

A T-043370 számú, “A salsolinol dopaminerg transzmisszióban betöltött fiziológiás szerepének vizsgálata” című kutatás szakmai zárójelentése.

Témavezető: Nagy M. György

Neuromorfológiai és Neuroendokrin Laboratórium, Humánmorfológiai és Fejlődésbiológiai Intézet, Magyar Tudományos Akadémia és Semmelweis Egyetem.

Részvevők:	Tóth E. Béla	Post Doc	(25%-os részvétel)
	Bodnár Ibolya	Post Doc	(30%-os részvétel)
	Fekete IK. Márton	Senior Sci	(45%-os részvétel)
	Stefanos Raptis	PhD hallgató	(30%-os részvétel)
	Radnai Balázs	PhD hallgató	(50%-os részvétel)
	Székács Dániel	PhD Hallgató	(50%-os részvétel)
	Oláh Márk	PhD Hallgató	(35%-os részvétel)

2003. évre a salsolinol által kiváltott prolaktin ürítő hatás helyének és mechanizmusának tisztázását, azon belül is:

1. a salsolinol hatás vizsgálata dopamine transzporter és
2. vesicularis monoamine transzporter génhiányos egerekben ill.
3. a belőlük nyert szövetek DA, DOPAC és HVA szintjeinek meghatározása tűztük ki célul

A tervnek megfelelően megvizsgáltuk a SAL PRL ürítő hatását dopamin (DA) transzporter (DAT) és vesicularis monoamine transzporter (VMAT) génhiányos egerekben. Az eredmények arra utalnak, hogy a VMAT szerepe jelentéktelen, míg a DAT génhiányos állatokban a PRL válasz 25-35%-ban gátolt. Ez utóbbi adat alapján megállapíthatjuk, hogy a DAT sem játszik kizárólagos szerepet a SAL kiváltotta PRL válaszban.

Egy véletlennek köszönhető felismerést, nevezetesen a SALnak az immobilizációs stressz-ben tapasztalt rendkívül gyors plazma norepinephrin (NE) és epinephrin (E) csökkentő hatását alapul véve (*Ann N Y Acad Sci. 1018:124-130, 2004.*), megvizsgáltuk a SAL prolaktin ürítő hatását norepinephrin transzporter (NET) génhiányos egerekben is. Megállapítottuk, hogy a NET génhiány esetén a SAL nem képes emelni a plazma PRL szintet. Ezen eredményünk komolyan felveti annak a lehetőségét, hogy a perifériás norepinephrinerg rendszer egy eddig még nem tisztázott mechanizmuson keresztül befolyásolhatja a PRL elválasztást (*Neurochemistry International 50(2): 427-434, 2007.*).

Célul tűztük ki továbbá a salsolinol esetleges szerepének vizsgálata az elülső lebeny prolaktin elválasztásában stressz hatására bekövetkező változásaiban. Ezen belül is:

1. Különböző stressz-hatásoknak kitett állatokban tervezzük megvizsgálni a hypothalamo-hypophysealis rendszer salsolinol koncentrációjának változásait;
2. A kezünkben lévő salsolinol antagonistá (1MeDIQ) felhasználásával vizsgálni kívánjuk a stressz által kiváltott akut prolaktin szint emelkedésének esetleges gátolhatóságát;

A birtokunkban lévő SAL analóg (1MeDIQ) felhasználásával, mely képes gátolni a SAL-indukálta plazma PRL szint emelkedését, de nem befolyásolja az 5,7-DHT-ra, az a-MpT-ra és a TRH-ra bekövetkező PRL válaszokat (*Ann N Y Acad Sci. 1018:183-191, 2004.*), tovább vizsgáltuk a stressz által kiváltott akut PRL szint emelkedésének mechanizmusát. Megállapítottuk, hogy az 1MeTIQ dózis-függő módon gátolja mind az immobilizáció mind a szopási inger által kiváltott PRL ürítést (*Journal of Neuroendocrinology 16(3):208-213, 2004.*), ugyanakkor rendkívül gyorsan és nagymértékben képes emelni a plazma norepinephrin és epinephrin szinteket. Az 1MeDIQ catecholamin ürítést fokozó hatása a ganglionáris transzmisszió gátlását követően elmarad (*Autonomic Neuroscience 115(1-2): 35-40, 2004.*)

2004.-re a salsolinol intravénás injekcióját követően az eminencia mediana, a közti-hátsó lebeny (KHL), és az elülső lebeny (EL) cAMP koncentrációjának esetleges változának vizsgálatát terveztük.

Eredményeink egyértelműen igazolták, hogy a SAL beadását követően mind az EM, mind az EL cAMP koncentrációja jelentősen megváltozik. A mért változások pontosan megfelelnek azon változásoknak, melyek a szopási inger után az EM-ban és az EL-ben tapasztalhatóak. (***Brain Research Bull. 65(2):105-110, 2005.***)

Tervebe vettük a salsolinol ellenes antitest készítését (a salsolinolnak egy rövid, néhány aminosavas peptidbe építése után) esetleges morfológiai vizsgálatokhoz. Alternatív lehetőségként már a tervekben is felvetettük, hogy az első lehetőség sikertelensége esetén a tisztított salsolinol-szintáz enzim ellen szeretnénk antitestet készíteni. Ez utóbbi ugyancsak alkalmas lett volna a salsolinol termelő idegi struktúrák pontosabb megismerésére.

A SAL ellenes antitest készítése (a SAL-nak egy rövid, néhány aminosavas peptid beépítése) tekintetében sajnos nehézségekkel kellett szembe néznünk, nevezetesen nem sikerült megfelelő titerű antitestet nyerni. Ezért úgy döntöttünk, hogy megpróbálunk Prof. Makato Naoi által korábban leírt SAL-szintáz enzim ellen készíteni antitestet. Annak ellenére, hogy Prof. Makato Naoi az enzim tisztításában segítségünkre volt, az antitest elkészítése eddig sikertelen volt. Jóllehet a tervben szereplő erőfeszítéseket megtettük, azt teljesíteni nem tudtuk.

2005-ben terveztük megvizsgálni mind a salsolinol, mind a salsolinol antagonistá (1MeDIQ) más dopaminerg rendszerekre gyakorolt hatásait. Így például tervebe vettük megvizsgálni a motilitásra kifejtett hatásokat.

Az 1MeDIQ fokozta az egyébként hatástalan dózisu L-DOPA-val előkezelt egerek motilitását, és ezt a hatást a SAL előkezelés gátolta. Fontosnak tartottuk tehát, hogy a szöveti catecholamin és plazma prolaktin (PRL) szint változását egyéb központi idegrendszeri izgató vegyületek, nevezetesen indirekt DA agonisták, mint pl. az amfetamin és a metiléndioxi-metamfetamin (MDMA, extasy) adagolása után is megvizsgáljuk kísérleti modellünkben ill. a SAL-al kölcsönhatásban. Eredményeink szerint mindkét stimuláns gátolta a SAL előidézte PRL ürítés fokozó hatást (***Neurochemistry International 50(2): 427-434, 2007.***). A szöveti catecholamin mérések csakúgy, mint az 1MeDIQ esetén, kölcsönös antagonizmust mutattak a SAL és az amfetamin, valamint SAL és az MDMA között. Itt érdemes megjegyezni, hogy két, eddig még nem közölt - a SE Gyógyszertani Intézetével közösen végzett - kísérletben 5-6 nappal a kölyköknek az anyáktól való elválasztása után a pitvarban jól mérhető SAL szintet mértünk, ami szignifikánsan alacsonyabb értéket adott abban a csoportban, amikor az anyák a terhesség alatt naponta MDMA kezelést kaptak (***Székács D, Fekete MIK, Tímár J, Gyarmati Zs, Nagy GM közlemény előkészületben.***). Tehát a tervbe vett DA ürítés vizsgálatát, különös tekintettel az L-DOPA és amphetamin okozta DA ürítés fokozódásra, kissé más kísérleti megközelítésben végeztük el, mely alapvetően persze nem tért el a tervezettől.

A salsolinol agyi eloszlásának pontos feltérképezése hím, nőstény, valamint laktáló állatok különböző agyi struktúráiban.

E vizsgálatokat kissé módosított formában egy Japán munkacsoporttal kollaborációban végeztük el. Megállapítottuk, hogy a SAL jelen van számos haszonállat (tehén, disznó, juh) közti-hátsó lebenyében. Hasonlóan a rágcsálókban leírtakkal a SAL mind *in vivo* mind *in vitro* szelektív és dózisfüggő PRL ürítő hatással rendelkezik (***Domest Anim Endocrinol ...:...., 2007 Jan 16; Epub ahead of print.***). E kísérleti eredmények birtokában megállapíthatjuk, hogy a SAL számos állatban játszhat szerepet a PRL elválasztás szabályozásában.

A hatásmechanizmus *in vitro* vizsgálatai során tervezzük:

1. a dopamin release vizsgálata különös tekintettel az L-DOPA és amphetamin okozta dopamin release fokozódásra;

Kísérleteinkben megállapítottuk, hogy a PRL felszabadító hatása mellett a SAL jelentősen csökkenti a stressz és az 1MeDIQ által megnövelt plazma NE és epinefrin (E) szinteket. Hasonló kölcsönhatást találtunk az AMPH és a SAL prolaktin-elválasztásra gyakorolt hatásában is (***Neurochemistry International 50(2): 427-434, 2007.***). Azt is megállapítottuk, hogy a szimpatikus idegelemek által beidegzett perifériás szervekben, mint pl. a pitvarban, lépben, májban, ovariumban, vas deferensben, nyálmirigyben, a SAL-kezelés a dopamin-koncentráció szelektív csökkenéséhez vezet. A SAL-nak ez a hatása kivédhető AMPH előkezeléssel (***Székács D, Fekete MIK, Tímár J, Gyarmati Zs, Nagy GM***

közlemény előkészületben). Következésképpen, a SAL és az AMPH kölcsönhatás egyértelműen megállapítható mind az elülső lebenyi PRL-ürítés mind a szimpatikus végződésben zajló catecholamin-metabolizmus vonatkozásában.

2. a decarboxiláz aktivitás változásainak követését;

A SAL és 1MeDIQ kezelések hatására aromás aminosav decarboxiláz aktivitásban változást nem találtunk.

2006: A záró évre terveztük az esetleg elmaradt részkísérletek befejezését, továbbá a meglévő adatok összegzését és közlését. E munkálatok jelenleg is folyamatban vannak.

Az elmúlt négy éves (2003-2006) kutatási periódus alatt, eleget téve a SAL endokrin hatásainak összegzésére szóló megtisztelő felkérésnek, társszerzőként részt vettünk egy összefoglaló munka megírásában (*Neurotoxicology 25(1-2):193-204, 2004.*), melyben a korábbi és a jelenlegi OTKA támogatással végzett kutatásaink eredményeinek összegző leírására nyílt lehetőség. A PRL elválasztás szabályozása tárgykörében néhány kollaborációban végzett munka közlésére is sor került (*Endocrinology 145(4): 1695-1699, 2004.; Exp Anim. 53(5):445-51, 2004.; Ann N Y Acad Sci. 1018:105-112, 2004.*) Az L-DOPA feltételezett neurotranszmitter szerepével kapcsolatos jelenlegi ismereteket, beleértve az L-DOPA és a SAL kölcsönhatását, egy összefoglaló könyv fejezeteként írtuk meg. (*In: The probable roles of DOPA as a neurotransmitter. Progress in Pharmacology and Toxicology. Manfred A. Hollinger eds, pp 1-6, Taylor and Francis Publishers, London, 2005.*). Az excitatoros aminosavak PRL elválasztására gyakorolt hatását részben saját kísérleti eredményeink (*Brain Research Bull. 65(2):163-168, 2005.*), részben irodalmi adatok alapján összegeztük (*Review. Endocrine 28(3): 303-309, 2005.*). Társszerzőként részt vettünk egy a DA agonisták és a hypophysis tumorok kezelését összefoglaló munka megírásában (*Review. Endocrine 28(2): 101-110, 2005.*), továbbá a PRL elválasztás circadian/extracircadian szabályozása tárgykörében néhány kollaborációban végzett munka közlésére is sor került (*Biomed Pharmacother 59 Suppl 1:S24-30, 2005; Biomed Pharmacother. 59 Suppl 1:S109-16, 2005; Biomed Pharmacother. 59 Suppl 1:S209-12, 2005; Biomed Pharmacother. 59 Suppl 1:S213-9, 2005.*)

Közlemények 2003:

Homicskó KG, Kertész I, Radnai B, Tóth BE, Tóth G, Fülöp F, Fekete MIK, **Nagy GM**, Binding site of salsolinol: its properties in different regions of the brain and the pituitary gland. *Neurochemistry International* 42:19-26, 2003. **IF: 3,261**

Góth MI, Hubina E, Raptis S, **Nagy GM**, Tóth BE: Physiological and pathological angiogenesis in the endocrine system. *Microscopy Research and Technique* 60:98-106, 2003. **IF: 2,307**

Zelena D, Makara GB, **Nagy GM**: Effect of glutamate receptor antagonists on suckling-induced prolactin release in rats. *Endocrine* 21(2):147-52, 2003. **IF: 1,608**

IF: 7,176

Közlemények 2004:

Bodnár I, Mravec B, Kubovcakova L, Tóth EB, Fülöp F., Fekete MIK, Kvetnansky R, **Nagy GM**: Stress-, as well as suckling-induced prolactin (PRL) response is blocked by a structural analogue of the putative hypophyseotrophic PRL releasing factor, salsolinol (SAL). *Journal of Neuroendocrinology* 16(3):208-213, 2004. **IF: 3,418**

Radnai B, Mravec B, Bodnár I, Kubovcakova L, Fülöp F, Fekete MIK, **Nagy GM**, Kvetnansky R: Pivotal role of an endogenous tetrahydroisoquinoline, salsolinol (SAL), in stress-, and suckling-induced release of prolactin (PRL). *Ann N Y Acad Sci.* 1018:183-191, 2004. **IF: 1,892**

Bodnár I, Mravec B, Kubovcakova L, Fekete MIK, **Nagy GM**, Kvetnansky R: Salsolinol, a prolactoliberin, inhibits stress-induced catecholamine release. *Ann N Y Acad Sci.* 1018:124-130, 2004. **IF: 1,892**

Mravec B, Bodnár I, Kubovcakova L, **Nagy GM**, Palkovits M, Kvetnansky R: Inhibitory effect of formalin administration on immobilization-induced epinephrine release. *Ann N Y Acad Sci.* 1018:105-112, 2004. **IF: 1,892**

Naoi M, Maruyama W, **Nagy GM**: Dopamine-derivatives as endogenous monoamine oxidase inhibitors: Occurrence, metabolism and function in human brains. *Neurotoxicology* 25(1-2):193-204, 2004. **IF: 1,856**

Raptis S, Fekete C, Sarkar S, Rand WM, Emerson CH, **Nagy GM**, Lechan RM: CART co-contained in TRH neurons of the hypothalamic paraventricular nucleus (PVN) modulates TRH-induced prolactin secretion. *Endocrinology* 145(4): 1695-1699, 2004. **IF: 5,063**

Mravec B, Bodnár I, Fekete MIK, **Nagy GM**, Kvetnansky R: An antagonist of prolactoliberine induces an increase in plasma catecholamine levels in the rat. *Autonomic Neuroscience* 115(1-2): 35-40, 2004. **IF: 1,258**

Saito TR, Tatsuno T, Takeda A, Hashimoto H, Suzuki M, Terada M, Aoki-Komori S, Tanaka M, Koranyi L, **Nagy GM**: Effects of i.c.v. administration of leptin on copulatory and ingestive behavior in STZ-induced diabetic male rats. *Exp Anim.* 53(5):445-51, 2004. **IF: 0,496**

Radnai B, Kandár Z, Somogyvári-Vigh A, Mergl Zs, Oláh M, Fülöp F, Vecsernyés M, **Nagy GM**: Salsolinol induces a decrease in cyclic AMP at the median eminence and an increase at the adenohypophysis in lactating rats. *Brain Research Bull.* (accepted for publication), 2004. **IF: 2,609**

IF: 20,376

Közlemények 2005:

Radnai B, Kandár Z, Somogyvári-Vigh A, Mergl Zs, Oláh M, Fülöp F, Vecsernyés M, **Nagy GM**: Salsolinol induces a decrease in cyclic AMP at the median eminence and an increase at the adenohypophysis in lactating rats. *Brain Research Bull.* 65(2):105-110, 2005. . **IF: 2,429**

Bodnár I, Bánky Zs, **Nagy GM**, Halász B: Non-NMDA glutamate receptor antagonist injected into the hypothalamic paraventricular nucleus blocks the suckling stimulus-induced release of prolactin. *Brain Research Bull.* 65(2):163-168, 2005. . **IF: 2,429**

Bodnár I, Szekács D, Oláh M, Okamura H, Vecsernyés M, Fekete MIK, **Nagy GM**: Effect of neonatal treatment with monosodium glutamate (MSG) on dopamine and DOPA neurons of the medial basal hypothalamus of rats. In: *The probable roles of DOPA as a neurotransmitter. Progress in Pharmacology and Toxicology.* (Mannfred A. Hollinger eds, pp 1-6, Taylor and Francis Publishers, London) In press. 2005.

Iván G, Szigeti-Csúcs N, Oláh M, **Nagy GM**, Góth MI: Treatment of pituitary tumors: Dopamine agonists. *Review. Endocrine* 28(2): 101-110, 2005. . **IF: 1,515**

Mravec B, Bodnar I, Uherezky G, **Nagy GM**, Richard Kvetnansky R, Palkovits M: Formalin inhibits the stress-induced increase in plasma epinephrine levels. *J Neuroendocrinol.* 17(11): 727-32, 2005. **IF: 2,974**

Jozsa R, Halberg F, Cornélissen G, Zeman M, Kazsaki J, Csernus V, Katinas GS, Wendt HW, Schwartzkopff O, Stebelova K, Dulkova K, Chibisov SM, Engebreston M, Pan W, Bubenik GA, Nagy G, Herold M, Hardeland R, Hüther G, Pöggeler B, Tarquini R, Perfetto F, Salti R, Olah A, Csolas N, Delmore P, Otsuka K, Bakken EE, Allen J, Amory-Mazaudin C: Chronomics, Neuroendocrine feedsidwards and the recording and consulting of nowcasts-forecasts of geomagnetics. *Biomed Pharmacother* 59 Suppl 1:S24-30, 2005. . **IF: 1,826**

Jozsa R, Olah A, Comelissen G, Csernus V, Otsuka K, Zeman M, **Nagy G**, Kaszaki J, Stebelova K, Csokas N, Pan W, Herold M, Bakken EE, Halberg F: Circadian and extracircadian exploration during daytime hours of circulating corticosterone and other endocrine chronomes. *Biomed Pharmacother.* 59 Suppl 1:S109-16, 2005. **IF: 1,826**

Stebelova K, Zeman M, Cornelissen G, Bubenik G, Jozs R, Hardeland R, Poeggeler B, Huether G, Olah A, **Nagy G**, Csernus V, Kaszaki J, Pan W, Otsuka K, Bakken EE, Halberg F: Chronomics reveal and quantify circadian rhythmic melatonin in duodenum of rats. *Biomed Pharmacother.* 59 Suppl 1:S209-12, 2005; **IF: 1,826**

Zeman M, Jozsa R, Cornelissen G, Stebelova K, Bubenik G, Olah A, Poeggeler B, Huether G, Hardeland R, **Nagy G**, Csernus V, Pan W, Otsuka K, Halberg F: Chronomics: circadian lead of extrapineal vs. pineal melatonin rhythms with an infradian hypothalamic exploration. *Biomed Pharmacother.* 59 Suppl 1:S213-9, 2005. **IF: 1,826**

Nagy GM, Bodnár I, Bánky Zs, Halász B: Control of prolactin secretion by excitatory amino acids. *Review. Endocrine* 28(3): 303-309, 2005. **IF: 1,515**

IF: 18,166

Közlemények 2006-2007:

Barabás K, Szegő ÉM, Kaszás A, **Nagy GM**, Juhász GD, Ábrahám IM: Sex differences in oestrogen-induced p44/42 MAPK phosphorylation in the mouse brain in vivo. *J Neuroendocrinol.* 18():621-628, 2006. **IF:2.920**

Hubina E, Nanzer AM, Hanson MR, Ciccarelli E, Losa M, Gaia D, Papotti M, Terreni MR, Khalaf S, Jordan S, Czirjak S, Hanzely Z, **Nagy GM**, Goth MI, Grossman AB, Korbonits M: Somatostatin analogues stimulate p27 expression and inhibit the MAP kinase pathway in pituitary tumours. *Eur J Endocrinol.* 155(2):371-379, 2006. **IF:2.962**

Hashizume T, Shida R, Suzuki S, Nonaka S, Yonezawa C, Yamashita T, Kasuya, Sutoh M, Oláh M, Székács D, **Nagy GM**: Salsolinol is present in the bovine posterior pituitary gland and stimulates prolactin release both *in vivo* and *in vitro* in ruminants. *Domest Anim Endocrinol ...:....-....*, 2007 Jan 16; (Epub ahead of print) **IF:1.559**

Székács D, Bodnár I, Mravec B, Kvetnansky R, Vizi ES, **Nagy GM**, Fekete MI: The peripheral noradrenergic terminal as possible site of action of salsolinol as prolactoliberin. *Neurochemistry International* 50(2): 427-434, 2007. **IF: 2.994**

Ibolya Bodnár, Dániel Hechtl, Dániel Székács, Márk Oláh, György M. Nagy Effect of local (intracerebral and intracerebroventricular) administration of tyrosine hydroxylase inhibitor on the neuroendocrine dopaminergic neurons and prolactin release. *Clinical Neuroscience* 2007 (in press) **IF: -**

Dániel Székács, Ibolya Bodnár, György M. Nagy, Márton I.K. Fekete Salsolinol and the peripheral sympathetic activity: the effects of hypophysectomy, adrenalectomy and adrenal medullectomy. *Clinical Neuroscience* 2007 (in press) **IF: -**

IF: 7,473

2003-2006 között összesen: IF: 53,191