κ B aktivitása. Számos irodalom hivatkozik arra a tényre, hogy a JNK és c-Jun aktivitásának, melyek dimerei az AP-1-nek, és fontos szerepük van a neuronális sejtpusztulásban, melyet számos folyamat aktiválhat (trophikus faktorok termelésének

csökkenése, DNS sérülés gyakorisága, oxidatív stressz növekedése, β -amyloid fehérje felszaporodása az idegsejtek közötti térben, és excitotoxikus sérülés, mint a jelen kísérletben is) (1, 102). Mi esetünkben szintén növekedés figyelhető meg az AP-1 DNS-hez való kötődésének aktivitásában, mely arra enged következtetni, hogy az NMDA lézióknak volt gyulladáshoz vezető következménye, megjelenése. A csalán, illetve mozgás önmagában nem változtatott az AP-1 aktivitásán sem az álműtött, sem az NMDA léziót elszenvedett csoportoknál, de a két beavatkozás együttesen képes volt az NMDA lézió okozta AP-1 aktivitás növekedését csökkenteni, mely nem különbözött így a kombinált csoport álműtött kontrolljától. Így a csalán és az úszás együttes, jótékony hatása megmutatkozik a gyulladáshoz vezető folyamatokban is, és kivédi az NMDA lézió okozta gyulladást, valamint gátolja a gyulladáshoz vezető folyamatok szétterjedésért felelős enzimek, faktorok átírását. A csalán és az úszás együttes hatása részt vesz az anti-apoptotikus folyamatok regulációjában is, hiszen ezek a faktorok a programozott sejtpusztulás modulátorai.

Az NMDA lézió következménye volt ezen kívül, hogy növelte a szabad gyöktermelődést a kisagy területén, de mindegyik csoport NMDA műtött csoportjainak eredményei is emelkedést mutattak az álműtött párjaikhoz képest egy csoportot kivéve, ahol az úszás önmagában eliminálni tudta ezt a növekedést, és azonos eredményt mutatott az álműtött kontrolljához képest a frontális kéreg területén. Míg a kisagy területén a rendszeres úszás emelkedett szabadgyök mennyiséget jelölt, a frontális kéregben ez nem volt kimutatható. Az irodalomban számos példa létezik, mely növekedést mutat (31, 187), vagy nem talált változást (150). A csalán viszont mindkét agyi területen hasonló hatással bírt, és mindkét területen csökkentette az álműtött csalántápos és kombinált csoport szabad elektron termelődését is. Így a csalán jelentős antioxidáns hatással bíró gyógynövény, melyet az irodalomban megjelent publikáció is bizonyít (141).

A protein karbonil kötések mennyiségében nem sikerült szignifikáns változást találni, mely kötések a proteinsérülés markerei. Számos eredmény látott napvilágot, mely ok-okozati összefüggést talált a karbonilkötések, RCD mennyisége és az agyi funkciók csökkenése között (32, 63, 143). Kísérletünkben az a tendencia volt megfigyelhető,

hogy az excitotoxikus lézió emelte a protein sérülés mértékét, amit a csalán csökkenteni látszott mind a csalántápos, mind a kombinált NMDA csoportban, bár a változások nem voltak szignifikánsak.

A BDNF az egyik legfontosabb neurotrophikus faktor, melynek felülregulációja kognitív funkciók javulásával függ össze (38). Az agyi sérülések is szoros összefüggésben vannak a neurotrophikus faktorok fokozott termelődésével, hisz a neurotrophikus faktorok részt vesznek a sejtek túlélésének promotálásában, a sérült sejtek funkciójának visszaállításában (26, 52, 119). A BDNF aktiválásának faktorai közé sorolható az oxidatív stressz, az agyi lézió, de a gyulladásoz kaszpáz rendszerek aktivitása is (125). A kísérletünk BDNF karakterisztikája úgy változott, hogy az álműtött, NMDA léziós csoport párok értékei közel azonosak voltak. Maga az NMDA lézió nem mutatott jelentősebb növekedést az álműtött párjához képest, ami adódhat abból is, hogy a külső beavatkozásra rendkívül szenzitív neurotrophin mennyisége azonos módon emelkedett a léziós párjával együtt. Mégis jelentős növekedés az úszott, NMDA léziós csoportban volt kimutatható, valamint érdekes módon a csalántáppal etetett csoport mind álműtött, mind NMDA operált csoportja azonos, a legnagyobb mértékű emelkedést produkálta az agyi homogenát mintákban. Az úzás hatására nem találtunk emelkedést a BDNF szintben, bár számos tanulmány ennek növekedését mutatta ki a kognitív funkciók javulásával együtt futás hatására (90). Az úzás hatása ebben az összefüggésben eddig nem tisztázott.

Az NGF protein koncentrációja nem változott szignifikánsan a csoportokon belül, ami számos protein koncentrációval foglalkozó cikkben hasonló eredményeket hozott (140, 183). Szignifikáns változást a kísérletekben csak az NGF mRNS aktivitásában találtak, illetve receptorok számában, mely szerint a mozgás emelte az NGF és TrkA receptorok expresszióját (7, 134), és az öregedés okozta neurodegeneratív sérülés mellett sem csökkent az NGF szintje (106). A jelen eredmények karakterisztikája szerint azonban az NMDA lézió kissé emelte az NGF koncentrációt, melyet az úzás csökkentett. Az álműtött állatokon az úzás és a csalán is kisebb növekedést eredményezett, amely változások azonban nem voltak szignifikánsak.

6. KÖVETKEZTETÉSEK

A hathetes rendszeres úszás és a csalánnal kiegészített táplálkozás hatásait vizsgáltuk hím Wistar patkányokon az agyi funkciók oxidatív, gyulladásos és neurotrophikus folyamatain keresztül. Jelen fejezetben tárgyalt kísérlet arra enged következtetni, hogy mind a csalán, mind a rendszeres úszás befolyásolja a fiziológiás agyi funkciókat. A rendszeres úszás nem csökkentette a szabadgyökök mennyiségét, mint ahogy azt feltételeztük, azonban a csalán effektívnek bizonyult a ROI mennyiségének csökkentésében, és növelte az AP-1 transzkripciós faktor DNS-hez való kötődésének aktivitását. Feltételezzük, hogy a csalán antioxidáns és antiapoptotikus hatással bíró gyógynövény. Az úszás alulregulálta a c-jun aktivitását, és a kombinált kezelésben részt vett csoportnál felülregulálta az NF-kB DNS-hez való kötődésének aktivitását, így valószínűleg szintén szerepet játszhat az antiapoptotikus mechanizmusokban. Ezen folyamatok vizsgálata mellett felmerül a kérdés, hogy vajon a tapasztalatok azt mutatják, hogy a szervezet egyensúlya az anti-apoptotikus, antioxidáns irányba tolódott-e el. Ha ez lehetséges, akkor mind a csalán, mind a rendszeres mozgás képes egy későbbi agyi károsodás kivédésére is. Azonban ezen kérdések megválaszolására a jelen biokémia mechanizmusok további részletes vizsgálata szükséges.

A 8-9 hetes rendszeres úszás és a csalánnal kiegészített táplálkozás preventív hatásait vizsgáltuk NMDA léziót okozó modellnél hím Wistar patkányokon az agyi funkciók oxidatív, gyulladásos és neurotrophikus folyamatain keresztül. A kísérleti eredményekből arra következtethetünk, hogy a csalán csökkenti az oxidatív stressz mértékét, és az NF-kB, transzkripciós faktor DNS-hez való kötődését csökkentve gátolja gyulladásos folyamatok progresszióját. Az eredményeink tükrében elmondhatjuk, hogy a csalán jelentős antioxidáns, gyulladáscsökkentő, a kognitív funkciókat segítő, és az agyi területeken a sejtek túlélését promotáló gyógynövény. A mozgás viszont a kisagyban a szabadgyök termelő hatásán kívül, csökkenteni képes a neurodegeneratív folyamatok szabadgyök termelődését a frontális kérgi szövetben, valamint szerepet játszik az agyi neurotrophinok regulációjában, mely kapcsán javítja az

agyi lézió okozta magatartásos és kognitív folyamatok romlását. Mindkét természetes kezelés effektív prevenció megoldásnak bizonyult az agyi neurodegeneratív folyamatokban.

Így a hipotézisek sorrendjét követve azon feltételezésünk, mely szerint:

a, a rendszeres úszás nem okoz jelentősebb stresszhatást az állatok számára, a szervsúlyváltozásokból meghatározva igaznak bizonyult.

b, a csalán antioxidáns hatással bír, míg az úszás csökkentheti a ROI mennyiségét, csak részben bizonyult igaznak. A csalán jelentős antioxidáns hatással bír, de az úszás nem eredményezett változást a ROI mennyiségében természetes körülmények között.

c, az úszás képes serkenteni az agyi neurotrophikus faktorok működését nem igazolódott be, hisz sem az NGF, sem a BDNF mennyiségében nem találtunk szignifikáns különbséget.

d, a csalán csökkenti a gyulladáshoz vezető transzkripciós faktorok DNS-hez való kötődését, és gyulladásgátló hatással bír, a c-jun faktorra igaznak bizonyult, de az NF-kB DNS-hez való kapcsolódásának aktivitásában nem mutatott különbséget, míg az AP-1-nél szignifikáns növekedést eredményezett.

e, a két beavatkozás képes egymás hatását erősítve pozitív irányba befolyásolni a feltételezett változásokat, természetes körülmények között nem igazolódott be természetes körülmények között.

Ezen kívül az NMDA léziós modellnél az a feltételezésünk, mely szerint:

f, a rendszeres edzés hatására a kísérleti állatok jobb eredményt érnek el az agyi funkciókat mérő tesztekben, mint a kontroll állatok, mind a magatartásos, mind a kognitív tesztekben igaznak bizonyult.

g, az NMDA-lézió rontja az agyi funkciókat, s kedvező hatást vártunk a csalánnal kiegészített diétától és a testedzéstől is, beigazolódott, és az NMDA lézió jelentős magatartásbeli, és tanulási képességbeli romlást okozott, melyre mind a csalán, mind az edzettség pozitív hatással bírt.

h, a csalánnal kiegészített diéta antioxidáns hatása miatt kedvező irányba változnak az agyi funkciók, mely abban az értelemben igaznak bizonyult, hogy javultak a magatartásbeli, tanulási képességek, csökkent az oxidatív stressz mértéke, a gyulladási transzkripciós faktorok NF- κ B-n keresztüli átírása csökkent és a BDNF mennyisége növekedett.

i, a rendszeres úszás és a csalánnal kiegészített diéta együttes alkalmazása fokozottan csökkenti az NMDA lézió okozta negatív változások mértékét, részben bizonyult igaznak, ugyanis jelentős változást csak az inflammációs transzkripciós faktorok aktivitásánál észleltünk.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Ezúton is köszönetet szeretnék mondani témavezetőmnek, Dr. Radák Zsoltnak a támogatásáért és az útmutatásért, valamint Dr. Nyakas Csabának, akitől nagyon sok segítséget kaptam a kísérletekben és a tudásom gazdagításában is. Köszönöm a kísérlet biokémiai részében nyújtott segítségét Stadler Krisztiánnak, Jakus Juditnak, Kyung J. Jung-nak, Hae Y. Chung-nak. Külön köszönetet mondok Dr. Sasvári Máriának, John Albinnének, Gellér Lászlónének, Flórián Sz. Évának, Farkas Imrénének, Zobák Ferencnének az asszisztálásért és kitartó munkájukért. A kísérletek szponzorizációja Dr. Radák Zsolt és Prof. Dr. Nyakas Csaba OTKA 38388, 42629 és ETT 025/2003, 407/2003 magyar pályázati pénzeiből történt.

IRODALOMJEGYZÉK

1. Abate C., L. Patel, F. J. Rauscher III, T. Curran. 1990. Redox regulation of fos and jun DNA-binding activity in vitro. *Science*, 249:1157–1161.
2. Abdulla F.A., M.R. Calaminici, V.V. Raevsky, J.D. Sinden, J.A. Gray, J.D. Stephenson. 1994. An iontophoretic study of the effects of alpha-amino-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole propionic acid lesions of the nucleus basalis magnocellularis on cholinergic and GABAergic influences on frontal cortex neurones of rats. *Experimental Brain Research*, 98:441-456.
3. Ader R. 1973. Effects of early experiences on shock-and illness-induced passive avoidance behaviors. *Developmental Psychobiology*, 6:547-555.
4. Adlard P.A., V.M. Perreau, C.W. Cotman. 2005. The exercise-induced expression of BDNF within the hippocampus varies across life-span. *Neurobiology of Aging*, 26:511-520.
5. Aikawa K.M., A.T. Quintanilha, B.O. de Lumen, G.A. Brooks, L. Packer. 1984. Exercise endurance-training alters vitamin E tissue levels and red-blood-cell hemolysis in rodents. *Bioscience Report*, 4:253-257.
6. Allardice P. 1993. A–Z of companion planting. London: Cassell Publishers Ltd.
7. Ang E.T., P.T. Wong, S. Moochhala, Y.K. Ng. 2003. Neuroprotection associated with running: is it a result of increased endogenous neurotrophic factors? *Neuroscience*, 118:335-345.
8. Aoi W., Y. Naito, Y. Takanami, Y. Kawai, K. Sakuma, H. Ichikawa, N. Yoshida, T. Yoshikawa. 2004. Oxidative stress and delayed-onset muscle damage after exercise, *Free Radical Biology and Medicine*, 37:480– 487.
9. Aronson D., M.D. Boppart, S.D. Dufresne, R.A. Fielding, L.J. Goodyear. 1998. Exercise stimulates c-Jun NH2 kinase activity and c-Jun transcriptional activity in human skeletal muscle. *Biochemistry and Biophysics Research Communications*, 251:106-110.
10. Asami S., T. Hirano, R. Yamaguchi, H. Itoh, H. Kasai. 1998. Reduction of 8-hydroxyguanine in human leukocyte DNA by physical exercise. *Free Radical Research*, 29:581-584.

11. Asmus K.D., M. Bonifacic. 2000. Free radical chemistry. In: Handbook of Oxidants and Antioxidants in Exercise. Sen C.K., L.Packer and O.P. Hänninen (eds.), Elsevier, Chapter 1. pp. 3-56.
12. Baeuerle P.A. 1998. IkappaB-NF-kappaB structures: at the interface of inflammation control. *Cell*, 95:729-731.
13. Baeuerle P.A., T. Henkel. 1994. Function and activation of NF-kappa B in the immune system. *Annual Review of Immunology*, 12:141-179.
14. Bartheld Von C.S., Y. Kinoshita, D. Prevette. 1994. Positive and negative effects of neurotrophins on the isthmo-optic nucleus in chick embryos. *Neuron*, 12:639-654.
15. Beal MF. 1996. Mitochondria, free radicals, and neurodegeneration. *Current Opinoin in Neurobiology*, 6:661-666.
16. Benveniste H., J. Drejer, A. Schousboe, N.H. Diemer. 1984. Elevation of the extracellular concentrations of glutamate and aspartate in rat hippocampus during transient cerebral ischemia monitored by intracerebral microdialysis. *Journal of Neurochemistry*, 43:1369-1374.
17. Blázovics A., J. Fehér. 2001. Az oxidatív stressz és a máj. In: *Hepatológia*, J. Fehér és G. Lengyel (szerk.) 3. Fejezet. Medicina Kiadó, Budapest.
18. Block F., M. Loos, C. Frohn, M. Schwarz. 2004. Association between inflammation and nigral neuronal damage following striatal excitotoxic lesion. *Brain Research*, 998:29-35.
19. Block G., B. Patterson, A. Subar. 1992. Fruit, vegetables, and cancer prevention: a review of the epidemiological evidence. *Nutrition and Cancer*. 18:1-29.
20. Bnouham M., F.Z. Merhfour, A. Ziyat, H. Mekhfi, M. Aziz, A. Legssyer. 2003. Antihyperglycemic activity of the aqueous extract of *Urtica dioica*. *Fitoterapia*, 74:677-681.
21. Bowling A.C., M.F. Beal. 1995. Bioenergetic and oxidative stress in neurodegenerative diseases. *Life Science*, 56:1151-1171.
22. Bown D. 1995. *Encyclopaedia of herbs and their uses*. London: Dorling Kindersley.

23. Berchtold N.C., J.P. Kesslak, C.W. Cotman. 2002. Hippocampal brain-derived neurotrophic factor gene regulation by exercise and the medial septum. *Journal of Neuroscience Research*, 68:511-521.
24. Broer J., B. Behnke. 2002. Immunosuppressant effect of IDS30, a stinging nettle leaf extract, on myeloid dendritic cells in vitro. *Journal of Rheumatology* 4:656-658.
25. Bronner L.L., D.S. Kanter, J.E. Manson. 1995. Primary prevention of stroke. *New England Journal Medicine*, 333: 1392-1400.
26. Budd S.L., D.G. Nicholls. 1998. Mitochondria in the life and death of neurons. *Essays Biochemistry*, 33:43-52.
27. Bursch W., F. Oberhammer, R. Schulte-Hermann. 1992. Cell death by apoptosis and its protective role against disease. *Trends in Pharmacological Sciences*, 13:245-251.
28. Cannon J.G., B.A. St Pierre. 1998. Cytokines in exertion-induced skeletal muscle injury. *Molecular Cellular Biochemistry*, 179:159-167.
29. Cannon J.G., M.A. Fiatarone, M. Meydani, J. Gong, L. Scott, J.B. Blumberg, W.J. Evans. 1995. Aging and dietary modulation of elastase and interleukin-1 beta secretion. *American Journal of Physiology*, 268:R208-213.
30. Canossa M., A. Gartner, G. Campana. 2001. Regulated secretion of neurotrophins by metabotropic glutamate group I (mGluRI) and Trk receptor activation is mediated via phospholipase C signalling pathways. *EMBO Journal*, 20:1640-1650.
31. Carmeli E., G. Lavian, A.Z. Reznick. 2000. The role of antioxidant nutrition in exercise and aging. In: *Free Radicals in Exercise and Aging*, Zs. Radák. (ed.), Chapter 3. pp.73-116.
32. Carney J.M., PE Starke-Reed, CN Oliver, RW Landum, MS Cheng, JF Wu, RA.Floyd. 1991. Reversal of age-related increase in brain protein oxidation, decrease in enzyme activity, and loss in temporal and spatial memory by chronic administration of the spin-trapping compound N-tert-butyl-alpha-phenylnitron. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 88:3633-3636.

33. Ceballos I., F Javoy-Agid, A Delacourte, A Defossez, M Lafon, E Hirsch, A Nicole, PM Sinet, Y. Agid. 1991. Neuronal localization of copper-zinc superoxide dismutase protein and mRNA within the human hippocampus from control and Alzheimer's disease brains. *Free Radical Research Communications*, 2:571-280.
34. Chandwaney R., S. Leichtweis, C. Leeuwenburgh, L.L. Ji. 1998. Oxidative stress and mitochondrial function in skeletal muscle: effects of aging and exercise training. *Age*, 21:109-117.
35. Chang L., M. Karin. 2001. Mammalian MAP kinase signalling cascades. *Nature* 410:37-40.
36. Conner E.M., M.B. Grisham. 1996. Inflammation, free radicals, and antioxidants. *Nutrition*, 12:274-277.
37. Cortopassi G.A., A. Wong. 1999. Mitochondria in organismal aging and degeneration. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1410:183-193.
38. Cotman C.W., N.C. Berchtold. 2002. Exercise: a behavioral intervention to enhance brain health and plasticity. *Trends in Neuroscience*, 25:295-301.
39. Coyle J.T., P. Puttfarcken. 1993. Oxidative stress, glutamate, and neurodegenerative disorders. *Science*, 262:689-695.
40. Cunningham M.E., L.A. Greene. 1998. A function-structure model for NGF-activated TRK. *EMBO Journal*, 17:7282-7293.
41. Cutler R.G. 1991. Human longevity and aging: possible role of reactive oxygen species. *Annals NY Academy Sciences*, 621:1-28.
42. Datta S.R., A. Brunet, and M.E. Greenberg. 1999. Cellular survival: a play in three Acts. *Genes Development*, 13:2905-2927.
43. Davies A.M. 1997. Neurotrophins: The yin and yang of nerve growth factor. *Current Biology*, 7:R38-R40.
44. Davies K.J., A.T. Quintanilha, G.A. Brooks, L. Packer. 1982. Free radicals and tissue damage produced by exercise. *Biochemistry and Biophysics Research Communications*, 107:1198-1205.
45. Davies K.J.A. 1986. Intracellular proteolytic system may function as secondary antioxidant defense: A Hypothesis. *Free Radical Biology and Medicine*, 2:155-173.

46. Davis R. J. 2000. Signal transduction by the JNK group of MAP kinases. *Cell*, 103:239–252.
47. Dechant G. 2001. Molecular interactions between neurotrophin receptors. *Cell Tissue Research*, 305:229-238.
48. DiDonato J.A., M. Hayakawa, D. Rothwarf, E. Zandi, M. Karin. 1997. A cytokine-responsive IkappaB kinase that activates the transcription factor NF-kappaB. *Nature* 388:548-554.
49. Ding Y., J. Li, X. Luan, Y.H. Ding, Q. Lai, J.A. Rafols, J.W. Phillis, J.C. Clark, F.G. Diaz. 2004. Exercise pre-conditioning reduces brain damage in ischemic rats that may be associated with regional angiogenesis and cellular overexpression of neurotrophin. *Neuroscience*, 124:583–591.
50. Duan W., V.M. Rangnekar, M.P. Mattson. 1999. Prostate apoptosis response-4 production in synaptic compartments following apoptotic and excitotoxic insults: evidence for a pivotal role in mitochondrial dysfunction and neuronal degeneration. *Journal of Neurochemistry*, 72:2312-2322.
51. Duan W., Z. Zhang, D.M. Gash, M.P. Mattson. 1999. Participation of prostate apoptosis response-4 in degeneration of dopaminergic neurons in models of Parkinson's disease. *Annals in Neurology*, 46:587-597.
52. Dugan L.L., D.J. Creedon, E.M. Johnson. 1997. Rapid suppression of free radical formation by nerve growth factor involves the mitogen-activated protein kinase pathway. *Proceedings in National Academy of Science USA*, 94:4086-4091.
53. Duncan K., S. Harris, C.M. Ardies. 1997. Running exercise may reduce risk for lung and liver cancer by inducing activity of antioxidant and phase II enzymes. *Cancer Letters*, 116:151-158.
54. Dunn C., C. Wiltshire, A. MacLaren, D. A. Gillespie. 2002. Molecular mechanism and biological functions of c-Jun N-terminal kinase signalling via the c-Jun transcription factor. *Cell Signalling*, 14:585–593.
55. Eckstein F.P., R.W. Baughman, J. Quinn. 1988. An anatomical study of cholinergic innervation in rat cerebral cortex. *Neuroscience*, 25:457-474.
56. Evans P.H. 1993. Free radicals in brain metabolism and pathology. *British Medical Bulletin*. 49:577-587.

57. Farooqui A.A., LA. Horrocks. 1991. Excitatory amino acid receptors, neural membrane phospholipid metabolism and neurological disorders. *Brain Research Reviews*, 16:171-191.
58. Farzami B., D. Ahmadvand, S. Vardasbi, F.J. Majin, Sh. Khaghani. 2003. Induction of insulin secretion by a component of *Urtica dioica* leave extract in perfused Islets of Langerhans and its in vivo effects in normal and streptozotocin diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 89:47-53.
59. Fenton H.J.H. 1894. Oxidation of tartaric acid in presence of iron. *Journal of the Chemical Socitey Transactions*, 65:899-910.
60. Fiebig R., M. Gore, R. Chandwaney, C. Leeuwenburgh, L.L. Ji. 1996. Alteration of myocardial antioxidant enzyme activity and glutathione content with aging and exercise training. *Age*, 19:83-89.
61. Fitts R.H., J.P. Troup, F.A. Witzmann, J.O. Holloszy. 1984. The effect of ageing and exercise on skeletal muscle function. *Mechanisms of Ageing and Development*, 27:161-172.
62. Flohe L., R. Brigelius-Flohe, C. Saliou, M.G. Traber, L. Packer. 1997. Redox regulation of NF-kappa B activation. *Free Radical Biology and Medicine*. 22:1115-1126.
63. Forster M.J., A. Dubey, K.M. Dawson, W.A. Stutts, H. Lal, R.S. Sohal. 1996. Age-related losses of cognitive function and motor skills in mice are associated with oxidative protein damage in the brain. *Proceedings National Academy of Science U S A*, 93:4765-4769.
64. Fries J.F. 1996. Physical activity, the compression of morbidity, and the health of the elderly. *Journal of Royal Society of Medicine*, 89:64-68.
65. Fry R.W., A.R. Morton, D. Keast. 1991. Overtraining in athletes: an update. *Sports Medicine*, 12:32-65.
66. Garthwaite G., J. Garthwaite. 1986. Neurotoxicity of excitatory amino acid receptor agonists in rat cerebellar slices: dependence on calcium concentration. *Neuroscience Letters*, 66:193-198.

67. Gath I., E.I. Closs, U. Godtel-Armbrust, S. Schmitt, M. Nakane, I. Wessler, U. Forstermann. 1996. Inducible NO synthase II and neuronal NO synthase I are constitutively expressed in different structures of guinea pig skeletal muscle: implications for contractile function. *FASEB J* 10:1614-1620.
68. Ghosh S., M.J. May, E.B. Kopp. 1998. NF-kappa B and Rel proteins: evolutionarily conserved mediators of immune responses. *Annual Reviews of Immunology*, 16:225-260.
69. Gohil K., L. Rothfuss, J. Lang, L. Packer. 1987. Effect of exercise training on tissue vitamin E and ubiquinone content. *Journal of Applied Physiology*, 63:1638-1641.
70. Goto S., M. Yoshikawa, K. Yamada, Y. Ushio. 1995. Survival of neurons containing the enzyme nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADPH) diaphorase in static slice cultures of adult rat striatum. *Neuroscience Letters*, 195:129-132.
71. Guil-Guerrero J.L., I. Rodriguez-Garcia. 1999. Lipids classes, fatty acids and carotenes of the leaves of six edible wild plants. *European Food Research and Technology*, 209:313–316.
72. Gupta S., T. Barrett, A. J. Whitmarsh, J. Cavanagh, H. K. Sluss, B. Derijard, R. J. Davis. 1996. Selective interaction of JNK protein kinase isoforms with transcription factors. *EMBO Journal*, 15:2760–2770.
73. Haber F., J. Weiss. 1934. The catalytic decomposition of hydrogen peroxide by iron salts. *Proceedings of the Royal Society of London, Series A. Mathematical and Physical sciences*, 147:332-351.
74. Halliwell B., J.M. Gutteridge. 1985. The importance of free radicals and catalytic metal ions in human diseases. *Molecular Aspects of Medicine*, 8:89-193.
75. Ham J., C. Babij, J. Whitfield, C.M. Pfarr, D. Lallemand, M. Yaniv, L.L. Rubin. 1995. A c-Jun dominant negative mutant protects sympathetic neurons against programmed cell death. *Neuron*, 14:927-939.
76. Hamlin M.J., J.P. Shearman, W.G. Hopkins. 2002. Changes in physiological parameters in overtrained Standardbred racehorses. *Equine Veterinary Journal*, 34:383-388.

77. Hammeren J., S. Powers, J. Lawler, D. Criswell, D. Martin, D. Lowenthal, M. Pollock. 1992. Exercise training-induced alterations in skeletal muscle oxidative and antioxidant enzyme activity in senescent rats. *International Journal of Sports Medicine*, 13:412-416.
78. Hansford R.G. 1983. Bioenergetics in aging. *Biochimica et Biophysica Acta*, 726:41-80.
79. Hansford R.G., F. Castro. 1982. Age-linked changes in the activity of enzymes of the tricarboxylate cycle and lipid oxidation, and of carnitine content, in muscles of the rat. *Mechanisms of Aging Development*, 19:191-200.
80. Harkany T., I.M. Dijkstra, B.J. Oosterink, K.M. Horvath, I. Abraham, J. Keijser, E.A. Van der Zee, P.G. Luiten. 2001. Oral post-lesion administration of 5-HT(1A) receptor agonist repinotan hydrochloride (BAY x 3702) attenuates NMDA-induced delayed neuronal death in rat magnocellular nucleus basalis. *Neuroscience*. 108:629-642.
81. Harkany T., J. Mulder, K.M. Horvath, J. Keijser, E.K. van der Meeberg, C. Nyakas, P.G. Luiten. 2000. Increased amyloid precursor protein expression and serotonergic sprouting following excitotoxic lesion of the rat magnocellular nucleus basalis: neuroprotection by Ca(2+) antagonist nimodipine. *Neuroscience*, 101:101-114.
82. Harman D. 1956. Aging: A theory based on free radical and radiation chemistry. *Journal of Gerontology*, 11:298-300.
83. Hattori M., A. Tugores, L. Veloz, M. Karin, D.A. Brenner. 1990. A simplified method for the preparation of transcriptionally active liver nuclear extracts DNA. *Cell Biology*, 9:777-781.
84. Hayashi M. 2004. Molecular mechanisms for the development and aging of the primate central nervous system. *Nihon Shinkei Seishin Yakurigaku Zasshi*, 24:193-198.
85. Hibi M., A. Lin, T. Smeal, A. Minden, M. Karin. 1993. Identification of an oncoprotein- and UV-responsive protein kinase that binds and potentiates the c-Jun activation domain. *Genes Development*, 7:2135-2148.

86. Ho R.C., M.F. Hirshman, Y. Li, D. Cai, J.R. Farmer, W.G. Aschenbach, C.A. Witzak, S.E. Shoelson, L.J. Goodyear. 2005. Regulation of I{kappa}B kinase and NF- κ B in contracting adult rat skeletal muscle. *American Journal of Physiology and Cell Physiology*, nyomatásban
87. Hollander J., J. Bejma, T. Ookawara, H. Ohno, L.L. Ji. 2000. Superoxide dismutase gene expression: fiber-specific effect of age. *Mechanical Ageing Development*, 116:33-45.
88. Hollander J., R. Fiebig, M. Gore, T. Ookawara, H. Ohno, L.L. Ji. 2001. Superoxide dismutase gene expression is activated by a single bout of exercise in rat skeletal muscle. *Pflugers Archives*, 442:426-434.
89. Holtzman D.M., Y. Li, and L.F. Parada. 1992. p140trk mRNA marks NGF-responsive forebrain neurons: evidence that trk gene expression is induced by NGF. *Neuron*, 9:465-478.
90. Hutchinson K.J., F. Gomez-Pinilla, M.J. Crowe, Z. Ying, D.M. Basso. 2004. Three exercise paradigms differentially improve sensory recovery after spinal cord contusion in rats. *Brain*, 127:1403-1414.
91. Iravani M.M., L. Liu, S. Rose, P. Jenner. 2004. Role of inducible nitric oxide synthase in N-methyl-d-aspartic acid-induced strio-nigral degeneration. *Brain Research*, 1029:103-113.
92. Jackson M.J. 2000. Exercise and oxygen radical production by muscle. In: *Handbook of Oxidants and Antioxidants in Exercise*. Sen C.K., L.Packer and O.P. Hänninen (eds.), Elsevier, Chapter 2. pp. 57-68.
93. Jackson M.L., R.H.T Edwards, M.C.R. Symons.1985. Electron spin resonance studies of intact mammalian skeletal muscle. *Biochimica et Biophysica Acta*, 847: 185-190.
94. Jenkins R.R. 1983. The role of superoxide dismutase and catalase in muscle fatigue. In: *Biochemsitry of exercise*. H.G Knuttgen, J.A. Vogel, J. Portmans (eds.) 467-471. Human Kinetics, Champaign, IL.
95. Ji L.L. 1993. Antioxidant enzyme response to exercise and aging. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 25:225-231.

96. Ji L.L. 1995. Exercise and oxidative stress: role of the cellular antioxidant systems.
Exercise Sport Science Review, 23:135-166.
97. Ji L.L. 2001. Exercise at old age: does it increase or alleviate oxidative stress?
Annals of NY Academy Science, 928:236-247.
98. Ji L.L., D. Dillon, E. Wu. 1990. Alteration of antioxidant enzymes with aging in rat skeletal muscle and liver.*American Journal of Physiology*, 258:R918-923.
99. Ji L.L., E. Wu, DP. Thomas. 1991. Effect of exercise training on antioxidant and metabolic functions in senescent rat skeletal muscle. *Gerontology*, 37:317-325.
100. Ji L.L., F.W. Stratman and H.A. Lardy. 1988a. Antioxidant enzyme systems in rat liver and skeletal muscle. Influences of selenium deficiency, chronic training and acute exercise. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 263: 150-160.
101. Ji L.L., J. Hollander. 2000. Antioxidant defense: Effects of aging and exercise. In: *Free Radicals in Exercise and Aging*, Radák Zs. (ed.), Human Kinetics, Chapter 2. pp.35-72.
102. Johnson P. F., S. L. McNight. 1989. Eukaryotic transcriptional regulatory proteins. *Annual Reviews of Biochemistry*. 58:799–839.
103. Kadenbach B., C. Munscher, V. Frank, J. Muller-Hocker, J. Napiwotzki. 1995. Human aging is associated with stochastic somatic mutations of mitochondrial DNA. *Mutation Research*, 338:161-172.
104. Kim J., S.P. Sanders, E.S. Siekierski, V. Casolaro, D. Proud. 2000. Role of NF-kappa B in cytokine production induced from human airway epithelial cells by rhinovirus infection. *Journal of Immunology*, 165:3384-3392.
105. Knusel B., D.R. Kaplan, F. Hefti. 1996. Intraparenchymal NGF injections in adult and aged rats induce long-lasting Trk tyrosine phosphorylation. *Experimental Neurology* 139:121-130.
106. Kordower J.H., M. Burke-Watson, J.D. Roback, B.H. Wainer. 1992. Stability of septohippocampal neurons following excitotoxic lesions of the rat hippocampus. *Experimental Neurology*, 117:1-16.

107. Krause A., H. Holtmann, S. Eickemeier, R. Winzen, M. Szamel, K. Resch, J. Saklatvala, M. Kracht. 1998. Stress-activated protein kinase/Jun N-terminal kinase is required for interleukin (IL)-1-induced IL-6 and IL-8 gene expression in the human epidermal carcinoma cell line KB. *Journal of Biological Chemistry*, 273:23681–23689.
108. Larsson L. 1998. The age-related motor disability: underlying mechanisms in skeletal muscle at the motor unit, cellular and molecular level. *Acta Physiologica Scandinavica*, 163:S27-29.
109. Leeuwenburgh C., R. Fiebig, R. Chandwaney, L.L. Ji. 1994. Aging and exercise training in skeletal muscle: responses of glutathione and antioxidant enzyme systems. *American Journal of Physiology*, 267:R439-445.
110. Lehmann J., J. I. Nagy, S. Atmadja, H. C. Fibiger. 1980. The nucleus basalis magnocellularis: the origin of a cholinergic projection to the neocortex of the rat. *Neuroscience*, 5:1161-1174.
111. Leichtweis S.B., C. Leeuwenburgh, D.J. Parmelee, R L.L. Fiebig, L.L. Ji. 1997. Rigorous swim training impairs mitochondrial function in post-ischaemic rat heart. *Acta Physiologica Scandinavica*, 160:139-148.
112. Levine R.L., J.A. Williams, E.R. Stadtman, E. Shacter. 1994. Carbonyl assays for determination of oxidatively modified proteins. *Methods in Enzymology*, 233:346-357.
113. Logroscino G., Marder L.K. Cote, M.X. Tang, S. Shea, R. Mayeux. 1996. Dietary lipids and antioxidants in Parkinson's disease: a population-based, case-control study. *Annals in Neurology*, 39:89-94.
114. Luhtala T.A., E.B. Roecker, T. Pugh, R.J. Feuers, R. Weindruch. 1994. Dietary restriction attenuates age-related increases in rat skeletal muscle antioxidant enzyme activities. *Journal of Gerontology*, 49:B231-238.
115. Luiten P.G., B.R. Douma, E.A. Van der Zee, C. Nyakas. 1995. Neuroprotection against NMDA induced cell death in rat nucleus basalis by Ca²⁺ antagonist nimodipine, influence of aging and developmental drug treatment. *Neurodegeneration*, 4:307-314.

116. Lukiw W.J., N.G. Bazan. 1998. Strong nuclear factor-kappaB-DNA binding parallels cyclooxygenase-2 gene transcription in aging and in sporadic Alzheimer's disease superior temporal lobe neocortex. *Journal of Neuroscience Research*, 53:583-592.
117. Manna S.K., A. Mukhopadhyay, B.B. Aggarwal. 2000. Resveratrol Suppresses TNF-Induced Activation of Nuclear Transcription Factors NF-kB, Activator Protein-1, and Apoptosis: Potential Role of Reactive Oxygen Intermediates and Lipid Peroxidation. *Journal of Immunology*, 164:509–6519.
118. Marmigere F., L. Givalois, F. Rage, S. Arancibia, L. Tapia-Arancibia. 2003. Rapid induction of BDNF expression in the hippocampus during immobilization stress challenge in adult rats. *Hippocampus*, 13:646-655.
119. Martin L.J. 2001. Neuronal cell death in nervous system development, disease, and injury. *International Journal of Molecular Medicine*, 7:455-478.
120. Martinez-Para M.C., F. Fidanza, M.E. Torija-Isasa. 1980. La ortiga en la alimentacion. (III) Ascorbic acid. *Anales de Bromatologia*, 32:295 –298.
121. Martinez-Para M.C., F. Fidanza, M.E. Torija-Isasa. 1980b. La ortiga en la alimentacion. (V) Estudio de la proteina. *Anales de Bromatologia*, 32:309 –314.
122. Marzatico F., O. Pansarsa, L. Bertorelli, L. Somenzini, G. Della Valle. 1997. Blood free radical antioxidant enzymes and lipid peroxides following long-distance and lactacidemic performances in highly trained aerobic and sprint athletes. *Journal of Sports Medicine and Physical Fitness*, 37:235-239.
123. Matsuo M., T. Kaneko. 2000. The chemistry of reactive oxygen specieses and related free radicals. In: *Free Radicals in Exercise and Aging*, Zs. Radák (ed.), Human Kinetics, Chapter 1. pp.1-34.
124. Mattson M.P. 1992. Calcium as sculptor and destroyer of neural circuitry. *Experimental Gerontology*, 27:29-49.
125. Mattson M.P. 2000. Neuroprotective signaling and the aging brain: take away my food and let me run. *Brain Research*, 886:47-53.
126. Mayeux R., R. Costa, K. Bell, C. Merchant, M.X. Tung, D. Jacobs. 1999. Reduced risk of Alzheimer's disease among individuals with low calorie intake. *Neurology*, 59:S296-S297.

127. Mayhew M., M. Renganathan, O. Delbono. 1998. Effectiveness of caloric restriction in preventing age-related changes in rat skeletal muscle. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 251:95-99.
128. McDonald N.Q., M.V. Chao. 1995. Structural determinants of neurotrophin action. *Journal of Biological Chemistry*, 270:19669-19672.
129. Mechta-Grigoriou F., D. Gerald, M. Yaniv. 2001. The mammalian Jun proteins: redundancy and specificity. *Oncogene*, 20:2378-2389.
130. Meyer M., R. Schreck, P.A. Baeuerle. 1993. H₂O₂ and antioxidants have opposite effects on activation of NF-kappa B and AP-1 in intact cells: AP-1 as secondary antioxidant-responsive factor. *EMBO Journal*, 12:2005-2015.
131. Musti A. M., M. Treier, D. Bohmann. (1997) Reduced ubiquitin-dependent degradation of c-Jun after phosphorylation by MAP kinases. *Science*, 275: 400–402.
132. Nakamura A., S. Goto. 1996. Analysis of protein carbonyls with 2,4-dinitrophenylhydrazine and its antibodies by immunoblot in two-dimensional gel electrophoresis. *Journal of Biochemistry, Tokyo*, 119:768-774.
133. Naqui A., B. Chance, E. Cadenas. 1986. Reactive oxygen intermediates in biochemistry. *Annual Review of Biochemistry*, 55:137-166.
134. Neeper S.A., F. Gomez-Pinilla, J. Choi, C. Cotman. 1995. Exercise and brain neurotrophins. *Nature*, 373:109.
135. Neeper S.A., F. Gomez-Pinilla, J. Choi, C.W. Cotman. 1996. Physical activity increases mRNA for brain-derived neurotrophic factor and nerve growth factor in rat brain. *Brain Research*, 726:49-56.
136. Niess A.M., A. Hartmann, M. Fuchs-Grunert, B. Poch, G. Speit. 1996. DNA damage after exhaustive treadmill running in trained and untrained men. *International Journal of Sports Medicine*, 17:397-403.
137. Nyakas C., B. Buwalda, E. Markel, S.M. Korte, P.G. Luiten. 1994. Life-spanning behavioural and adrenal dysfunction induced by prenatal hypoxia in the rat is prevented by the calcium antagonist nimodipine. *European Journal of Neuroscience*, 6:746-753.

138. Ozen T., H. Korkmaz. 2003. Modulatory effect of *Urtica dioica* L. (Urticaceae) leaf extract on biotransformation enzyme systems, antioxidant enzymes, lactate dehydrogenase and lipid peroxidation in mice. *Phytomedicine*, 10:405-415.
139. Paffenbarger R.S. Jr, R.T. Hyde, A.L. Wing, I.M. Lee, D.L. Jung, J.B. Kampert. 1993. The association of changes in physical-activity level and other lifestyle characteristics with mortality among men. *New England Journal of Medicine*. 328:538-545.
140. Patz S., P. Wahle. 2004. Neurotrophins induce short-term and long-term changes of cortical neurotrophin expression. *European Journal of Neuroscience*, 20:701-708.
141. Pieroni A., V. Janiak, C.M. Durr, S. Ludeke, E. Trachsel, M. Heinrich, 2002. In vitro antioxidant activity of non-cultivated vegetables of ethnic Albanians in southern Italy. *Phytotherapy Research*, 16:467-473.
142. Pizza F.X., I.J. Hernandez, J.G. Tidball. 1998. Nitric oxide synthase inhibition reduces muscle inflammation and necrosis in modified muscle use. *Journal of Leukocyte Biology*, 64:427-433.
143. Radák Z., T. Kaneko, S. Tahara, H. Nakamoto, J. Pucsok, M. Sasvari, C. Nyakas, S. Goto. 2001a. Regular exercise improves cognitive function and decreases oxidative damage in rat brain. *Neurochemistry International*, 38:17-23.
144. Radák Z., A.W. Taylor, H. Ohno, S. Goto. 2001b. Adaptation to exercise induced oxidative stress: from muscle to brain. *Exercise Immunology Reviews*, 7:90-107.
145. Radák Z., H.Y. Chung, H. Naito, R. Takahashi, K.J. Jung, H.J. Kim, S. Goto. 2004. Age-associated increase in oxidative stress and nuclear factor kappaB activation are attenuated in rat liver by regular exercise. *FASEB Journal*, 18:749-750.
146. Radák Z., K. Asano, K.C. Lee, H. Ohno, A. Nakamura, H. Nakamoto, S. Goto. 1997. High altitude training increases reactive carbonyl derivatives but not lipid peroxidation in skeletal muscle of rats. *Free Radical Biology and Medicine*, 22:1109-1114.

147. Radák Z., M. Sasvari, C. Nyakas, A.W. Taylor, H. Ohno, H. Nakamoto, S. Goto. 2000. Regular training modulates the accumulation of reactive carbonyl derivatives in mitochondrial and cytosolic fractions of rat skeletal muscle. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 383:114-118.
148. Radák Z., S. Goto. 1998. The effects of exercise, ageing, and caloric restriction on protein oxidation and DNA damage in skeletal muscle. In: *Oxidative stress in skeletal muscle*, A.Z. Reznick (ed.) pp.87-102. Birkhauser Verlag, Basel, Switzerland.
149. Radák Z., S. Goto. 2000. Oxidative modification of proteins and DNA. In: *Free Radicals in Exercise and Aging*, Zs. Radák (ed.), Chapter 6. pp.177-210. Human Kinetics. Champaign.
150. Radák Z., T. Kaneko, S. Tahara, H. Nakamoto, H. Ohno, M. Sasvari, C. Nyakas, S. Goto. 1999. The effect of exercise training on oxidative damage of lipids, proteins, and DNA in rat skeletal muscle: evidence for beneficial outcomes. *Free Radical Biology and Medicine*, 27:69-74.
151. Rápóti J., V. Romváry, 1987. in *Gyógyító növények*. pp:104-105. Medicina, Budapest.
152. Regnier C.H., H.Y. Song, X. Gao, D.V. Goeddel, Z. Cao, M. Rothe. 1997. Identification and characterization of an IkappaB kinase. *Cell*, 90:373-383.
153. Remacle J., C. Michiels, M. Raes. 1992. The importance of antioxidant enzymes in cellular aging and degeneration. *Excursus.EXS*. 62:99-108.
154. Reznick A.Z., E.H. Witt, M. Silbermann, L. Packer. 1992. The threshold of age in exercise and antioxidants action. *Excursus.EXS*. 62:423-427.
155. Riehemann K., B. Behnke, K. Schulze-Ostho. 1999. Plant extracts from stinging nettle (*Urtica dioica*), an antirheumatic remedy, inhibit the proinflammatory transcription factor NF-kB. *FEBS Letters*, 442:89-94.
156. Rockenbauer A., L. Korecz. 1996. Automatic computer simulation of ESR spectra. *Applied Magnetic Resonance*, 10:29-43.
157. Rogers M.A., W.J. Evans. 1993. Changes in skeletal muscle with aging: effects of exercise training. *Exercise Sport Science Reviews*, 21:65-102.

158. Rohde T., D.A. MacLean, E.A. Richter, B. Kiens, B.K. Pedersen. 1997. Prolonged submaximal eccentric exercise is associated with increased levels of plasma IL-6. *American Journal of Physiology*, 273:E85-E91.
159. Sandvik L., J Erikssen, E. Thaulow, G. Erikssen, R. Mundal, K. Rodahl. 1993. Physical fitness as a predictor of mortality among healthy, middle-aged Norwegian men. *New England Journal of Medicine*, 328:533-537.
160. Sawada M., U. Sester, J.C. Carlson. 1992. Superoxide radical formation and associated biochemical alterations in the plasma membrane of brain, heart, and liver during the lifetime of the rat. *Journal of Cellular Biochemistry*, 48:296-304.
161. Schreck R., P.A. Baeuerle. 1991. A role for oxygen radicals as second messengers. *Trends in Cellular Biology*, 1:39-42.
162. Schulze-Tanzil G., B. Behnke, S. Klingelhofer, A. Scheid, M. Shakibaei. 2002. Effects of the antirheumatic remedy hox alpha--a new stinging nettle leaf extract--on matrix metalloproteinases in human chondrocytes in vitro. *Histology and Histopathology*, 17:477-485.
163. Shaulian E., M. Karin. 2001. AP-1 in cell proliferation and survival. *Oncogene*, 20:2390-2400.
164. Shaulian E., M. Karin. 2002. AP-1 as a regulator of cell life and death. *Nature Cell Biology*, 4:E131-E136.
165. Shetty A.K., M.S. Rao, B. Hattiangady, V. Zaman, G.A. Shetty. 2004. Hippocampal neurotrophin levels after injury: Relationship to the age of the hippocampus at the time of injury. *Journal of Neuroscience Research*, 78:520-532.
166. Silhol M., V. Bonnichon, F. Rage, L. Tapia-Arancibia. 2005. Age-related changes in brain-derived neurotrophic factor and tyrosine kinase receptor isoforms in the hippocampus and hypothalamus in male rats. *Neuroscience*, 132:613-624.
167. Simic M.G. 1992. The rate of DNA damage and aging. *EXS-Excursus*, 62:20-30.

168. Sinson G., M. Voddi, E.S. Flamm, T.K. McIntosh. 1996. Neurotrophin infusion improves cognitive deficits and decreases cholinergic neuronal cell loss after experimental brain injury. *Clinical Neurosurgery*, 43:219-227.
169. Stadler K., V. Jenei, G. von Bolcschazy, A. Somogyi, J. Jakus. 2003. Increased nitric oxid levels as an early sign of premature aging in diabetes. *Free Radical Biology and Medicine*, 35:1240–1251.
170. Stadtman E.R. 1992. Protein oxidation and aging. *Science*, 257:1220-1224.
171. Starnes J.W., G. Cantu, R.P. Farrar, J.P. Kehrer. 1989. Skeletal muscle lipid peroxidation in exercised and food-restricted rats during aging. *Journal of Applied Physiology*, 67:69-75.
172. Stoll G., S. Jander, M. Schroeter. 2002. Detrimental and beneficial effects of injury-induced inflammation and cytokine expression in the nervous system. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 513:87-113.
173. Stummer W., A. Baethmann, R. Murr, L. Schurer, O.S. Kempfski. 1995. Cerebral protection against ischemia by locomotor activity in gerbils. Underlying mechanisms. *Stroke*, 26:1423-1429.
174. Suzuki M., T. Kajuu. 1983. Suppression of hepatic lipogenesis by pectin and galacturonic acid orally-fed at the separate timing from digestion- absorption of nutrients in rat. *Journal Nutritional Science and Vitaminology*, 29:553-562.
- Martinez-Para M.C., F. Fidanza, M.E. Torija-Isasa. 1980a. La ortiga en la alimentacion. (IV) Fibra alimentaria. *Anales de Bromatologia*, 32:109 –118.
175. Tahri A., S. Yamani, A. Legssyer, M. Aziz, H. Mekhfi, M. Bnouham, A. Ziyat. 2000. Acute diuretic, natriuretic and hypotensive effects of a continuous perfusion of aqueous extract of *Urtica dioica* in the rat. *Journal of Ethnopharmacology*, 73:95-100.
176. Testai L., S. Chericoni, V. Calderone, G. Nencioni, P. Nieri, I. Morelli, E. Martinotti. 2002. Cardiovascular effects of *Urtica dioica* L. (Urticaceae) roots extracts: in vitro and in vivo pharmacological studies *Journal of Ethnopharmacology*, 81:105-109.

177. Traenckner E.B.M., H.L. Pahl, K.N. Schmidt, S. Wilk, P.A. Baeuerle. 1995. Phosphorylation of human I kappa B-alpha on serines 32 and 36 controls I kappa B-alpha proteolysis and NF-kappa B activation in response to diverse stimuli. *EMBO Journal*, 14:2876-2883.
178. Turkdogan M.K., H. Ozbek, Z. Yener, I. Tuncer, I. Uygan, E. Ceylan. 2003. The role of *Urtica dioica* and *Nigella sativa* in the prevention of carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in rats. *Phytotherapy Research*, 17:942-946.
179. Tuszynski M.H., A. Blesch. 2004. Nerve growth factor: from animal models of cholinergic neuronal degeneration to gene therapy in Alzheimer's disease. *Progress in Brain Research*, 146:441-449.
180. Vinczer P. 1995. Szabad gyökök szerepe a szervezet biológiai egyensúlyában. *Természetgyógyász Magazin*, november-december.
181. Virdee K., A.J. Bannister, S.P. Hunt, A.M. Tolkovsky. 1997. Comparison between the timing of JNK activation, c-Jun phosphorylation, and onset of death commitment in sympathetic neurones. *Journal of Neurochemistry*, 69:550-561.
182. Wei Y.H., S.H. Kao, H.C. Lee. 1996. Simultaneous increase of mitochondrial DNA deletions and lipid peroxidation in human aging. *Annual NY Academic Science*, 86:24-43.
183. Widenfalk J., L. Olson, P. Thoren. 1999. Deprived of habitual running, rats downregulate BDNF and TrkB messages in the brain. *Neuroscience Research*, 34:125-132.
184. Widmann C., S. Gibson, M. B. Jarpe, G. L. Johnson. 1999. Mitogen-activated protein kinase: conservation of a three-kinase module from yeast to human. *Physiological Reviews*, 79:143-180.
185. Wiese A.G., R.E. Pacifici, K.J. Davies . 1995. Transient adaptation of oxidative stress in mammalian cells. *Archives of Biochemistry and Biophysics* , 328:231-240.

186. Williams A.J., S.L. Hale, J.R. Moffett, J.R. Dave, P.J. Elliott, J. Adams, F.C. Tortella. 2003. Delayed treatment with MLN519 reduces infarction and associated neurologic deficit caused by focal ischemic brain injury in rats via antiinflammatory mechanisms involving nuclear factor-kappaB activation, gliosis, and leukocyte infiltration. *Journal of Cerebral Blood Flow Metabolism*, 23:75-87.
187. Witt E.H., A.Z. Reznick, C.A. Viguie, P. Starke-Reed, L. Packer. 1992. Exercise, oxidative damage and effects of antioxidant manipulation. *Journal of Nutrition*, 122:766-773.
188. Woolf N. 1991. Cholinergic systems in mammalian brain and spinal cord. *Progress in Neurobiology*, 37:475-524.
189. Youngman L.D. 1993. Protein restriction (PR) and caloric restriction (CR) compared: effects on DNA damage, carcinogenesis, and oxidative damage. *Mutation Research*, 295:165-179.
190. Yu B.P. 1994. Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. *Physiological Reviews*, 74:139-162.
191. Yu B.P., C.M. Kang, J.S. Han, D.S. Kim. 1998. Can antioxidant supplementation slow the aging process? *Biofactors*, 7:93-101.
192. Zelman F.P., O.J. Thienhaus, H.B. Bosmann. 1989. Superoxide dismutase activity in Alzheimer's disease: possible mechanism for paired helical filament formation. *Brain Research*, 476:160-162.

Közlemények jegyzéke

Anna Toldy , Krisztián Stadler, Mária Sasvári, Judit Jakus, Kyung J. Jung, Hae Y Chung, István Berkes, Csaba Nyakas, Zsolt Radák. 2005. The effect of exercise and nettle supplementation on oxidative stress markers in the rat brain. *Brain Research Bulletin*, 65:487-93.

Zsolt Radak, **Anna Toldy**, Zsófia Szabo, Savvas Siamilis, Csaba Nyakas, Gabriella Silye, Judit Jakus, Sataro Goto. 2006. The effects of training and detraining on memory, neurotrophins and oxidative stress markers in rat brain. *Neurochemistry International* *Elfogadva, nyomtatásban*.

Anna Toldy, Krisztian Stadler , Judit Jakus , Maria Sasvari , Kyung J. Jung , Hae Y. Chung , Csaba Nyakas , Zsolt Radak. The beneficial effects of nettle supplementation and exercise on brain lesion and memory in rat. *British Journal of Nutrition*. *Elbírálás alatt. BJN-2006-010990*

Zsolt Radak, Dénes Tolvaj, Helga Ogonovszky, **Anna Toldy**: Exercise and Cancer In: *Exercise and Diseases*, pp.168-190. edited by Zsolt Radak, Meyer & Meyer München, Germany 2003.

ÖSSZEFOGLALÓ

Az úszás és a gyógynövények, mint táplálék-kiegészítők rendszeres alkalmazása csökkentheti a neurodegeneratív betegségek kialakulásának lehetőségét antioxidáns hatásuk révén. Jelen munka a rendszeres úszás és a krónikus csalánlevéllel (*Urtica dioica*) kiegészített táplálkozás (1 tömeg%) hatását vizsgáltuk normál körülmények között, és N-metil-D-aszpartát (NMDA) lézió okozta agyi sérülés esetén Wistar patkányokon. A patkányok úszó (6-9 hétig), csalántápon élő (8 hétig), és a két beavatkozás kombinált hatását vizsgáló kombinált, valamint kontroll csoportjaira lettek felosztva. A 6-9 hétig tartó beavatkozások után NMDA lézió okozta agyi sérülést alakítottunk ki az NBM magban. Az oxidatív stressz, a gyulladáshoz és neurotrophikus faktorok markerinek vizsgálata történt meg az állatok szerveinek feldolgozása után. A kísérlet oxidatív oldalát elektron spin rezonancia (EPR) méréssel teszteltük a frontális lebeny és a kisagy területén, valamint a reaktív karbonil derivatívok (RCD) fotometrikus meghatározásával agyi teljes homogenátumokból. Az NF- κ B és az AP-1 DNS-hez kötődésének affinitása Electro Mobility shift Assay, EMSA-val volt kiértékelve kisagyi mintákból, míg az nerve growth factor (NGF) és a brain derived nerve factor (BDNF) neurotrophikus faktorokat E-max ImmunoAssay rendszerrel értékeltük ki a teljes agyi homogenátum mintákból. A lézió hatását vizsgálva különböző magatartási és tanulási tesztekkel értékeltük ki (Open-field teszt, passzív elhárítási teszt).

A rendszeres aktivitást vizsgálva arra a megállapításra jutottunk, hogy az úszás számos pozitív élettani hatása mellett

- bizonyos esetekben növeli, más esetekben csökkenti a szabadgyökök termelését, és kivédi az NMDA lézió szabadgyök termelésének növekedését a frontális kéregben,
- segíti az agyi szövetekben a neuronok túlélését,
- javítja a magatartásban és kognitív funkciókban bekövetkező funkcióromlást.

A csalán fontos táplálék-kiegészítőnek bizonyult, hiszen

- jelentős antioxidáns gyógynövény,
- csökkenti a gyulladáshoz transzkripciós faktorok átírásának aktivitását, gyulladásgátló hatással bír,
- antiapoptotikus folyamatokat is képes befolyásolni.

A két kezelés együttes pozitív hatása a kognitív funkciók javításában és a gyulladáshoz kapcsolódó folyamatok csökkentésében játszik szerepet mind egészséges állatokon, mind NMDA lézió okozta sérülésben is.

SUMMARY

Chronic swimming training and phytotherapeutic supplementation are assumed to alleviate severity of neurodegeneration leading to dementia through their antioxidant manner. The effect of chronic swimming training and that of enriched lab chow containing 1% (w/w) dried nettle (*Urtica dioica*) leaf were investigated on the normal bases and in the prevention of severity of brain injury caused by N-methyl-D-aspartate (NMDA) lesion in Wistar rats.

The rats were divided into groups subjected to swimming training (6-weeks) or to nettle supplementation (8-weeks) or to the combination of these two treatments. NMDA lesion was applied after the termination of treatments in the NBM. The oxidative stress, inflammation and neurotrophic markers in Wistar rat brains were investigated.

The oxidative side of the experiment was tested by measuring electron spin resonance (EPR) in frontal lobe and cerebellum, and by photometry protein carbonyl residues was estimated in brain homogenates. Nuclear factor kappa B (NF- κ B), activator protein 1 (AP-1) DNA binding activity were assayed by EMSA in cerebellum, while nerve growth factor (NGF) and brain derived nerve factor (BDNF) protein content were measured by E-max ImmunoAssay System from brain homogenates. The effects of lesion were tested by behavioural tests including learning paradigms (open-field activity, passive avoidance tests).

The regular swimming exercise was found to reduce free radical accumulation in frontal lobe, however it was elevated in cerebellum. In frontal lobe swimming was effective preventing agent in NMDA lesion,

- support neuronal survival in brain tissues,
- improve the behavioural and cognitive functions in NMDA lesion.

Nettle is an important nutrition factor and it has

- immense antioxidant capacity,
- reduces the activity of inflammatory transcription factors, and it has anti-inflammatory effect,
- influences antiapoptotic processes in favour of neuronal survival.

The additive effect of swimming and nettle feeding was successful in the inflammatory processes and in the cognitive functions to alleviate the neurodegeneration caused by NMDA lesion. Both treatments have influence on brain lesion.