

Kísérleteink során a neuropeptid modulátorok, ill. a neurotranszmitter monoaminerg rendszer jelentőségét vizsgáltuk a hypothalamo-neurohypophysealis rendszer működésének regulációjában. *In vivo* kísérleteink során megállapítottuk, hogy a sertés bélből izolált, 29 aminosavból álló galanin (GAL) fontos szerepet játszik a neurohypophysis (NH) hormonok kiválasztásában. Kimutattuk, hogy intracerebroventrikuláris (i.c.v.), ill. intravénás (i.v.) bejuttatás után a GAL nem befolyásolja a bazális vazopresszin (VP) és oxytocin (OT) kiválasztást. Ozmotikus és nem-ozmotikus inger hatására fellépő VP szint emelkedést a GAL mérsékelte. Összehasonlítottuk a patkány, sertés és humán GAL hatását, a VP, ill. OT szint csökkenés mértékben azonban különbséget nem találtunk. Figyelemre méltó eltérést a patkány, sertés és humán GAL effektusa között nem észleltünk.

A GAL molekula biológiai aktív centrumát tanulmányozva megállapítottuk, hogy a 30 aminosavat tartalmazó humán GAL 1-16 N-terminális fragmens csökkenti a VP kiválasztást (a teljes molekula hatásával megegyezően). Míg a 16-30 C-terminális GAL fragmens hatástalannak bizonyult. E megfigyelésből arra következtettünk, hogy az aktív centrum a GAL molekula első részére korlátozódik. A GAL hatás specificitásának bizonyítására a GAL i.c.v. injekció beadása előtt GAL antagonistát galantidot (M15) adtunk. Megállapítottuk, hogy a GAL antagonistát teljesen kivédte a 2.5%-os NaCl oldat, ill. a hisztamin adagolása által emelkedett plazma VP szintnek a GAL-okozta csökkenését.

Kimutattuk továbbá, hogy patkány, sertés és humán GAL i.c.v. adását követően csökkenti a szoptatás hatására fellépő OT szint emelkedést. A GAL hatás specificitásának bizonyítására a GAL i.c.v. injekció beadása előtt GAL antagonistát galantidot (M15), M35-öt, ill. M40-et adtunk. Megállapítottuk, hogy mindhárom GAL antagonistát kivédte a szoptatás által kiváltott emelkedett plazma OT szintnek a GAL adagolás okozta csökkenését. Az elmúlt évben (2006) meghatároztuk a hypothalamus és NH VP mRNS tartalmát PCR eljárással patkány GAL i.c.v. adását követően, szignifikáns eltérést a kontrollhoz viszonyítva nem

találtunk. Ozmotikus inger (2.5% NaCl), ill. hisztamin adása után mind a hypothalamus, mind a NH VP mRNS koncentrációja növekedett, a fokozott génexpresszió mértékét az előzetesen adott GAL mérsékelni tudta.

In vitro kísérleteink alkalmával patkány GAL hatását tanulmányoztuk a VP és OT kiválasztásra izolált patkány NH szövetkultúrában. Előzetesen beszámoltunk arról, hogy az általunk kidolgozott módszer segítségével olyan NH sejt kultúrát tudunk előállítani, amely képes VP és OT termelésre és kiválasztásra. Az NH hormonok szintjét radioimmunoassay (RIA) eljárással határoztuk meg. A továbbiakban tömegspektrográf felhasználásával bizonyítottuk, hogy a sejt kultúra felülűző médiumában nemcsak immunológiailag, hanem tömegspektrográffal is azonosíthatók az NH hormonok. Az NH szövetkultúra biológiai aktivitása mellett szólnak azok a vizsgálatok, amelyek a hipofízis hátsólebeny sejtek, a pituiciták VP és OT génexpressziójáról számolnak be.

Megállapítottuk, hogy a szövetkultúrában a hormon kiválasztás az inkubáció kezdetétől számított 5-6. napon indul meg, fokozatosan növekszik, a 13-14. napon eléri a maximumot és a későbbiek során a szupernatans médium NH hormon tartalma nem változik. Kísérleteink alkalmával 14 napos szövetkultúrákat használtunk. Megfigyeltük, hogy egy-két órás inkubáció után a szupernatans médiumban dózistól függően (10^{-6} - 10^{-9} M) a GAL szignifikáns módon csökkentette a VP és OT koncentrációt.

Vizsgálataink során összehasonlítottuk a humán, sertés, patkány GAL, illetve a humán GAL C- és N-terminális fragmens NH hormon kiválasztására gyakorolt hatását. Kimutattuk, hogy a patkány, sertés, és humán GAL effektusa között szignifikáns különbség nincs. A vizsgált két humán GAL fragmens azonban eltérően viselkedett, míg a 1-16-os N-terminális fragmens a teljes molekulával azonos módon csökkentette a VP és OT szintet, addig a 16-30 C-terminális fragmens hatástalannak bizonyult. Eredményeink alapján megállapítható, hogy -az *in vivo* kísérleteinkkel összhangban- a GAL biológiai aktív centruma az N-terminális

részen foglal helyet. Feltételezhető, hogy a tenyésztett pituiciták membránján GAL receptorok helyezkednek el. A monoaminerg anyagok közül először a dopamin (DA) hatását vizsgáltuk az NH hormon kiválasztásra. Kimutattuk, hogy DA és a DA-aktív apomorphin, ill. Pro-Lys-Gly növelte a VP és OT szintet az NH szövetkultúrában. A DA-aktív vegyületek által kiváltott VP és OT szint emelkedést a médiumhoz előzetesen hozzáadott GAL teljes mértékben kivédte. A GAL receptor antagonistá galantid (M15) viszont megelőzte a GAL DA-blokkoló hatását. Vizsgálataink arra utalnak, az NH sejteiben, a pituicitákban DA receptorok vannak és a DA-erg reguláció, valamint a GAL-DA interakció a hipotalamusztól függetlenül, a hipofízis hátsólebeny szintjén is érvényesül.

A neurotranszmittereknek az NH hormonok kiválasztásában játszott szerepét tanulmányozva a következő kísérletsorozatunkban a szerotonin (5-hydroxytryptamin, 5-HT) hatását vizsgáltuk. A VP és OT szint, az 5-HT dózistól függően szignifikáns emelkedést mutatott a szövetkultúra felülúszó médiumában. Az NH hormon kiválasztás fokozódása részben megakadályozható az 5-HT kezelés előtt adott 5-HT antagonistá ketanszerinnel, ill. metergolinnal. WAY-100635 nem befolyásolta az 5-HT okozta VP szekréció fokozódást, de az OT termelés növekedést blokkolta.

Az 5-HT és a GAL interakcióját vizsgálva kimutattuk, hogy az 5-HT által kiváltott NH hormon kiválasztás fokozódása kivédhető előzetesen adagolt GAL bejuttatásával. Amennyiben az 5-HT adagolás megelőzte a GAL hozzáadását, a GAL preventív hatása nem érvényesült. Megfigyeléseink alapján feltételezhető, hogy az NH 5-HT receptorokat tartalmaz. Felvetődik a kérdés, hogy milyen 5-HT receptorok játszanak szerepet az NH hormon kiválasztás regulációjában. Ismeretes, hogy ezideig 3 5-HT receptor csoportot izoláltak és ezen belül 15 altípust határoztak meg. Vizsgálataink eredményeként arra következtethetünk, hogy az 5-HT₂ receptor egyaránt involvált az 5-HT által kiváltott VP és OT szekréció növekedésben, izolált NH szövetkultúrában. De a szelektív 5-HT₁ receptor

antagonista csak az OT kiválasztás fokozódást gátolja. Mindezek alapján azt a következtetést vonhatjuk le, hogy a serotonin rendszer az NH hormon kiválasztást direkt módon, a hátsó lebeny szintjén is befolyásolni képes.

A továbbiakban a hisztamin (HA) hatását vizsgáltuk a VP és OT kiválasztásra 13-14 napos NH szövetkultúrában. Megállapítottuk, hogy a VP és OT termelés HA dózistól függően növekszik a felülúszó médiumban. Az NH hormon kiválasztás fokozódás részben blokkolható előzetesen adott H_1R és H_2R antagonistákkal: mepyramine (MEP, H_1R antagonista), illetve cimetidine (CIM, H_2R antagonista). A H_3 - H_4R antagonista thioperamid hatástalannak bizonyult. Amennyiben a MEP, ill. CIM adagolása a HA hozzáadása után történt, a VP és OT szint emelkedés változatlan maradt. Kísérleteink alapján arra következtettünk, hogy a H_1 és H_2 receptorok játszanak szerepet a HA által kiváltott NH hormon szekréció fokozódásban *in vitro* körülmények között, míg a H_3+H_4 receptor antagonista ineffektívnek bizonyult. A GAL-HA interakciót vizsgálva megállapítottuk, hogy HA kezelés előtt adagolt GAL kivédi a VP és OT szint emelkedést, míg a HA adagolás után alkalmazott GAL nem csökkentette az NH hormonkiválasztás fokozódást. Ezt a jelenséget azzal magyaráztuk, hogy a HA-val történő 20 perces előinkubációs periódus alatt jelentős VP és OT szekréció növekedés jön létre, amelyet az utólag adott HA antagonisták, ill. GAL jelentősen nem tud csökkenteni. Eredményeink arra utalnak, hogy a HA-erg reguláció és a GAL-HA interakció a VP és OT kiválasztás vonatkozásában a hypothalamusztól függetlenül, a hypophysis hátsólebeny szintjén is érvényesül.

Az adrenerg rendszer jelentőségét a VP kiválasztás szabályozásában csak *in vitro* körülmények közt tanulmányoztuk. Megállapítottuk, hogy adrenalin (A), ill. noradrenalin (NA) egyaránt növeli az NH sejtek VP termelését. Előzetesen adott α receptor antagonista phentolamin ($\alpha_1+\alpha_2R$ antagonista), ill. corynanthin (α_1R antagonista) kivédi a VP szint emelkedést, míg az α_2R antagonista yohimbin nem befolyásolta az A-okozta VP koncentráció

fokozódást. Propranolol ($\beta_1 + \beta_2$ R antagonist) NA adás előtt megakadályozta a VP szint emelkedést. Atenolol (β_1 R antagonist) nem változtatta meg az NA indukálta VP koncentráció növekedést. Meglepő eredményt kaptunk pindolol (PDL, $\beta_1 + \beta_2$ R antagonist) kezelést követően: PDL önmagában –az NA adáshoz hasonlóan– fokozta a VP termelést. Az ellentmondó eredményt az magyarázhatja, hogy a PDL nemcsak β receptor blokkoló hatással bír, hanem jelentős „intrinsic sympathomimetic action (ISA)” tulajdonságának megfelelően erős adrenerg agonista hatással rendelkezik. Megvizsgáltuk a GAL-adrenerg szisztéma interakcióját is. Azt találtuk, hogy előzetesen adott GAL kivédte az A, ill. NA okozta VP szint emelkedést. Vizsgálataink alapján arra következtettünk, hogy az α_1 és β_2 adrenerg receptorokon keresztül érvényesül az A, ill. NA által kiváltott VP termelés fokozódás NH szövetkultúrában. A VP adrenerg regulációja és a GAL-adrenerg interakció a hypophysis hátsólebeny szintjén is kimutatható.

Végül az aspecifikus ozmotikus inger hatását vizsgáltuk a VP és OT szekrécióra NH szövettenyészetben. K^+ -ot adtunk a felülúszó médiumhoz és jelentős NH hormonkiválasztás fokozódást észleltünk, a VP és OT szekréció növekedés előzetes GAL kezeléssel nem védhető ki. Mivel a K^+ hormonszekréciót fokozó hatása nem receptorokhoz kötött, ebből arra következtethetünk, hogy a GAL-monoaminerg interakció a specifikus receptorok közreműködésével érvényesül.