

SZOMATOTROPIN ELVÁLASZTÁST SERKENTŐ ANYAG A MEDIO-BASALIS HYPOTHALAMUSBAN

ANTONI FERENC ANDRÁS, MAKARA B. GÁBOR, az orvostudományok kandidátusa
és RAPPAY GYÖRGY, az orvostudományok kandidátusa

Közlésre érkezett: 1981. V. 4.

A hypophysis elülső lebenyének hormon-elválasztását elsősorban a hypophysis nyél-eminentia mediana (SME) neurosecretorios idegvégződése által elválasztott ún. hypothalamikus releasing és inhibiting hormonok szabályozzák. (Flerkó, 1980). Ezen hormonok közül három peptid, a thyreotropin releasing hormon, a luteinizáló hormon releasing hormon, valamint a szomatotropin inhibiting hormon (szomatosztatin) szerkezetét tisztázták, és kémiai szintézis útján előállították, ami lehetővé tette hatásaik széles körű vizsgálatát.

A szomatosztatin valamennyi eddig vizsgált rendszerben gátolja a szomatotropin (STH) elválasztását (Martin és mtsai, 1978; Vale és mtsai, 1975), sőt megalapozottnak tűnik az az állítás, miszerint a szomatosztatin az STH elválasztás fiziológiás szabályozó tényezője (Martin és mtsai, 1978). Az STH elválasztás pontos dinamikáját azonban csupán a hypothalamikus szomatosztatin rendszer aktivitásának változásával nem tudjuk kielégítően megmagyarázni. Ha például patkányok agykamrájába noradrenalin juttatunk, a plazma STH szint emelkedik, a hypophysealis portális vér szomatosztatin tartalmának egyidejű fokozódása ellenére (Weiner, Ganong 1978; Chihara és mtsai, 1979a). Neuropeptidek, így szubsztansz P és az endogén opiátok fokozzák az STH elválasztást anélkül, hogy befolyásolnák a hypophysealis portális vérszomatosztatin koncentrációját (Abe és mtsai, 1980; Chihara és mtsai, 1978).

Ezen ellentmondásoknak részben kétségtelenül oka lehet az alkalmazott kísérleti rendszerek különbözősége (Vijayan és McCann, 1980); felvetődik azonban egy STH elválasztást serkentő hypothalamikus faktor (SRH) létezésének lehetősége. Ezt a feltételezést különböző módon előállított hypothalamikus szövet-kivonatokkal végzett számos kísérlet valószínűsíti (Boyd és mtsai, 1978; Collu és mtsai, 1976; Krulich és mtsai, 1968; Sandow és mtsai, 1972; Worthington és mtsai, 1972). Legutóbbi időben Lowry és mtsai (1980) számoltak be az eminentia medianából kivonható peptid természetű anyagról, amely specifikus SRH aktivitással rendelkezik.

Míg a szomatosztatin agyi megoszlása, illetve a szomatosztatint tartalmazó neuronok anatómiája eléggé jól ismert (Bennett—Clarke és mtsai, 1980;

Dierickx és Vandesande, 1979; Elde és Hökfelt, 1978; Palkovits és mtsai, 1980) a köztiagyban, addig a SRH aktivitás agyi megoszlásáról szegényes ismeretekkel rendelkezünk (*Krulich és mtsai, 1977*). Kísérleteinkben arra próbáltunk választ keresni, hogy a hypophysis nyél-eminencia medianában kimutatható SRH aktivitás hogyan alakul a mediobasalis hypothalamus (*Palkovits, 1978*) (MBH) neurális összeköttetéseinek átmetszése után.

Módszer

Állat: Hím, 200—400 g súlyú CFY patkányokat 24 °C hőmérsékletű 55—75% páratartalmú, ciklikus megvilágítású (fény 7^o—19^o között) helyiségben tartottuk. Táplálékot és csapvizet ad libitum kaptak.

Műtétek: Az MBH teljes deafferentálását (TD) nembutal altatásban (35—40 mg/kg) hajtottuk végre, 1,6—1,8 mm sugarú és 1,8 mm magasságú Halász-késsel *Makara és mtsai (1970)* szerint. Antero-lateralis deafferentálást (ALD) ugyanilyen méretű késsel az alábbiak szerint végeztünk: a kést a középvonalban 1,5 mm-rel a bregma varrat mögött a koponyaalapig vezettük le, majd 90 °-kal jobbra forgattuk. Ezután vízszintes síkban 0,5—1,2 mm-t caudal felé mozdítottuk, majd ugyanezen az úton visszavittük az eredeti helyzetbe, és a túloldalon megismételtük a műveletet. A kést kiindulási pozícióba érkezése után húztuk vissza az agyból. Álműtét esetén a kést a középvonalban 5 mm-rel az agyfelszín alá süllyesztettük, majd visszahúztuk. A teljes MBH léziók rosszul sikerült TD műtétek nyomán keletkeztek. A műtét után 1,5 mg Tetrán-t s. c. kaptak az állatok, amelyeket a műtétet követő 6., illetve 7. napon használtunk fel.

Elektromos ingerlés

Nullás méretű rovartüből (Imperial, Karlsbad) készült elektród párt használtunk. A tüket InslX (InslX Co, USA) gyantával szigeteltük 0,5 mm-nél nem nagyobb csúcsokat hagyva, amelyek 1,45 mm-re voltak egymástól. Uretánnal (1,0—1,2 g/t. súly kg) vagy pentobarbitállal altatott állatok v. femoralisába vérvétel céljára szilikon gumicsövet vezettünk, majd az állatot sztereotaxikus készülékbe helyeztük. Az elektród párt coronalis síkban, a középvonalra szimmetrikusan, a bregma mögött 1800—4000 μ m távolságra a csontos koponya-alapig vezettük, majd onnan 0,5 mm-t emeltük. Ilyen módon mindkét hypothalamus-felet ingereltük. Az elektródokat EMG gyártmányú ingerlő egységhez csatlakoztattuk, amelyet Digitimer D4030 típusú (DEVICES Ltd) programozóval vezéreltünk. Az ingerparaméterek a következők voltak: 5 másodpercig váltóáramú négyszög impulzusok (egy impulzus időtartama 2 msec, amplitúdó $\pm 200 \mu$ A, frekvencia 50 ciklus/sec) sorozatát vezettük az

elektródokra, amelyeket 10 másodperces szünet követett a következő sorozatig. Az állatok összesen 40ingersorozatot kaptak. Az ingerlés időtartama alatt (10 perc) az elektródokon átfolyó áramot oszcilloszkóppal folyamatosan ellenőriztük. „Álingerlés” esetén az elektródokat bevezettük az agyba, de az áramot nem kapcsoltuk be.

Az első vérmintát (0,5 ml) az elektródok bevezetésétől számított 20. percben vettük le (0 időpont), majd ezt követően további mintákat gyűjtöttünk 5, 10, 15, 20, illetve néhány kísérletben 25 perc múlva is. Az elektromos áramot közvetlenül a 0 perces vagy 15. perces vérvétel után kapcsoltuk az elektródokra. Minden egyes vérvétel után a kanülön át 0,5 ml, 0,15 mol/l NaCl oldatot fecskendeztünk be az állatoknak. A kísérlet befejezésekor kb. 1 mA erősségű anódáramot vezettünk az elektródokra, amelyeket ezután eltávolítottunk az agyból. Az állatokat dekapitáltuk, az agyat 10%-os formalinba helyeztük, amely \overline{aa} 3% kálium ferri, illetve ferrocianidot tartalmazott. Ilyen módon az elektródhegyekről levált vasat a berlini kék reakcióval tettük láthatóvá.

Szövetteni feldolgozás

Négy-hat napi fixálás után az agyakat paraffinba ágyasztuk és frontális síkban 10 μm -es sorozatmetszeteket készítettünk belőlük. Minden 5. metszetet tárgylemezre vittük, és haematoxylin-eosinnal vagy Brinkman és Bock (1970) szerint megfestettük. A műtéti metszések alakját, elhelyezkedését, valamint az elektródhegyek helyét két, egymástól független vizsgáló rögzítette a hormonmeghatározások eredményének ismerete nélkül. Az elektromos ingerlést elfogadtuk, ha annak helye a frontális síkban legalább 500 μm -el az eminentia mediana zóna externájának megjelenése mögött, de a hypophysisnyél leválás szintje előtt volt; oldalt és fölfelé pedig nem haladta meg a nucl. ventromedialis határait.

Szövetkivonatok készítése

Álműtött, TD és ALD állatokat dekapitáltunk. Az agyat óvatosan kiemeltük a koponyából, majd az eminentia medianat a rajta függő hypophysisnyél darabbal együtt (SME) gyorsan kimetszettük (Kárteszi és mtsai, 1978). A szövetdarabkát azonnal üveghomogenizátorba helyeztük, amelyben 30 μl 4 °C hőmérsékletű 0,1 mol/l HCl, vagy 0,2 mol/l HCl és acetone 1 : 1 arányú keveréke volt. A szövetet homogenizáltuk, majd 2500 \times -g-vel 30 percig 4 °C-on centrifugáltuk. A felülúszót leszívtuk és az üledéket újabb 15 μl extraháló folyadékban ismét homogenizáltuk, és centrifugáltuk. A két felülúszót összeöntöttük és liofilizáltuk. A nyert szárazkivonatot 0,1%-os bovin szérumban

mint tartalmazó, Dulbecco által módosított Eagle-féle minimal essential mediumban (DMEM) oldottuk fel. Minden egyes SME kivonatból három hígítást készítettünk, és az egyes hígítások SRH aktivitását három vagy négy párhuzamos mérésben, patkány hypophysis elülső lebeny sejtek primér tenyészetén vizsgáltuk. Mivel a két kivonási módszer (sósav, illetve acetone: sósav) között nem találtunk különbséget SRH aktivitás szempontjából, az eredményeket együtt értékeltük. Hypophysis mikroinjekcióhoz az SME szárazanyagot 10 μ l 0,1% albumint tartalmazó 0,15 mol/l-os, pH 7,4 konyhasóban oldottuk. Patkány frontális kéregből a fentiekhez teljesen hasonló módon készítettünk kivonatokat.

SRH bioassay szövettanyészeten

Nőstény patkányok hypophysiseinek elülső lebenyeiből tripszines emésztéssel sejtuszpenziót készítettünk (Rappay és mtsai, 1979; Kárteszi és mtsai, 1978), majd a sejteket 96 lyukú tenyésztőtálcába (Corning, USA) 10⁵ sejt/lyuk sűrűségben kiültettük. A tenyésztőfolyadék lyukanként 100 μ l DMEM volt, amely 2,5% foetalis borjúsavót, 10% lósavót és 0,1% nem esszenciális aminosav keveréket (Flow Lab., Skócia) tartalmazott. Négy nap múlva a sejteket kétszer mostuk 100 μ l 0,1% bovin szérum albumint (BSA) tartalmazó DMEM-mel, majd ugyanebben a médiumban 120 percig előinkubáltuk a tenyészeteket. Ezután a megfelelő hatóanyagokat tartalmazó 0,1% BSA DMEM-re cseréltük a tenyésztőfolyadékot és a sejteket újabb 120 percig inkubáltuk. Az inkubálás végén a médiumot leszívtuk és centrifugáltuk. A felülúszóból hormonmeghatározás céljára mintákat vettünk, amelyeket feldolgozásig —20 °C-on tároltunk. A SME kivonatokon kívül a következő anyagokat használtuk: Szintetikus alfa melanotropin (Reanal Lot N° 7909603), ⁸Arg-vazopressin (Calbiochem, Lot N° 170004), oxytocin, Dr. Kisfaludy Lajos (Kőbányai Gyógyszerárugyár) ajándéka.

Hypophysis mikroinjekció

Hypophysis mikroinjekciókat Hedge és mtsai (1966) módszere alapján végeztünk. Uretánnal altatott hím patkányok v. femorálisát kanuláltuk, majd az állatokat sztereotaxikus készülékbe fogtuk be. A koponyatetőn mintegy 2 mm átmérőjű lyukat fúrtunk. Ezután (0 perc) vérmintát vettünk, majd a koponyán fúrt nyíláson át 200 μ m átmérőjű hegygel rendelkező kapillárist vezetünk a hypophysisbe. A vizsgált hatóanyagot 0,5 μ l térfogatban adtuk be, és a beadás kezdetétől számított 3., 10. és 20. perc elteltével további vérmintákat gyűjtöttünk. A kísérlet végén az injekció helyét a kapillárison át beadott 0,3 μ l 2% Pontamine Sky Blue (Gurr, Anglia)-val jelöltük meg.

Hormon-meghatározások

A vérplazma és az inkubáló médium STH tartalmát radio-immunoassay-el Dr. A. F. Parlow által küldött NIAMDD anyagokkal, GH-RP₁ standardhoz viszonyítva határoztuk meg. A kötött és szabad hormonfrakciót hővel és formaldehid kezeléssel inaktivált staphylococcus aureus 20%-os szuszpenziójával választottuk szét. (Bact-A-Sorb, Humán, Budapest). Az intra-, illetve interassay-variációs koefficiens 5%, illetve 10% volt. Az inkubáló folyadék ACTH tartalmát radio-immunoassay-el határoztuk meg (*Makara és mtsai, 1979*).

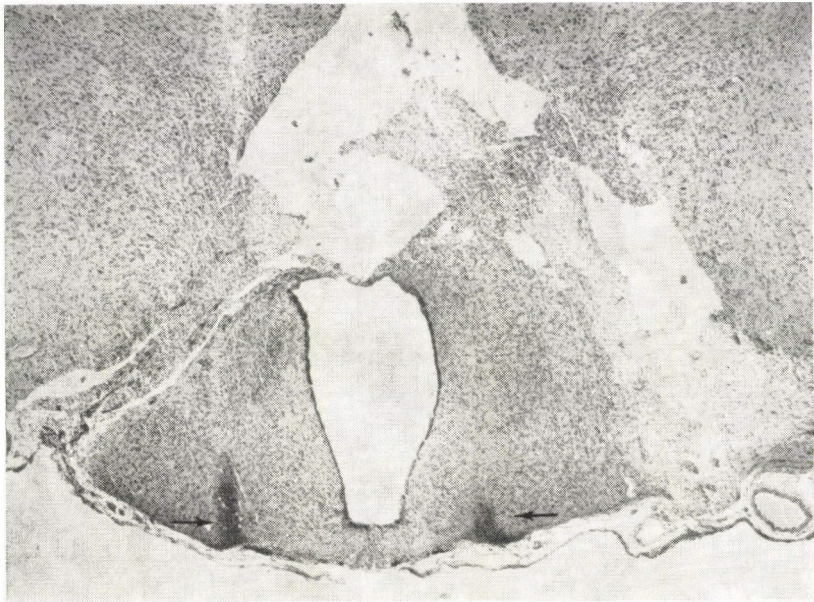
Statisztika

A plazma STH adatokat logaritmikus transzformáció után analizáltuk (*Krulich és mtsai, 1974*). Két szempontos variancia analízist és Dunnett-féle próbát, illetve két-mintás t-próbát alkalmaztunk. Az adatok geometriai átlagait közöljük. Az átlag hibáját \bar{x} RSEM-el adjuk meg, ahol RSEM a plazma hormon-szintek logaritmus transzformációja után kapott átlag standard hibájának retranszformált értéke.

Eredmények

Műtétek: Különös figyelmet fordítottunk a TD metszések ellenőrzésére. A hypothalamus sziget tartalmazta eminentia medianat, a nucl. arcuatust és a nucl. ventromedialis jelentős részét. Néhány esetben a nucl. ventromedialis teljesen elpusztult, de mivel ilyen állatokban nem tapasztaltuk az SRH aktivitás jelentős változását a „teljes” szigettel rendelkező állatokhoz képest, ezeket az állatokat nem soroltuk külön kísérleti csoportba. A TD állatok elektromos ingerlését akkor fogadtuk el, ha mindkét elektródhegy a szigetben volt (1A ábra), vagy ha az egyik a szigetben, a másik a környező necrotikus hegyszövetben helyezkedett el (1B ábra). Az anterolateralis deafferentálás értékelésekor az első kísérlet-sorozatban két csoportot különítettünk el a hormon-meghatározás eredményei alapján (lásd lentebb).

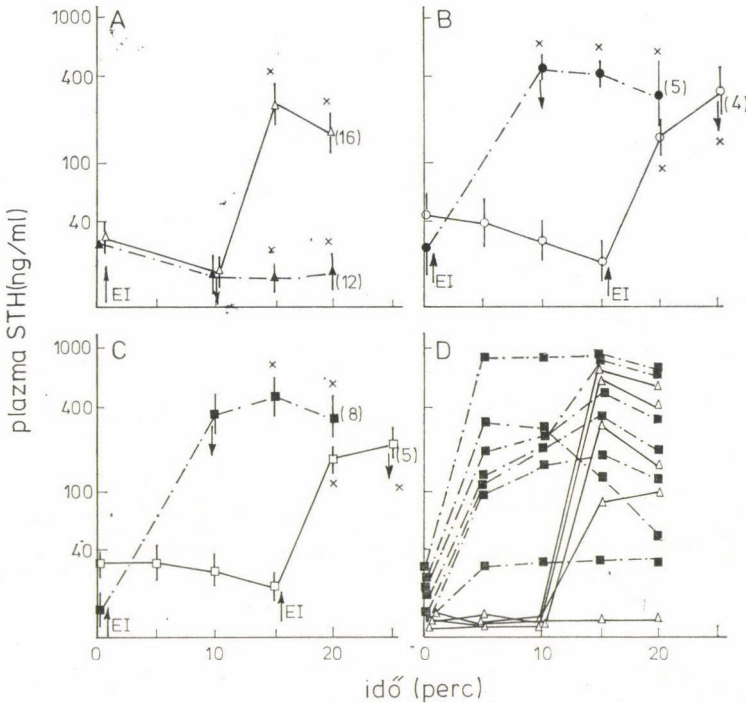
Az ún. 1. típusú ALD csoportban a műtéti metszést frontális sorozatmetszetekben az eminentia mediana zona externájának megjelenésétől legalább 400 μ m-ig mindkét oldalon követni tudtuk, és az agyalaptól számított 300 μ m-nél nagyobb szövetfolytonosságot nem találtunk. A fenti kritériumoknak nem megfelelő metszés esetén az állatokat az ún. „2. típusú ALD” csoportba soroltuk. További kísérletekben (mintegy 60 db ALD műtött és ingerelt patkány) ez az osztályozás kielégítőnek bizonyult a hormonválasz szempontjából eltérőnek mutatózó két csoport szövettani vizsgálat alapján történő előzetes elkülönítésére.



I. ábra. A hypothalamus frontalis metszete teljes deafferentálás után. Haematoxylin-eosin, 40-szeres nagyítás. — A. Fent: Tipikus sziget, a nyilak az elektrodhegyek helyét mutatják. — B. Lent: Kis sziget, amely gyakorlatilag csak a nucleus arcuatus-t és az eminentia medianat tartalmazza. Az egyik elektrodhegy a szigetben látható, míg a másik a szomszédos nekrotikus területben helyezkedik el

Elektromos ingerlés

Összesen 16 álműtött állatban 13 esetben az MBH elektromos ingerlése a plazma STH szintet jelentősen emelte, 15 perccel az ingerlés megkezdése után (2A. ábra). A hormonszint a 20. percben is magasabb a 0 perces értéknél, de már csökkenő tendenciát mutat. A megfelelő „álingerelt” csoportban hasonló mérvű hormonszint növekedést nem találtunk, sőt kismértékű, de statisztikailag szignifikáns csökkenést tapasztaltunk a 15. és 20. percben. Az álműtött csoporttal szemben TD állatokban a plazma STH koncentráció már az elektromos ingerlés időszaka alatt fokozódik, a 20. percben is lényegesen magasabb



2. ábra. A plazma STH szint alakulása nembutállal, illetve uretánnal altatott patkányokban az MBH elektromos ingerlés (EI) kapcsán; sorozat vérmintákat a vena femoralisba ültetett kanülből vettünk. Az elektromos ingerlést a 0. perces vagy a 15. perces vérminta levétele után kezdtük; összesen tíz percig ingereltünk. A kísérletek elemszámát a zárójelbe tett számok adják meg. A plazma STH szintek kiértékelése log transzformáció után két szempontos variancia analízissel és Dunnett-próbával történt. Geometriai átlagok \bar{x} R. S. E. M. $x = p < 0,01$ a megfelelő ingerlés kezdete előtti értékhez viszonyítva. — A. Plazma STH válasz „álalműtött-ingerelt” (—) és álműtött-álingerelt állatokban. (---). B. TD műtött állatok plazma STH koncentrációjának változása elektromos ingerlés kapcsán (- - - -). A folyamatos vonallal jelzett csoport mutatja a hormonszintet abban az esetben, amikor az ingerlést nem kezdtük meg 0. percben; a 15. percnél kezdett stimuláció a hypothalamus sziget válaszkészségét bizonyítja. — C. Ua. mint (B.) 1. típusú ALD műtött állatokkal. — D. Uretánnal altatott álműtött és 1. típusú ALD-műtött (- - - -) állatok plazma STH szintje MBH ingerlés [kapcsán. Egyedi értékek

a kiindulási értéknél, de már szintén csökkenőben van (2B. ábra). Teljes MBH lézió esetén a hormonszint alacsony és elektromos inger hatására nem változik ($11 \times 1,4$ ng/ml, 15. percnél; geo átlag \bar{x} RSEM, $n = 3$).

Az 1. típusú ALD csoportban az STH szint a TD csoporthoz hasonlóan alakult, azaz már az ingerlés során emelkedett (2C. ábra). A 2. típusú ALD csoport STH válasza az álműtött csoporthoz hasonlított a vizsgált időtartam alatt. Egyes esetekben az ingerlés során is tapasztaltunk kismértékű emelkedést (20–40 ng/ml), de az ingerlés befejezése utáni növekmény (100–500 ng/ml) ezt jelentősen meghaladta. Uretán altatásban a fentiekkel teljes mértékben egybevágó eredményeket kaptunk (2D. ábra).

Hypophysis mikroinjekció

Uretánnal altatott patkányban 0,05 SME-nek megfelelő, TD állatból származó kivonat beadása után a plazma STH szint 3 percen belül emelkedik. A válasz maximuma 10 percnél van. Kéregkivonat hatására kismértékű hormonszint-emelkedést találtunk, míg az oldószer önmagában hatástalan volt (1. táblázat).

1. táblázat

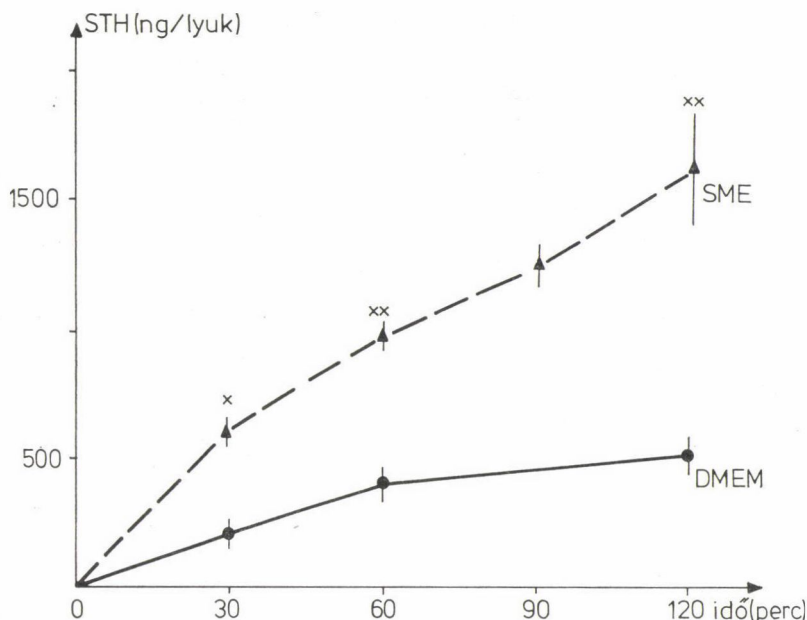
Mikroinjekció uretánnal altatott hím patkányok hypophysisének elülső lebenyébe. A kéregkivonat és TD műtött donorok SME kivonatának hatását vizsgáltuk. 0,05 SME-nek megfelelő szárazanyagot adtunk be 0,5 μ l, 0,1% bovin albumint tartalmazó, pH 7,4-es 0,15 mol/L NaCl oldatban. Sorozatvérmintákat a vena femoralisba vezetett kanülön keresztül vettünk. A plazma STH szinteket logaritmus transzformáció után kétszemponos variancia-analízissel értékeltük, melyet Dunnett-próba követett. $\S = p < 0,01$ a megfelelő 0 perces értékhez viszonyítva. Geometriai átlagok \bar{x}

R. S. E. M.

Kezelés	plazma STH ng/ml			20 perccel a beadás után
	0	3	10	
Agykéreg kivonat n = 10	2,5 \bar{x} 1,2	13,9 \bar{x} 1,5 \S	16,5 \bar{x} 1,5 \S	15,9 \bar{x} 1,6 \S
TD SME kivonat n = 11	10,1 \bar{x} 1,6	69,8 \bar{x} 1,2 \S	124 \bar{x} 1,4 \S	70 \bar{x} 1,6 \S

SRF aktivitás mérése sejttenyészetben

Az inkubálási periódus alatt a tenyésztőfolyadék immunreaktív STH tartalma az idő függvényében nőtt (3. ábra). A hormonleadás 1. típusú ALD műtött állatokból származó 2 SME kivonat/ml hatására valamennyi vizsgált időpontban szignifikánsan meghaladta a megfelelő kontroll értéket. A TD és 1. típusú ALD állatokból készült SME kivonatok dózistól függően fokozták a tenyészetek STH leadását.



3. ábra. Hypophysis elülső lebeny sejtek primér tenyészetének STH leadása az idő függvényében. 0,2 SME-nek megfelelő, 1. típusú ALD műtött állatokból származó SME kivonat jelenlétében az STH leadás szignifikánsan fokozódott. Átlag \pm standard hiba. $n = 4$. Két szempon-
tos variancia-analízis. $x = p < 0,05$ $xx \equiv p < 0,01$ a megfelelő DMEM értékhez képest

Ezek a kivonatok hatásosabbnak bizonyultak az álműtött állatokból készült kivonatnál (2. és 3. táblázat). A kéregextraktumnak nem volt következetesen kimutatható befolyása a médium hormontartalmára. Ugyanezekben a kísérletekben a TD-SME kivonatok nem fokozták a tenyészet ACTH leadását, míg az álműtött SME kivonatok emelték azt (2. táblázat). Az 1. típusú ALD állatokból származó SME kivonatok kismértékben fokozták az ACTH leadását (3. táblázat). Alfa melanotrop hormon (17—170 ng/ml) oxytocin, vazopresszin (2—200 ng/ml) nem befolyásolták sem az STH, sem az ACTH leadást.

Megbeszélés

Az MBH idegi struktúráinak ingerlése fokozta a plazma STH szintet pentobarbitallal altatott patkányban, megerősítve mások hasonló eredményeit (Martin, 1972; Frohman és mtsai, 1968; Bernardis és Frohman, 1971). Uretánnal altatott állatban Martin nem tudta megismételni nembutal altatásban kapott eredményeit — az elektromos inger nem fokozta az STH elválasztást (Martin és mtsai, 1978). Ezzel szemben jelen kísérletekben nem találtunk különbséget az uretán, illetve a pentobarbital altatás között az elektromos ingerlés plazma STH szintre gyakorolt hatását illetően.

2. táblázat

Patkány hypophysis elülső lebeny sejtek primér tenyészetének STH és ACTH leadása. A tenyészeteket 120 percig inkubáltuk a különböző hatóanyagok jelenlétében. Agykéreg kivonat, valamint álműtött és TD donor állatokból származó SME kivonatok hatását vizsgáltuk

Kezelés	STH ng/lyuk	ACTH fmol/lyuk
Sejtkultúra folyadék n = 6	407	183
Agykéreg kivonat 0,5 mg egyenérték/lyuk n = 3/dózis		
0,0125	635	204
0,05	428	179
0,2	530	244
Álműtött SME SME egyenérték/lyuk n = 9/dózis		
0,0125	645	336
0,05	746	379
0,2	841	764
TD SME SME egyenérték/lyuk n = 18/dózis		
0,0125	651	198
0,05	880	197
0,2	1216*	247

Az adatokat STH, illetve ACTH vonatkozásában külön értékeltük három- és két-szem-pontos variancia analízissel.

Az STH értékek hibavariációjára 136 ng/lyuk. Az agykéreg kivonat nem befolyásolta az STH leadást.

Mind a TD, mind az álműtött állatoktól nyert SME kivonat dóziszfüggően fokozta az inkubáló médium STH koncentrációját. ($p < 0,05$). * = $p < 0,01$ álműtött — 0,2 SME egyenérték/lyuk dóziséhez viszonyítva.

Az ACTH értékek hibavariációjára 84 fmol/lyuk. Agykéreg kivonat, és TD donorok SME kivonatának jelenlétében az ACTH leadás nem változott, míg az álműtött állatokból származó SME kivonat dóziszfüggően serkentette az ACTH leadást ($p < 0,01$).

A nucl. dorsomedialis, a retrochiasmaticus area, sőt az MBH elülső részének (z. externa megjelenésétől 400 μm) ingerlése nem befolyásolta a plazma STH szintet a vizsgált időintervallumban, ami arra utal, hogy az áram depolarizáló hatása viszonylag korlátozott területen érvényesül.

Nem világos azonban, hogy álműtött állatokban a plazma STH szint miért csak az elektromos ingerlés befejezése után emelkedik, míg az ingerlés időtartama alatt inkább csökkenő tendenciát mutat (Martin, 1972). A jelenség valószínű magyarázata az, hogy az áram depolarizálja az eminentia medianába befutó szomatosztatinergiás rostokat (Ajika, 1980), és így az ingerlés időtartama alatt jelentős mennyiségű szomatosztatin kerül a hypophyseális portális

3. táblázat

Ua. mint a 2. táblázat, kivéve, hogy 1. típusú ALD-műtött állatok SME kivonatait teszteltük

Kezelés	STH ng/lyuk	ACTH fmol/lyuk
Sejtkultúra folyadék n = 5	937	246
Agykéreg kivonat 0,5 mg egyenérték/lyuk n = 3/dózis		
0,0125	768	289
0,05	702	355
0,2	657	348
Álműtött SME SME egyenérték/lyuk n = 9/dózis		
0,0125	724	411
0,05	640	429
0,2	795	769
1 típusú ALD SME SME egyenérték/lyuk n = 12/dózis		
0,0125	1423	262
0,05	2088	373
0,2	2266	433

Az adatokat a két hormonra külön-külön, két szempontos variancia analízissel értékeltük. A STH értékek hibavariációjára 301 ng/lyuk, az ACTH értékeké 101 fmol/lyuk. Agykéreg kivonatnak és álműtött állatból származó SME kivonatnak nincs szignifikáns hatása a STH leadásra, míg az 1. típusú ALD-műtét után nyert kivonat szignifikánsan serkenti azt. Mind az álműtött, mind az 1. típusú ALD SME-kivonat dózisfüggően emeli a tenyészetek ACTH leadását, ($p < 0,01$) az álműtött SME CRF tartalma azonban szignifikánsan magasabb, mint az 1. típusú ALD SME kivonaté ($p < 0,05$). Az agykéreg kivonatnak nincs statisztikailag szignifikáns dózisfüggő hatása az ACTH leadásra.

érrendszerbe. Ezt látszik alátámasztani Chihara és mtsai (1979b), akik azt találták, hogy ha a nucleus ventromediális és nucl. arcuatus határán beszúrt elektróddal ingerelnek, a hypophysisnyél-plazma szomatosztatin tartalma emelkedik. Saját kísérleteinkben az egyik elektródhegy néhány esetben közvetlenül az eminentia medianában volt, míg előfordultak olyan esetek is, amikor a középvonaltól viszonylag távol, mintegy 0,7 mm távolságra helyezkedett el mindkét elektródhegy. Sem az STH szint emelkedés mértékében, sem időbeli lefutásában nem találtunk különbséget az ilyen esetek összehasonlításakor, ami szintén amellet szól, hogy ingerlés kapcsán aktiválódnak az eminentia szomatosztatinergias idegvégződése. Amennyiben ez így van, akkor felmerül az a lehetőség, hogy az STH szint elektromos ingerlést követő fokozódása nem egyéb, mint ún. visszacsapási (rebound) jelenség, amelyet szomatosztatin adagolás esetén számos alkalommal észleltek (Stachura és mtsai, 1978; Martin és

mtsai, 1978). Ezek szerint az STH elválasztás fokozódását a hypophysealis portális plazma elektromos inger hatására megnövekedett szomatosztatin koncentrációjának az ingerlés befejezését követő csökkenése idézné elő. Ennek a magyarázatnak azonban ellentmondanak a TD és ALD állatokban kapott eredmények. Mindkét csoportban már az ingerlés alatt nő a plazma STH koncentráció, ami arra utal, hogy az ingerlés hatására SRH anyag kerül a portális vénákba. Mind TD, mind ALD, vagy ezeknek megfelelő metszések után az eminentia mediana szomatosztatin tartalma 90—95%-kal csökken (*Brownstein és mtsai, 1977; Critchlow és mtsai, 1978; Palkovits és mtsai, 1980*). Az általunk 1. típusú ALD-nek nevezett, az STH szint MBH-ingerlésre történő azonnali emelkedését létrehozó metszés konfigurációja megfelel a szomatosztatinergias neuronok hypothalamusbeli lefutásának (*Bennet—Clarke és mtsai, 1979; Krisch, 1979; Elde és Hökfelt, 1978; Palkovits és mtsai, 1980*).

Ezek alapján nagyon valószínűnek tűnik, hogy az MBH ingerlés kapcsán az eminentia mediana neurosecretoros idegvégződéseiből leadott szomatosztatin késlelteti a vele együtt más rostokból leadott SRH plazma STH szintet emelő hatását.

Mi okozza a nyél-eminentia mediana SRH aktivitását, amelyet mindhárom tesztrendszerünkben kimutattunk? Az irodalomban számos adat szól hypothalamikus SRH anyag létezése mellett (*Boyd és mtsai, 1978; Collu és mtsai, 1976; Krulich és mtsai, 1968*). Legutóbb *Lowry és mtsai (1980)* számoltak be patkány SME-ből kivont SRH hatású peptidről, amely immunreaktivitás és kromatográfiás sajátságok alapján különbözik a vazopresszintől és alfa-melanotropintól. Saját kísérleteinkben mind TD, mind ALD műtött állatok SME kivonata dózisfüggően fokozta patkány hypophysis tenyészetek STH leadását. A TD SME kivonat mikroinjekciója a hypophysis elülső lebenyébe szignifikánsan fokozta a plazma STH szintet. Az elektromos ingerlés eredményeivel együtt ezek az adatok erősen amellett szólnak, hogy az idegi összeköttetéseitől megfosztott MBH sziget SRH termelő neuronokat tartalmaz. Még kisméretű nucl. arcuatus szigetben (1B. ábra) is jelentős mennyiségű SRH aktivitás mutatható ki mindhárom teszttel.

A jelenleg ismert STH elválasztást fokozó peptidek közül met-enkefalint, béta-endorfint, alfa-melanotropint, szubsztansz P-t, valamint neurotensint mutattak ki az MBH-ban található perikaryonokban. (*Wamsley és mtsai, 1979; O'Donohue és mtsai, 1979; Kahn és mtsai, 1980; Eskay és mtsai, 1979; Pelletier és mtsai, 1980; Elde és Hökfelt*).

A neurotensinnek és szubsztansz P-nek látszólag nincs közvetlen hatása a hypophysis STH elválasztására (*Rivier és mtsai, 1977b; Vijayan és McCann, 1980*). Ugyanezt mondhatjuk el az endogén opiát peptidekről is (*Rivier és mtsai, 1977a*), hozzátéve azt, hogy nagy dózisu opiát antagonistá naloxon intravénás alkalmazása nem gátolja az MBH ingerlés STH elválasztást fokozó hatását. (*Antoni, Makara, Kanyicska* előkészületben). Alfa—melanotropin

1,7—170 ng/ml-ig terjedő koncentrációban nem befolyásolta hypophysis elülső lebeny sejtek tenyészetének STH leadását. Lowry és mtsai (1980) szerint alfa-melanotropin 400 ng/ml koncentrációban nem emeli izolált hypophysis elülső lebeny sejtek STH leadását. Nem valószínű tehát, hogy kísérleteinkben valamely ismert neuropeptid hatásait észleltük volna. A tenyésztőfolyadék ACTH tartalmának mérése alapján megerősítettük azt a korábbi eredményt (Makara és mtsai, 1979) miszerint a TD, illetve ALD műtét jelentősen csökkenti, sőt TD esetén gyakorlatilag megszünteti az SME kivonat kortikotropin elválasztást serkentő aktivitását. Ezek szerint a jelentős SRH termeléssel szemben a deafferentált MBH nem képes fenntartani az SME kortikotropin elválasztást serkentő aktivitását.

Megállapíthatjuk tehát, hogy a hypophysis-nyél eminentia mediana STH elválasztást serkentő anyagot tartalmaz, amely

1. nagy valószínűséggel ezeddig ismeretlen szerkezetű peptid;
2. az MBH-ban valószínűleg elsősorban a nucleus arcuatusban elhelyezkedő idegsejtekben keletkezik.

Összefoglalás

A mediobasalis hypothalamus (MBH) idegi összeköttetései lehetséges szerepét vizsgáltuk az eminentia mediana + hypophysis-nyél (SME) szomatotropin elválasztását serkentő aktivitásának (SRH) fenntartásában. Hím patkányok MBH-ja körül teljes (TD), illetve anterolateralis (ALD) Halász-féle deafferentálást, valamint álműtétet végeztünk. A műtét utáni 6., illetve 7. napon az MBH idegi struktúráinak elektromos ingerlése (EI) emelte a plazma növekedési hormon (STH) tartalmát mind pentobarbitállal mind uretánnal altatott állatban. Míg az álműtött csoportban a hormonszint-növekedés csak tíz perces ingerlési periódus befejezése után alakult ki, addig mind TD, mind ALD műtött állatokban már az ingerlés időszaka alatt jelentős STH szint, emelkedést kaptunk. Ezek szerint az adatok arra utalnak, hogy az álműtött csoportban a plazma STH szint emelkedésének kérését valószínűleg a hypothalamikus szomatosztatinerger rendszere idézi elő, míg magát az emelkedést idegi eredetű SRH anyag váltja ki. A TD, illetve ALD állatok hypophysis nyél-eminentia medianájából készített sósavas kivonat fokozta patkány hypophysis sejtek tenyészetének STH leadását. Ha a kivonatot $1/20$ SME adagban uretánnal altatott állatok hypophysisébe juttattuk mikroinjekcióval, 0,5 μ l, a plazma STH szint már a beadás után 3 perccel szignifikánsan emelkedett. A fenti kísérletek alátámasztják olyan hypothalamikus SRH anyag létezését, amely nagy valószínűséggel különbözik a jelenleg ismert neuropeptidektől. Úgy tűnik továbbá, hogy a hypothalamusban a nucleus ventromedialis és/vagy a nucl. arcuatus idegsejtjei jelentős mennyiségű SRH-t termelnek az

MBH idegi összeköttetéseinek átmetszése után is. Arra következtetünk, hogy nyél-eminencia mediana SRH tartalma döntően az MBH-ban levő neuronok épségétől függ, míg a leszálló, illetve felszálló idegrostok valószínűleg elsősorban az SRH *secretio* szabályozásában játszanak szerepet.

IRODALOM

- Abe, H., Chihara, K., Chiba, T., Mrisukura, S. és Fujita, T. VI.th Intl. Congress of Endocrinology Abst. 77 p. 248 (1980).
- Ajika, K.: *Frontiers in Neuroendocrinology* **6**, 1 (1980).
- Bennett-Clarke, C., Romagnano, M. A., Joseph, S. A. *Brain Research* **188**, 473 (1980).
- Bernardis, L. L. és Frohman, L. A. *Neuroendocrinology* **7**, 193 (1971).
- Boyd III, A. E., Sancher-Franco, F., Spencer, E., Patel, Y. C., Jackson, I. M. D. és Reichlin, S.: *Endocrinology* **103**, 1075 (1978).
- Brinkman, H. és Bock, R.: *J. Neurovisc. Relat.* **32**, 48 (1970).
- Brownstein, M. J., Arimura, A., Fernandez-Durango, R., Schally, A. V., Palkovits, M. és Kizer, J. S.: *Endocrinology* **100**, 246, (1977).
- Chihara, K., Arimura, A. és Schally, A. V.: *Endocrinology* **104**, 1656, (1979a).
- Chihara, K., Arimura, A., Kubli-Garfias, C. és Schally, A. V.: *Endocrinology* **105**, 1416 (1979b).
- Chihara, K., Arimura, A., Coy, D. H. és Schally, A. V.: *Endocrinology* **102**, 281 (1978).
- Collu, R., Taché, Y., Du Ruisseau, P. és Ducharme, J. R.: *Hormone Research* **7**, 274 (1976).
- Crüchlow, V., Rice, R. W., Abe, K. és Vale, W.: *Endocrinology* **103**, 817, (1978).
- Dierickx, K. és Vandesinde, F.: *Cell and Tissue Research* **201**, 349 (1979).
- Elde, R. és Hökfelt, T.: In: *Frontiers in Neuroendocrinology* Vol. 5. Eds. W. F. Ganong, L. Martini Raven Press, New York, pp 1—34 (1978).
- Eskay, R. L., Giraud, P., Oliver, C. és Brownstein, M. I.: *Brain Research* **178**, 55 (1979).
- Flerkó, B.: *Neuroendocrinology*, **30**, 56 (1980).
- Frohman, L. A., Bernardis, L. L. és Kant, K. J.: *Science*, **162**, 580 (1968).
- Hedge, G. A., Yates, M. B., Marcus, R. és Yates, F. E.: *Endocrinology* **79**, 328 (1966).
- Kahn, D., Abrams, G. M., Zimmerman, E. A., Carraway, R. és Leeman, S. E.: *Endocrinology* **107**, 47, (1980).
- Kárteszi, M., Stark, E., Makara, G. B., Fazekas, I. és Rappay, Gy.: *Orvostudomány* **29**, 123 (1978).
- Krisch, L., B.: *Journal of Histochemistry and Cytochemistry* **27**, 1389 (1979).
- Krulich, L., Hefco, E., Illner, P. és Read, C. B.: *Neuroendocrinology* **16**, 293 (1974).
- Krulich, L., Quijada, M., Wheaton, B. E., Illner, P. és McCann, S. M.: *Federation Proceedings* **36**, 1953 (1977).
- Krulich, Dharival, A. P. S. és McCann, S. M.: *Endocrinology* **83**, 783 (1968).
- Lowry, P. I., Sykes, J. E. C. és Gillies, G. E.: *Advances in Biochemical Psychopharmacology*, **22**, 119—129 (1980).
- Makara, G. B., Stark, E., Rappay, G., Kárteszi, M. és Palkovits, M.: *Journal of Endocrinology* **83**, 165 (1979).
- Makara, G. B., Stark, E. és Palkovits, M.: *Journal of Endocrinology* **47**, 411 (1970).
- Martin, J. B.: *Endocrinology* **91**, 107 (1972).
- Martin, J. B., Brazeau, P., Tannenbaum, G. S. Willoughby, J. O., Epelbaum E., Terry, L. C. és Durand, D.: In: „The Hypothalamus” Eds. Reichlin, S., Baldessarini, R. J., Martin, J. B. Raven Press, New York, 239 (1978).
- O’Donohue, T. L., Miller, R. L. és Jacobowitz, D. M.: *Brain Research* **176**, 101, (1979).
- Palkovits, M.: *Bulletin der Schweizer Akademie Medizinischen Wissenschaften* **34**, 113, (1978).
- Palkovits, M., Kobayashi, R. M., Brown, M. és Vale, W.: *Brain Research* **195**, 499 (1980).
- Pelletier, G., Leclerc, R., Saavedra, J. M., Brownstein, M. J., Vaudry, H., Ferland, L. és Labrie, F.: *Brain Research* **192**, 433 (1980).
- Rappay, Gy., Nagy, I., Makara, G. B., Bácsy, E., Fazekas, I., Kárteszi, M. és Kurcz, M.: In *Vitro* **15**, 751 (1979).
- Rivier, C., Vale, W., Ling, N., Brown, M. és Guillemin, R.: *Endocrinology* **100**, 238 (1977a).
- Rivier, C., Brown, M. és Vale, W.: *Endocrinology* **100**, 751 (1977b).

- Sadow, J., Arimura, A. és Schally, A. V.*: *Endocrinology* **90**, 1315 (1972).
Stachura, M. E., Szabó, M. és Frohman, L. A.: *Endocrinology* **102**, 1520 (1978).
Vale, W., Brazeau, P., Rivier, C., Brown, M., Boss, B., Rivier, J., Burgus, R., Ling, N. és Gillemín, R.: *Recent Progress in Hormone Research* **31**, 393 (1975).
Vijayan, E. és McCann, S. M.: *Life Sciences* **26**, 321 (1980).
Wamsley, J. K., W. S. Young, III, és Kuhar, M. J.: *Brain Research* **190**, 153 (1980).
Weiner, R. I. és Ganong, W. F.: *Physiological Reviews* **58**, 905 (1978).
Worthington Jr., W. C., Folsom, S. E. és Buse, M. G.: *Endocrinology* **90**, 1664 (1972).