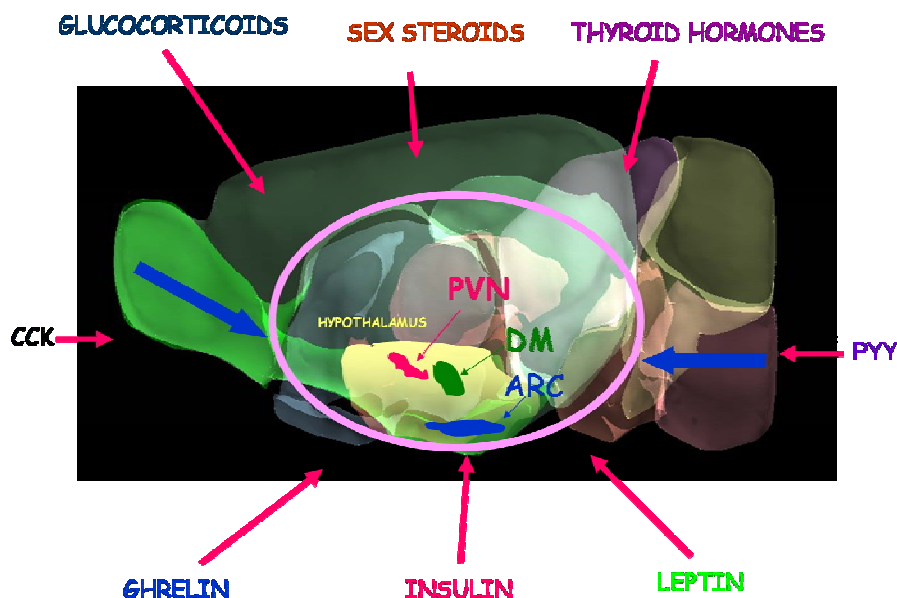


Zárójelentés

Az OTKA támogatás keretében végzett kísérleti munkáink a táplálkozást és reprodukciót szabályozó orexigén és anorexigén neuronrendszerek és perifériás hormonok hatásmechanizmusainak megismerésére szolgált (1. ábra). Fény és elektronmikroszkópos strukturális, valamint molekuláris biológiai és elektrofiziológiai funkcionális módszerekkel nyert eredményeink közül szeretném kiemelni és röviden alább bemutatni a **hypothalamus neuroszekretoros rendszereinek glutamáterg fenotípusára** vonatkozóan tett felismerésünket, a **reprodukciót és anyagcserét hypothalamikus szinten szabályozó orexigén és anorexigén neuronrendszerek újabb vonásait**, valamint **nevezett rendszerek hormonális modulációjában szerepet játszó ösztrogén és pajzsmirigy hormon feedback hatásmechanizmusok** feltárására vonatkozó új adatainkat. Szignifikánsnak tekintjük továbbá, a **reprodukció és anyagcsere vezérlésben meghatározó szerepet játszó humán hypothalamikus szabályozó rendszerekre vonatkozó eredeti megfigyelésünket**.



1. ábra. A perifériás metabolikus szignálók feldolgozásában résztvevő hypothalamikus elsődleges szenzoros és másodlagos effektor központok sémás ábrázolás.

I. A hypothalamo-hypophysealis neuroendokrin rendszerek új, glutamáterg fenotípusának felismerése

1. Elsőként észleltük és írtuk le a GnRH idegsejtek glutamáterg fenotípusát, kimutatva a 2-es típusú vesiculáris glutamát transzporter (VGLUT-2) mRNS expresszióját az idegsejtekben, illetve VGLUT-2 immunreaktivitást hipofiziotróf GnRH axonokban az eminentia mediana külső zónájában. A megfigyelés felveti a glutamát szabályozó szerepét az endogén LHRH ürülés szabályozásában.

Hrabovszky E, Turi GF, Kallo I, Liposits Z

Expression of vesicular glutamate transporter-2 in gonadotropin-releasing hormone neurons of the adult male rat

ENDOCRINOLOGY 145: 4018-4021 (2004)

IF: 5.151

2. Folytattuk az általunk feltárt jelenség - a hypothalamus neuroszekretoros rendszereit jellemző glutamáterg fenotípus – vizsgálatát. Megállapítottuk, hogy a magnocelluláris neuroszekretoros rendszer VGLUT-2 mRNS-t tartalmaz, melynek expresszióját só terhelés befolyásolja a vazopresszin tartalmú idegsejtekben.

Hrabovszky E, Csapó AK, Kalló I, Wilhelm T, Turi GF, Liposits Z

Localization and osmotic regulation of vesicular glutamate transporter-2 in magnocellular neurons of the rat hypothalamus

NEUROCHEM INT 48: 753-761 (2006)

IF: 3.159

3. Feltérképeztük az eminentia mediana és a hypophysis hátsólebeny területekre vetülő glutamáterg idegsejtek eloszlását a hypothalamusban és jellemeztük az axon-végződéseik finomszerkezeti jegyeit. A VGLUT-2 immunreaktivitást a kisméretű szinaptikus vezikulákban mutattuk ki.

Hrabovszky E, Deli L, Turi G, Kalló I, Liposits Z

Glutamatergic innervation of the hypothalamic median eminence and posterior pituitary of the rat

NEUROSCIENCE 144: 1383-1392 (2007)

IF: 3.427

Hrabovszky E, Liposits Z

Glutamatergic phenotype of hypothalamic neurosecretory systems: a novel aspect of central neuroendocrine regulation

IDEGGYÓGYÁSZATI SZEMLE 60: (3-4) 182-186 (2007)

4. A gonádműködést és az energiaháztartást agyalapimirigy szinten szabályozó gonadotroph és thyreotroph sejtekben VGLUT2 előfordulását mutattuk ki és igazoltuk, hogy VGLUT-2 mRNS tartalom ösztrogén és pajzsmirigyhormon függő voltát.

Hrabovszky E, Turi GF, Kalló I, Liposits Z

Expression of vesicular glutamate transporter-2 in gonadotropin-releasing hormone neurons of the adult male rat

ENDOCRINOLOGY 145: 4018-4021 (2006)

IF: 5.236

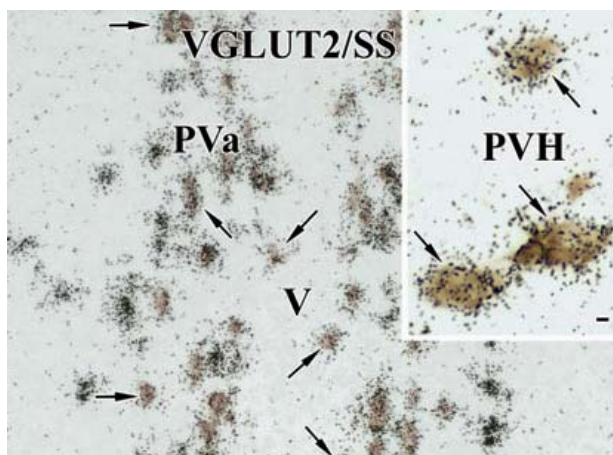
5. A növekedési hormon szekréciónak szabályozó hypothalamikus rendszerek közül a gátló, hipofiziotróf somatostatin rendszer kémiai fenotípusát glutamátergnek találtuk (**2. ábra**), szemben a serkentő growth hormone-releasing hormone (GHRH) rendszerrel, mely GABA-erg természetű.

Hrabovszky E, Turi GF, Liposits Z

Presence of vesicular glutamate transporter-2 in hypophysiotropic somatostatin but not growth hormone-releasing hormone neurons of the male rat

EUR J NEUROSCI 21: 2120-2126 (2005)

IF: 3.949



2. ábra. Szomatosztatin és VGLUT-2 mRNS-ek szimultán lokalizációja kettős *in situ* hibridizációs módszer alkalmazásával.

6. Bizonyítottuk, hogy a hypothalamikus támadási area (HAA) elülső részében elhelyezkedő idegsejtek java glutamaterg, míg a caudális részen található neuronok egy része GABA-erg.

Hrabovszky E, Halász J, Meelis W, Kruk MR, Liposits Z, Haller J

Neurochemical characterization of hypothalamic neurons involved in attack behavior: Glutamatergic dominance and co-expression of thyrotropin-releasing hormone in a subset of glutamatergic neurons
NEUROSCIENCE 133: 657-666 (2005)

IF: 3.410

II. A reprodukció központi neuronális szabályozásának új képviselői

1. Feltérképeztük a gonadotropin-releasing hormone (GnRH)-t termelő idegsejteket beidegző neuropeptid-Y (NPY) tartalmú idegrostok eredetét egér agyban. Igazoltuk, hogy az NPY-erg afferensek 50%-a az arcuatus magból ered és agouti-related protein (AGRP)-t is tartalmaz. Az NPY tartalmú idegrostok mintegy negyede az agytörzs monoaminerg sejtsortjaiból volt származtatható, melyek dopamin-béta hydroxylase immunreaktivitást is mutattak. A maradék 25% NPY axon eredetének forrása ismeretlen. A vizsgálatok elsőként tárták fel a nucleus arcuatusból eredő orexigén NPY/AGRP rendszer szerepét a reprodukció hypothalamikus szabályozásában. Az OTKA pályázat írása közben elkezdett kísérletek eredménye a pályázat bírálati szakaszának végén 2003. novemberében jelent meg.

Turi GF, Liposits Zs, Moenter SM, Fekete C, Hrabovszky E

Origin of neuropeptide Y-containing afferents to gonadotropin-releasing hormone neurons in male mice
ENDOCRINOLOGY 144: 4967-4974 (2003)

IF: 5.063

2. GnRH idegsejtek felszínén cholinerg idegrostokat azonosítottunk kettős fény és elektronmikroszkópos immuncitokémiai módszerek alkalmazásával. A kommunikációt ugyan jellemezték aszimmetrikus szinapszisok, mégis a juxtapozícióban lévő idegelemek közül többségben voltak a nem-szinaptikus csatornákon keresztül kommunikáló axonok.

Turi GF, Liposits Z, Hrabovszky E

Cholinergic afferents to gonadotropin-releasing hormone neurons of the rat
NEUROCHEM INT (2007) (in press)

IF: 3.159

3. Leírtuk az LHRH neuronok anorexigén, cocaine- and amphetamine-regulated transcript (CART)-immunoreaktív idegrostok általi beidegzésének morfológiai jegyeit rágcsálóban.

III. Az anyagcserét hypothalamikus szinten moduláló, új idegi szabályozó mechanizmusok megismerése

1. Vizsgáltuk az energiaháztartást szabályozó neuron rendszereket, különös tekintettel azok kapcsolatára a hypothalamikus paraventriculáris idegmaggal (PVN) és annak thyrotropin-releasing hormone (TRH)-t szintetizáló neuroszekretoros idegsejtjeivel. Feltérképeztük a PVN területére vetülő cocaine- and amphetamine-regulated transcript (CART)-tartalmú idegrostok agybeli eredetét. Igazoltuk, hogy a hipofiziotróf TRH neuronok agytörzsi adrenerg sejtekből nyernek CART tartalmú afferenseket, továbbá orexigén, galanin idegvégződéses szinaptikus kapcsolatot alakítanak ki a TRH idegsejtekkel.

Fekete C, Wittmann G, Liposits Z, Lechan RM

Origin of cocaine- and amphetamine-regulated transcript (CART)-immunoreactive innervation of the hypothalamic paraventricular nucleus

J COMP NEUROL 469: 340-350 (2004)

IF: 3.400

Wittmann G, Liposits Z, Lechan RM, Fekete C
Medullary adrenergic neurons contribute to the cocaine- and amphetamine-regulated transcript-immunoreactive innervation of thyrotropin-releasing hormone synthesizing neurons in the hypothalamic paraventricular nucleus
BRAIN RES 1006: 1-7 (2004)

IF: 2.389

Wittmann G, Sarkar S, Hrabovszky E, Liposits Z, Lechan RM, Fekete C
Galanin- but not galanin-like peptide-containing axon terminals innervate hypophysiotropic TRH-synthesizing neurons in the hypothalamic paraventricular nucleus
BRAIN RES 1002: 43-50 (2004)

IF: 2.389

Wittmann G, Liposits Z, Lechan RM, Fekete C
Origin of cocaine- and amphetamine-regulated transcript-containing axons innervating hypophysiotropic corticotropin-releasing hormone-synthesizing neurons in the rat
ENDOCRINOLOGY 146: 2985-2991 (2005)

IF: 5.313

2. Tanulmányoztuk az hipofiziotróf corticotropin-releasing hormone (CRH)-t szintetizáló idegsejtek orexigén, neuropeptid Y tartalmú beidegzésének eredtét. A rostok 22%-a noradrenerg, 41%-a adrenerg, míg 37 %-a nem-katekolaminerg sejtcsoportból eredt. Az utóbbi rostpopuláció AGRP-immunreaktivitást is mutatott, igazolva az orexigén axonok arcuatus magbéli eredtét. NPY krónikus hatására a CRH mRNS tartalom jelentős csökkenést mutatott.

Fuzesi T, Wittmann G, Liposits Z, Lechan RM, Fekete C
Contribution of noradrenergic and adrenergic cell groups of the brainstem and agouti-related protein (AGRP)-synthesizing neurons of the arcuate nucleus to neuropeptide-Y innervation of corticotropin-releasing hormone neurons in hypothalamic paraventricular nucleus of the rat
ENDOCRINOLOGY 148: 5442-5450 (2007)

IF: 5.313

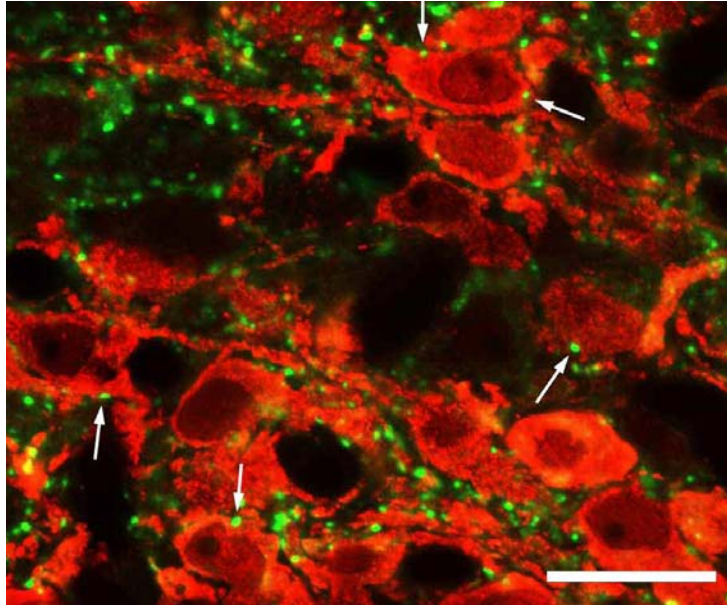
3. Folytattuk az energiaháztartást szabályozó hypothalamikus idegközpontok vizsgálatát. Megállapítottuk, hogy az effektor corticotropin-releasing hormone (CRH) (3. *ábra*) és thyrotropin-releasing hormone (TRH) neuronrendszerek jelentős glutamáterg beidegzést nyernek a paraventriculáris idegmagban. Továbbá, elsőként igazoltuk, hogy nevezett neuroszekretoros rendszerek glutamáterg fenotípussal rendelkeznek, melyre vesicularis glutamate transporter 2 (VGLUT-2) tartalmuk utal.

Wittmann G, Lechan RM, Liposits Z, Fekete C
Glutamatergic innervation of corticotropin-releasing hormone- and thyrotropin-releasing hormone-synthesizing neurons in the hypothalamic paraventricular nucleus of the rat
BRAIN RES 1039: 53-62 (2005)

IF: 2.296

Hrabovszky E, Wittmann G, Turi GF, Liposits Z, Fekete C
Hypophysiotropic thyrotropin-releasing hormone and corticotropin-releasing hormone neurons of the rat contain vesicular glutamate transporter-2
ENDOCRINOLOGY 146: 341-347 (2005)

IF: 5.313



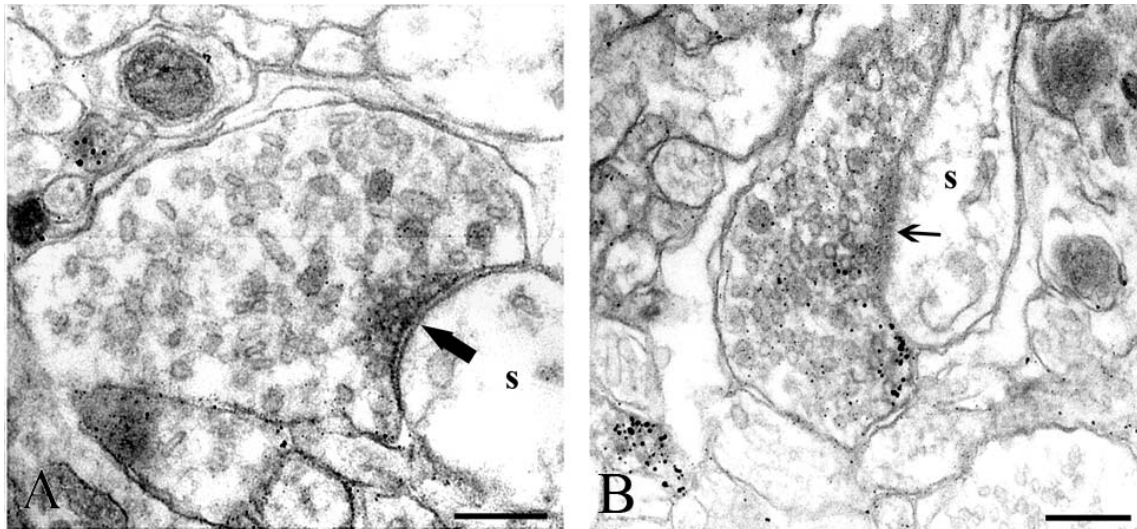
3. ábra. CRH idegsejtek gazdag glutamáterg beidegzése a PVN területén.

4. Az anyagcsere háztartást hypothalamikus szinten szabályozó fő effektor idegmag, a nucleus paraventricularis (PVN), esetében igazoltuk, hogy annak parvi-és magnocelluláris almagvai béta típusú ösztrogén receptort expresszálnak rágcsáló és humán agyban egyaránt. Az eredmények arra utalnak, hogy ösztrogén hatású vegyületek képesek befolyásolni a hypothalamikus működést, béta típusú ösztrogén receptoron keresztül kifejtett genomikus hatások révén.

Hrabovszky E, Kalló I, Steinhauser A, Merchenthaler I, Coen CW, Petersen SL, Liposits Z
Estrogen receptor-beta in oxytocin and vasopressin neurons of the rat and human hypothalamus:
Immunocytochemical and in situ hybridization studies
J COMP NEUROL 473: 315-333 (2004)
IF: 3.400

5. Elsőként írtuk le a hypothalamus cannabinoid receptor 1 (CB1) tartalmú afferens idegelemeinek finomszerkezeti jegyeit (**4. ábra**) és a jelölt axonok végződését a paraventriculáris, supraopticus és arcuatus idegmagvakban. Adataink arra utalnak, hogy a gátló és serkentő idegi bementek egyaránt retrográd endocannabinoid szignalizáció hatása alatt állhatnak. Az észlelet a táplálkozás szabályozás terén nyit új frontvonalat.

Wittmann G, Deli L, Kalló I, Hrabovszky E, Watanabe M, Liposits Z, Fekete C
Distribution of type 1 cannabinoid receptor (CB1)-immunoreactive axons in the mouse hypothalamus
J COMP NEUROL 503: (2) 270-279 (2007)
IF: 3.831



4. ábra. CB1-immunreaktív idegvégződések szimmetrikus (A) és aszimmetrikus (B) szinapszisokat alakítanak ki dendritikus töviseken (S).

6. Feltérképeztük a humán hypothalamus ghrelin immunreaktivitást mutató idegrost kötegeit és azok végződési területeit. Igazoltuk az immunfestés specifikus voltát. Adatok endogén ghrelin jelenlétére utalnak a humán agyban.

Menyhért J, Wittmann G, Hrabovszky E, Szlavik N, Keller É, Tschöp M, Liposits Z, Fekete C
Distribution of ghrelin-immunoreactive neuronal networks in the human hypothalamus
BRAIN RES 1125: 31-36 (2006)
IF: 2.341

7. Leírtuk az orexigén, neuropeptid-Y és anorexigén, alpha-melanocyte stimulating hormone (alpha-MSH) neuronrendszerek közötti kapcsolatrendszerét és annak aszimmetrikus jellegét a humán hypothalamus infundibularis idegmagjában. Fényt derítettünk a CART orexigén sejtcsoportban való előfordulására, mely észlelet eltér a rágsálókban leírt kémiai mintázattól.

Menyhért J, Wittmann G, Hrabovszky E, Keller E, Liposits Z, Fekete C
Interconnection between orexigenic neuropeptide Y- and anorexigenic alpha-melanocyte stimulating hormone-synthesizing neuronal systems of the human hypothalamus.
BRAIN RES 1076: 101-105 (2006)
IF: 2.341

Menyhért J, Wittmann G, Lechan RM, Keller É, Liposits Z, Fekete C
Cocaine- and amphetamine regulated transcript (CART) is colocalized with the orexigenic NPY and AGRP and absent from the anorexigenic alpha-MSH neurons in the infundibular nucleus of the human hypothalamus
ENDOCRINOLOGY 148: 4276-4281 (2007)
IF: 5.236

IV. Az anyagcsere és reprodukció új hormonális szabályozó mechanizmusainak feltárása: *in vivo* és *in vitro* modell vizsgálatok

1. Ösztrogén és glukokortikoid szignalizációs mechanizmusok

1. Elsőként írtuk le a humán reprodukciót vezérlő GnRH idegsejtekben a béta típusú ösztrogén receptor jelenlétét. Az észlelt az első evidencia az ösztrogén feedback hatás humán GnRH target rendszeren való közvetlen érvényesülésében.

Hrabovszky E, Kallo I, Szlavik N, Keller E, Merchenthaler I, Liposits ZS
Gonadotropin-releasing hormone neurons express estrogen receptor beta

J CLIN ENDOCRINOL METAB 92: 2827-2830 (2007)
IF: 5.799

2. Igazoltuk ösztadiol szerepét kálium áramok modulációjában immortalizált GnRH neuronok, ún. GT1-7 idegsejtek esetében. Az A és K típusú áramok előfordulását az ösztogén hormon ellentétes módon befolyásolta. 17-beta ösztadiol kezelés az A típusú áram indukcióját eredményezte 24 és 48 óra expozíciót követően. Kvantitatív RT-PCR vizsgálatok igazolták az A típusú csatorna Kv4.2 alegységének fokozott gén expresszióját 15 nM ösztadiol kezelést követően. Az eredmények arra utalnak, hogy a kálium csatornák ösztogén hormonok általi regulációja hozzájárulhat az LHRH neuronok tüzelési mintázatának és hormon szekréciójának szabályozásához.

Farkas Imre, Varjú Patrícia, Liposits Zsolt

Estrogen modulates potassium currents and expression of the Kv4.2 subunit in GT1-7 cells

NEUROCHEM INT 50: 619-627 (2007)

IF: 3.159

3. Molekuláris és elektrofiziológiai módszerekkel complement C5a receptor (C5aR) jelenlétét mutattuk ki hypothalamikus neuroszekretoros idegsejtekben, valamint GT1-7 neuronokban. A receptor expresszióját ösztrogén-függőnek találtuk és a szteroid hatásának kialakulásában ösztrogén receptor részvételét tártuk fel.

Farkas I, Varju P, Szabó E, Hrabovszky E, Okada N, Okada H, Liposits Z

Estrogen enhances expression of the complement C5a receptor and the C5a-agonist evoked calcium influx in hormone secreting neurons of the hypothalamus

NEUROCHEM INT in press: (2007)

IF: 3.159

4. *In vitro* rendszerben igazoltuk, hogy glukokortikoid hatásra kialakuló apoptotikus sejtelhalás folyamatát reverzibilissé lehet tenni mineralokortikoid receptor aktiválással hippocampalis tenyészetben.

Crochemore C, Lu J, Wu Y, Liposits Z, Sousa N, Holsboer F, Almeida OF

Direct targeting of hippocampal neurons for apoptosis by glucocorticoids is reversible by mineralocorticoid receptor activation

MOL PSYCHIATR 10: 790-798 (2005)

IF: 9.335

2. Pajzsmirigy hormon szignalizáció és aktiváció a hypothalamusban

1. Igazoltuk, hogy citokinek megnövelik a 2-es típusú deiodáz (D2) mRNS expresszióját a mediális basalis hypothalamus tanycyta sejtjeiben, mely szabályozás hozzájárul a lokális thyrotoxicosis kialakulásához. Ennek következménye a hypothalamus-hypophysis pajzsmirigy tengely gátlása, a centrális eredetű hypothyroidizmus.

Fekete C, Gereben B, Doleschall M, Harney JW, Dora JM, Bianco AC, Sarkar S, Liposits Z, Rand W, Emerson C, Kacskovics I, Larsen PR, Lechan RM

Lipopolysaccharide induces type 2 iodothyronine deiodinase in the mediobasal hypothalamus: Implications for the nonthyroidal illness syndrome

ENDOCRINOLOGY 145: 1649-1655 (2004)

IF: 5.151

2. Jellemeztük a T3 agyi generációjában szerepet játszó humán 2-típusú deiodáz enzim génjének (dio2) a nuclear factor-kappa B szignál transzdukciós útvonal által szabályozott génszakaszát, mely a „nonthyroidal illness syndrome” pathomechanizmusának felderítéséhez nyújtott értékes adatot.

Zeöld A, Doleschall M, Haffner C, Capelo L, Menyhért J, Liposits Z, Bianco AC, Kacskovics I, Fekete C, Gereben B

Characterization of the NF-kappaB responsiveness of the human dio 2 gene
ENDOCRINOLOGY 147: 4419-4429 (2006)
IF: 5.236

3. Igazoltuk az ubikvitináció és deubikvitináció szerepét és meghatározó elemeit a 2-es típusú deiodáz sejt-specifikus poszt-transzlációs szabályozásában.

Fekete C, Freitas BC, Zeold A, Wittmann G, Kadar A, Liposits Z, Christoffolete MA, Singru P, Lechan RM, Bianco AC, Gereben B
Expression patterns of Wsb-1 and Usp-33 underlie cell-specific post-translational control of type 2 deiodinase (d2) in the rat brain
ENDOCRINOLOGY 148: 4865-4874 (2007)
IF: 5.236

V. Módszertani fejlesztések

1. Megteremtettük a hypothalamus szelet elektrofiziológiai vizsgálat lehetőségét új patch-clamp laboratórium kialakításával.
2. Korszerű molekuláris biológiai laboratóriumot hoztunk létre és széles módszertani repertoárt alkalmazunk.
3. Négyes immunfluorescens módszert dolgoztunk ki.
3. Hármas *in situ* hibridizációs vizsgáló eljárást dolgoztunk ki.
4. Fél száz gén expressziójának *in situ* vizsgálatára alkalmas ribopróba kollekciót készítettünk és hasonló számban teremtettük meg a gének kvantitatív RT-PCR vizsgálatának feltételeit.

VI. Eredmények közreadása

A tudományos eredményekről **31** folyóirat közleményben számoltunk be. A megjelent és elfogadott tudományos cikkek összesített impakt értéke: **117.71**.