

# AGYKÉRGI KÚSZÓ DEPOLARIZÁCIÓ ÁLTAL KIVÁLTOTT PERFÚZIÓ-VÁLTOZÁSOK ÉS A TRANZIENS RECEPTOR POTENCIÁL ANKYRIN 1 (TRPA1) ÉS VANILLOID 1 (TRPV1) IONCSATORNÁK SZEREPÉNEK VIZSGÁLATA EGÉRMODELLEN

**Aczél Tímea**<sup>1,2</sup>, Bölcskei Kata<sup>1,2</sup>, Helyes Zsuzsanna<sup>1,2,3</sup>, Pintér Erika<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>PTE Általános Orvostudományi Kar; Farmakológiai Farmakoterápiai Intézet

<sup>2</sup>PTE Szentágothai János Kutatóközpont; Molekuláris Farmakológia Kutatócsoport

<sup>3</sup>MTA-PTE NAP B Krónikus Fájdalom Kutatócsoport

**Bevezetés:** Irodalmi adatok szerint az agykérgi kúszó depolarizációt („cortical spreading depression”: CSD) kísérő perfúzióváltozások során a corticalis véráramlás csökkenésével párhuzamosan az a. meningea mediában áramlásfokozódás alakul ki, és feltehetően hasonló jelenség játszódik le aurával járó migrén esetén emberben. A TRPA1 és TRPV1 receptorok nem-szelektív kationcsatornák, amelyek a trigeminus ganglion elsődleges érző neuronjain is expresszálódnak. Mindkettőt számos exogén és endogén fájdalom- és gyulladáskeltő kémiai ágens, valamint fájdalmas hőstimulus is aktiválja, amely neuronális aktivációt/szenzitizációt és neuropeptid-felszabadulást eredményez. Bár az irodalmi adatok ellentmondásosak, az elmúlt évek kutatásai arra utalnak, hogy mindkét receptor szerepet játszhat a migrén pathomechanizmusában. Kísérleteink célja az volt, hogy génihiányos egerek segítségével megvizsgáljuk a TRPA1 és TRPV1 ioncsatornák szerepét a CSD által kiváltott perfúzióváltozásokban.

**Módszerek:** Kísérleteinkben vad típusú C57Bl/6, illetve TRPV1, TRPA1 és TRPV1/TRPA1 génihiányos (12-18 hetes) nőstény és hím egereket használtunk. Uretán vagy pentobarbitál altatásban Laser Speckle Contrast képalkotó eljárással a koponyacsonton keresztül mértük a teljes agyfelszín perfúzióját. Ismételt CSD-t váltottunk ki 1M-os KCl oldat topikális alkalmazásával és a vaszkuláris választ több azonos méretű területen (regions of interest, ROI) 60 percig regisztráltuk. Az oligémiás és hiperémiás válaszok amplitúdóját az abszolút értékek különbségében, illetve a kiindulási érték százalékában fejeztük ki.

**Eredmények:** A génihiányos csoportok és a vad típusú egerek között nem találtunk szignifikáns különbséget a CSD által kiváltott corticalis vaszkuláris válaszban, sem azok frekvenciájában, sem az amplitúdójában. Nőstény egerekben a KCl topikális applikációja utáni oligémiás fázis amplitúdója nagyobb volt a hímekhez képest. Az uretán altatás szignifikánsan csökkentette az első hullám oligémiás fázisának amplitúdóját, és növelte az ezt követő agyi vérátáramlás tranziens emelkedését, illetve a fluktuáció mértékét, azonban nem befolyásolta a kiváltott hullámok frekvenciáját. Az irodalomban leírt meningeális perfúziófokozódást készülékünkkel nem tudtuk detektálni.

**Következtetés:** Az alkalmazott altatószer befolyásolhatja a kísérleti eredményeket a CSD-vel indukált hemodinamikai válasz módosításával, amely közrejátszhat az ellentmondásos irodalmi adatokban. A perfúzióváltozás mértékében nemi különbséget detektáltunk, azonban modellünkben a Laser Speckle Contrast képalkotó módszerrel nem tudtuk igazolni a TRPA1 és TRPV1 ioncsatornák szerepét a migrén eme vaszkuláris jelenségében.

**Támogatás:** Nemzeti Agykutatási Program A (KTIA\_NAP\_13-1-2013-0001) és B (MTA-PTE NAP-B Krónikus Fájdalom Kutatócsoport, KTIA\_NAP\_13-2014-0022, kutatóhely: 888819), PTE ÁOK Kari Kutatási Alap (KA-2015-20)

# HÁROM-DIMENZIÓS IMMUNFESTÉS EMBERI ÉS RÁGCSÁLÓ IDEGSZÖVETEN AZ ÚJONNAN KIFEJLESZTETT 'IDISCO VOLUME IMMUNO-IMAGING' TECHNIKÁVAL

**Ádori Csaba**

*Department of Neuroscience, Karolinska Institute, Stockholm, Sweden*

Komplex struktúrák három-dimenziós mikroszkópos vizualizációja ma az idegtudomány egyik dinamikusan fejlődő területe. E módszerek nagy előnye és fő újdonsága, hogy lehetővé teszik immunfestéssel jelölt vagy fluoreszcens riporter gént expresszáló nagy- méretű minták (pl. teljes egéragy, vagy humán agyszövet kb. 1 cm<sup>3</sup>-es méretig) részletes, mikroszkópos léptékű térbeli vizsgálatát. Mivel ilyen minták teljes pályákat, pályarendszereket (rágcsáló esetén), illetve magokat tartalmazhatnak, e módszerek a konnektom-kutatás fontos eszközei lehetnek mind normál, mint patológiás elváltozásokat mutató agyban. Ezen módszerek közül mi a 2014-ben leírt 'iDISCO' (immunolabelling- enalbed three dimensional imaging of solvent-cleared organs) használjuk. Mivel az iDISCO során a szöveti blokkokat egy rövid eljárás során tesszük transzparenssé (clearing) ez a módszer különösen alkalmas egyszeres vagy többszörös immunofestéssel jelölt blokkok három-dimenziós kvalitatív és kvantitatív vizsgálatára (volume imaging). Az analízis során új mikroszkópos technikát (light sheet microscopy) és 3D rekonstrukciós/analizáló szoftvereket (Imaris 8.2, AutoQuant3) használunk. Előadásomban szeretnék beszélni az elmúlt években kifejlesztett három-dimenziós vizualizációs technikákról (CLARITY, CUBIC, SWITCH), a light sheet mikroszkópiáról, és példákat mutatok az iDISCO technika alkalmazására egéragyon, egér perifériális idegrendszerben, és humán agyszöveten.

# EFFECT OF LONG-TERM FOLLOW UP RECREATIONAL PHYSICAL EXERCISE ON METABOLIC PARAMETERS IN HUMANS

Krisztina Kupai, **Amin Al-Awar**, Anikó Berkó, Anikó Pósa, Zita Szalai, Csaba Varga  
*Szeged University*

Obesity is a global epidemic associated with aging-like cellular processes. Resistance to hormones such as leptin and insulin are hallmarks in obesity. On the other hand, many factors can contribute to obesity and overweight, including: lifestyle habits, medical conditions (e.g., hypothyroidism) and genetics.

The aim of the study was to investigate the effect of exercise on metabolic risk variables: serum insulin, leptin, glucose, HbA1c, cholesterol and triglycerides in normal weight/overweight/obese women and men after 5 month of recreational exercise. Male and female participants were randomized by BMI and exercised (moderate-intensity aerobic activity 3 times/week) for 5 month. Body weight and body fats were measured after blood collection at three stages: at baseline, on days 50 and 150 of investigation. Blood was analyzed for leptin, insulin, glucose, HbA1c, cholesterol and triglycerides. Differences were calculated and compared to baseline to follow-up.

Results showed that after 50 days of the exercise program, serum leptin (male and female, BMI 25-30), insulin (female, BMI 25-30) and cholesterol (female, BMI 25-30) were significantly decreased. Furthermore, at the end of the exercise program, body weight (female, BMI 30-35), body fat (female, BMI 30-35), serum triglyceride (female, BMI 25-30 and BMI 30-35), serum leptin (female, BMI 25-30, BMI 30-35, BMI 35-), serum insulin (female, BMI 20-25, BMI 25-30 and BMI 30-35) serum HbA1c (female, BMI 30-35), serum cholesterol (female, BMI 20-25 and BMI 30-35) were also significantly decreased. The change of serum leptin level was positively correlated with change of body fat mass and percentage body fat.

In this survey, we analyzed the specific effects of a 5 months long physical-activity program on weight, leptin, insulin and glucose-lipid metabolism and regulation. Considering the increasing trends of obesity throughout the world, a better understanding of the underlying mechanisms between exercise, endocrine hormones and their regulation may lead to novel approaches to prevent and treat of obesity related metabolic diseases or metabolic disorders.

**Keywords:** Obesity, Physical exercise, Metabolic parameters

**Acknowledgements:** This research was carried out in the frame of TÁMOP 4.2.4. A/2-11-1-2012-0001 "National Excellence Program - Elaborating and operating an inland student and researcher personal support system". The project was subsidized by the European Union and co-financed by the European Social Fund

# AZ EXTRACELLULÁRIS MÁTRIX SZERVEZŐDÉSE ÉS NEURODEGENERATÍV VÁLTOZÁSOKBAN BETÖLTÖTT SZEREPE EMBER HIPPOCAMPUSÁBAN

**Alpár Alán,** Lendvai Dávid, Markus Morawski

*Semmelweis Egyetem, Anatómiai, Szövet- és Fejlődéstani Intézet, Budapest*

Az agyi extracelluláris mátrix az idegsejtek és gliák közötti keskeny teret tölti ki. Fő összetevői közé tartoznak a kondroitinszulfát-proteoglikán komponensek, melyek neuron populációk meghatározott csoportjai körül halmozódnak fel, a szomatodendritikus kompartment körül perineuronális hálókat, a szinapszisok körül periaxonális hüvelyeket hoznak létre. Az ember hippocampusa különösen sérülékeny struktúra, mely Alzheimer-kórban patológiás elváltozásokat mutat. Munkánkban elkészítettük az emberi hippocampus aggregátum és brévikán eloszlásának térképét, melyek mint két legfőbb kondroitinszulfát proteoglikán komponens kizárólag interneuronok körül fordultak elő. Szemben az aggregátummal, mely perineuronális hálókat alkotott, a brévikán tartalmú mátrix serkentő és gátló szinapszisok körül hozott létre izolált lerakódásokat. Elektron mikroszkópos vizsgálataink rámutattak, hogy a brévikán axonális transzporttal kerülhet a preszinaptikus struktúrához. Emberi és transzgenikus mintákon végzett biokémiai és neuroanatómiai vizsgálataink bizonyították, hogy az izolált periszinaptikus mátrix hüvelyek Alzheimer-kórban ellenálló struktúrák, melyek működő szinapszisokat vesznek körül a hisztopatológiai elváltozások közvetlen közelében vagy felszínén. Feltételezzük, hogy a preszinaptikus neuron által képzett periszinaptikus hüvelyek képesek megvédeni a szinaptikus működést neurodegeneratív elváltozásokban.

# GYULLADÁSOS MODELLRENDSZEREK OPTIMALIZÁLÁSA HUMÁN CORNEALIS EPITHEL SEJTEKEN

**Angyal Ágnes**, Ambrus Lídia, Kelemen Balázs, Szántó Magdolna, Shahrzad Alimohammadi, Balogh Norbert, Szöllősi Attila Gábor, Bíró Tamás

*DE-MTA „Lendület” Sejtélettani Kutatócsoport, Debreceni Egyetem, ÁOK, Élettani és Immunológiai Intézetek, Debrecen, Magyarország*

**Bevezetés:** A szem gyulladásos folyamatainak egyik lehetséges következménye az avascularis cornealis epithelium hegesedése, melynek következménye a szaruhártya átlátszóságának elvesztése. Ezt a folyamatot jelenleg legelterjedtebben állatkísérletek segítségével modellezzük, ugyanakkor nem rendelkezünk humán sejteken alapuló, széles körben elfogadott in vitro kísérleti rendszerekkel. Ezt a hiányt pótlandó, munkacsoportunk célja különböző gyulladásos környezetek létrehozása és optimalizálása humán cornealis epithel sejteken. Jelen kísérleteink során a különböző pathogenesisű keratitisek modellezésére 3 gyulladásos modellt optimalizáltunk:

- 1:UVB besugárzás (40 mJ/cm<sup>2</sup>) az UV-indukált keratitis modellezésére;
- 2:Parlagfűpollen-kivonat és NADPH kombinációja az allergiás keratitisek modellezésére;
- 3:Polyinosinic-polycytidylic acid [poly(I:C)] kezelés a virális keratitisek modellezésére.

**Módszerek:** Ezen modellek optimalizálása során különböző hosszúságú inkubációs időket alkalmazva (3, 6, 12 és 24 óra) molekuláris biológiai módszerekkel vizsgáltunk különféle, az epithelialis gyulladások szempontjából meghatározó jelentőségű gyulladásos citokinek mRNS szintű kifejeződését (reverz transzkripciót követő valós idejű kvantitatív polimeráz láncreakció).

**Eredmények:** Kísérleteink alapján sikerült mindhárom modellben azonosítani a legmarkánsabb válaszokat adó kezelés-időtartam kombinációkat, illetve read-out paraméterként alkalmazható karakterisztikus célgéneket. Megállapítottuk, hogy az UVB- indukált modellben a 12 órás besugárzás bizonyult a leghatásosabbnak és a gyulladásos citokinek közül az interleukin [IL]-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8 és tumornekrózis faktor- $\alpha$  expressziója a legmeghatározóbb. Kimutattuk azt is, hogy parlagfűpollen-kivonat és a NADPH együttes alkalmazása 3 órás inkubációnál a legmarkánsabb és az IL-6, IL-8 ill. a thymic stromal lymphopietin (TSLP) mRNS szintje megnövekedett. Továbbá elmondható, hogy az IL-6, IL-8, IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , TNF $\alpha$  és az interferon  $\beta$  (IFN $\beta$ ) expressziója mRNS szinten megnövekedett 3 órás [poly(I:C)] kezelés hatására.

**Következtetés:** Eredményeink alapján elmondható, hogy human cornealis epithel sejteket használva többféle keratitis modellezhető, mely rendszerek segítségével a gyulladásos-folyamatokat befolyásoló anyagok hatékonyan vizsgálhatóak.

**Támogatók:** „Lendület” LP2011-003/2015

# TÉRDEXTENZOR ÉS FLEXOR IZMOK MECHANIKAI VIZSGÁLATA RÖPLABDÁZÓKNÁL

**Atlasz Tamás<sup>1,2</sup>**, Schönfeld Erik<sup>1</sup>, Szabó Edina<sup>1</sup>, Misovics Bernadette<sup>1</sup>,  
Wilhelm Márta<sup>1</sup>, Váczi Márk<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Sporttudományi és Testnevelési Intézet, <sup>2</sup>Szenthágothai János Kutatóközpont,  
Pécsi Tudományegyetem, Pécs, Magyarország

A röplabdázásban nagy szerepe van a súlypontemelkedésnek, mivel a játékosok mozgásának megközelítőleg 50%-át a felugrások alkotják. Mindezek alapján fontos tudnunk a röplabdajátékosok térdízületet hajlító és feszítő izomerejének arányát (H/F arány), valamint az unilaterális erő asszimetriáját és a domináns nem domináns láb izomerő közötti különbséget. Kutatásunkban kilenc profi röplabdázó (életkor =  $22.6 \pm 3$  év; testtömeg =  $85.6 \pm 10.9$  kg; testmagasság =  $192.4 \pm 6.6$  cm) eredményeit hasonlítottuk össze kilenc amatőr röplabdázóéval (életkor =  $25.2 \pm 7.4$  év; testtömeg =  $81.6 \pm 8.8$  kg; testmagasság =  $186.5 \pm 5.5$  cm). A vizsgálatokat egyrészt dynamométerrel végeztük. A vizsgálat során mértük a térdízületet hajlító és feszítő izomcsoportok izokinetikus forgatónyomatékát két fajta szögsebességnél lassú (30 fok/s) és gyors (180 fok/s), illetve a térdízület hajlító excentrikus kontrakcióját lassú (30 fok/s) szögsebességnél. Ezen kívül vizsgáltuk a játékosok talajreakció-erejét erőplató használatával. Ennél a mérésnél a maximális izomerő (Nm/kg) vizsgálata volt a célunk. A profi röplabdázók H/F aránya szignifikánsan nagyobbnak bizonyult, mint az amatőröké ( $p < 0,05$ ), ennek az oka, hogy a profi röplabdázók térdízületet hajlító izomereje szignifikánsan erősebb ( $p < 0,05$ ). Az erőplató vizsgálat során a profi játékosok fejtettek ki nagyobb erőt a domináns lábukkal a talajra a felugrások során. Kutatásunk fontos alapja lehet annak, hogy a röplabdaedzők a jövőben nagyobb prioritást szánjanak a térdízületet hajlító izomcsoportra ennek következtében csökkentve a két izomcsoport közötti erőkülönbséget, ezzel növelve a játékosok teljesítményét a sérülések elkerülését és a rehabilitáció eredményességét.

Kutatásunkat a TÁMOP-4.1.2.E-13/1/KONV-2013-0012, TÁMOP-4.1.2.E-15/1/KONV-2015-0003, Sporttudományi képzés fejlesztése a Dunántúlon, Bolyai János Kutatási Ösztöndíj támogatta.

# THE EFFECTS OF THE SELECTIVE CRF2 RECEPTOR AGONISTS IN MICE EXPOSED TO CHRONIC NICOTINE TREATMENT AND CONSEQUENT ACUTE WITHDRAWAL

**Zsolt Bagosi**, Péter Bokor, András Buzás, Beáta Balangó, Dávid Pintér,  
Krisztina Csabafi, Gyula Szabó  
*SZTE, ÁOK, Kórélettani Intézet*

The aim of the present study was to investigate the effects of the selective agonists of the corticotropin-releasing factor (CRF) 2 receptor, urocortin 2 (UCN 2) and urocortin 3 (UCN 3), on the anxiety- and depression-like state induced by chronic nicotine treatment and consequent acute withdrawal in mice. In order to do so, male CFLP mice were exposed for 7 days to repeated intraperitoneal (IP) injection with nicotine or saline solution and 1 day of acute withdrawal and then a single intracerebroventricular (ICV) injection with UCN 2, UCN 3 or saline solution. After 30 minutes the mice were observed in an elevated plus-maze test or a forced swimming test for anxiety- and depression-like behavior, respectively. After 5 minutes of testing, the plasma corticosterone concentration reflecting the activity of the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis was also determined by chemo-fluorescent method. Half of the animals were treated ICV and evaluated on the 8th day, the other half on the 9th day. On the 8th day, nicotine-treated mice presented no signs of anxiety or depression, but an insignificant increase of the plasma corticosterone levels. On the 9th day, nicotine-treated mice exhibited signs of anxiety or depression and a significant increase of the plasma corticosterone levels. Central administration of UCN 2 or UCN 3 ameliorated the anxiety- and depression-like state developed during chronic nicotine treatment and consequent acute withdrawal, including the hyperactivity of the HPA axis. The present study suggests that selective CRF2 receptor agonists could be used as a candidate therapy in an experimental nicotine addiction.

This study was supported by the Hungarian Brain Research Program (KTIA\_13\_NAP-A-III/8).

# AKUT CENTRÁLIS ENERGETIKAI UROCORTIN 2 HATÁSOK FIATAL FELNŐTT PATKÁNYBAN

**Balaskó Márta**, Pagáts Rebeka, Serényi Dóra, Tenk Judit, Rostás Ildikó,  
Székely Miklós, Pétervári Erika  
*PTE, ÁOK Transzlációs Medicina Intézet*

**Bevezetés:** Nagy népegészségügyi terhet jelent a középkorúak elhízásra, illetve az idősök kóros fogyásra, sarcopeniára való hajlama. Mivel ezek a korfüggő jelenségek más emlősökben is megfigyelhetők, a háttérben korfüggő szabályozási eltérések is feltételezhetők, melyek vizsgálata hosszú távon elősegítheti a gyógyítás módszereinek fejlesztését.

A corticotropin rendszer, egyik fő centrális katabolikus (táplálékfelvétel(FI)-csökkentő, anorexigén, anyagcsere(MR)-fokozó, hipermetabolikus) peptid rendszerünk, melyben a stressz válasz kialakulásában szerepet játszó corticotropin-releasing factor (CRF) mellett más agonisták (urocortinok), illetve a CRF1 és 2 receptorok (CRF1R és CRF2R) szerepét is leírták. Korábbi vizsgálataink során a CRF akut centrális injekciója hím patkányokban hipermetabolikus, ill. anorexigén hatást váltott ki, melyek mértéke az életkorral csökkent. A CRF elsősorban a CRF1R-on kötődik (kb. 10x affinitással), de képes aktiválni a CRF2R-kat is. A stressz válasz kiváltásában elsősorban a CRF1R szerepe igazolódott, az anorexigén hatások viszont elsősorban a CRF2R hatásnak tulajdoníthatóak. Felvetődik a kérdés, hogy a CRF2R aktivitásának lehet-e szerepe a korfüggő testösszetétel-eltérések kialakulásában.

**Célkitűzés:** A kérdés elemzése során, első lépésként, jelen vizsgálatunk célja a specifikus CRF2R agonista urocortin2 (Ucn2) akut centrális energetikai hatásainak elemzése volt fiatal felnőtt hím patkányokban. Módszerek: Wistar patkányok akut intracerebroventricularis (ICV) Ucn2 (0, 1, 5 ug) injekcióra adott anorexigén és hipermetabolikus válaszkészségét vizsgáltuk. Az oxigénfogyasztást (VO<sub>2</sub>) indirekt kaloriméterben (Oxymax), a maghőmérsékletet (T<sub>c</sub>) colonba vezetett, a hőleadást a farokbőr (T<sub>s</sub>) felszínére rögzített termoelemekkel regisztráltuk. Az anorexigén hatást automatizált FeedScale rendszerben 18:00 h-kor (aktív periódus kezdetén) adott Ucn2 injekciót követően több napon át regisztráltuk. Az eredményeket átlag ± S.E.M. formában ábrázoltuk. Statisztikai elemzésre ismételt-mérési ANOVA-t alkalmaztunk.

**Eredmények:** Akut Ucn2 injekció mindkét dózisa hosszú távon (48-h), jelentős mértékben csökkentette az FI-t. A peptid magasabb dózisa hím patkányokban T<sub>c</sub>-emelkedést idézett elő folyamatos hőkonzerválás mellett. A VO<sub>2</sub> nem növekedett, ami felveti a fokozott hőkonzerválás, illetve a barna zsírszövetben a hőtermelés és ATP termelés arány-eltolódásának lehetőségét.

**Következtetések:** Az Ucn2 akut centrális injekciója koordinált katabolikus hatást váltott ki. Anorexigén hatása erősebbnek bizonyult, mint a hipertermiás. A jövőben tervezzük a hipertermiás hatás háttérében meghúzódó mechanizmusok feltárását, illetve a CRF2R aktivitás kor-függő eltéréseinek vizsgálatát. (34039/KA-OTKA/13-02)



# A TÁRSAS KAPCSOLATOK ÉS AZ INGERGAZDAG KÖRNYEZET JELENTŐSEN BEFOLYÁSOLJÁK A LABORATÓRIUMI PATKÁNYOK HOSSZÚTÁVÚ MEMÓRIATELJESÍTMÉNYÉT

**Bali Zsolt Kristóf**, Szántó Brigitta, Bruszt Nóra, Csurgyók Roland, Hernádi István  
*Pécsi Tudományegyetem, Természettudományi Kar, Kísérletes Állattani és Neurobiológiai Tanszék és Szentágothai János Kutatóközpont*

Az idegrendszer fejlődését illetve egészségi állapotát jelentős mértékben meghatározzák a környezeti ingerek és a társas kapcsolatok. Ugyanakkor a humán betegségek preklinikai állatmodelljeinek hatékonyságát is befolyásolhatják a kísérleti állatok tartási körülményei. A környezetgazdagítás és a fajtársakkal való interakció különösen fontos tényező lehet a kognitív képességeket vizsgáló magatartástesztekben, ezért kutatásunkban ezeknek a faktoroknak a hatását vizsgáltuk laboratóriumi patkányok általános viselkedésére és memóriateljesítményére.

A kísérletekben használt Wistar patkányokat (N=36) tartási körülményeiknek megfelelően a következő három csoportba osztottuk: 1) egyedül tartott állatok, környezetgazdagítás nélkül (izolált csoport - I), 2) párosával ketrecelt patkányok, környezetgazdagítás nélkül (szociális csoport - S), 3) párosával ketrecelt és ingergazdag környezetben tartózkodó állatok (ingergazdag környezet csoport - P). A P csoportba tartozó állatok hetente három alkalommal 45-45 percet töltöttek el egy nagy méretű, különböző tárgyakkal és játékokkal felszerelt ketrecben („játsszótér”). Az állatok viselkedését és kognitív teljesítményét először 8 héttel (4-5 hónapos kor), majd 24 héttel (7-8 hónap) a speciális tartási körülmények beállítása után hasonlítottuk össze. A következő magatartási paradigmákat alkalmaztuk: 1) nyílt porond (OF) teszt, 2) emelt keresztpalló (EPM) teszt, 3) spontán alternálási teszt T-labirintusban, valamint 4) új tárgy felismerési (NOR) teszt 3 órás retenciós idővel.

Az állatok általános aktivitását (OF) és szorongásra való hajlamát (EPM) nem befolyásolták az eltérő tartási körülmények, a különböző kezelési csoportok nem különböztek az OF-ben megtett út, valamint az EPM nyitott karján eltöltött idő tekintetében egyik mérési pontban sem. Továbbá az I, S és P csoportba tartozó állatok T-labirintus tesztben mért teljesítménye között sem találtunk szignifikáns különbséget, mindegyik csoport egészséges térbeli munkamemória-teljesítményt mutatott.

Ugyanakkor a tartási körülmények jelentős hatással voltak az állatok hosszútávú memóriájára. A NOR tesztben az I csoportba tartozó állatok mindkét mérési időpontban rossz memóriateljesítményt mutattak, vagyis nem tudták megkülönböztetni az ismert és az új tárgyat. A P csoportba tartozó állatok jól diszkrimináltak a tárgyak között, és teljesítményük szignifikánsan meghaladta az I csoport teljesítményét, vagyis a környezetgazdagítással nevelt állatok hosszútávú memóriája jól működött. Szintén megtartottnak bizonyult a S csoportba tartozó állatok memóriája, ezek az állatok átlagosan a két másik csoport közötti teljesítményt mutattak.

Eredményeink alátámasztják a szociális interakciók és a környezetgazdagítás jelentőségét a mentális egészség szempontjából. A továbbiakban terveink közt szerepel a különböző körülmények között tartott állatok neurofarmakológiai jellegű vizsgálata, valamint az izolált csoport tesztelése neurokognitív betegségek preklinikai állatmodelljeként.

# A NYIROKEREK VIZSGÁLATA A KEMÉNY AGYHÁRTYÁBAN

**Bálint László<sup>1,2</sup>, Jakus Zoltán<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>*Semmelweis Egyetem, Élettani Intézet*

<sup>2</sup>*MTA-SE „Lendület” Nyirokélettani Kutatócsoport*

A közelmúltig az volt az általánosan elfogadott vélemény a központi idegrendszerről, hogy nem jellemző rá a nyirokér-rendszer jelenléte. Az utóbbi időben azonban funkcionáló nyirokereket írtak le az agyhártyákban, amelyek képesek a cerebrospinalis folyadék és immunsejtek elszállítására a központi idegrendszerből. Kísérleteink céljából azt tűztük ki, hogy transzgenikus egérmodellek felhasználásával jellemezzük az agyhártya nyirokereinek a morfológiáját, kialakulását és funkcióját.

Kísérleteinkben transzgenikus egérmodellekben riporter fehérjék, valamint immunfestéssel jelölt nyirokendotél-markerek felhasználásával (PROX-1, VEGFR-3, LYVE-1) mutatjuk ki a nyirokereket. A nyirokerek működését nagy molekulású vegyületek segítségével követjük.

Eddigi vizsgálataink igazolják a PROX-1, LYVE-1, VEGFR-3 molekuláris markereket kifejező sejtek, így a nyirokendotél sejtek jelenlétét a kemény agyhártyában felnőtt egerekben. Kimutattuk, hogy a kemény agyhártyában a nyirokerek döntően kapcsolódnak a vénás szinuszokhoz. Genetikai módszerekkel jellemezni kezdtük a nyirokrendszer kialakulását és funkcióját a kemény agyhártyákban.

Kísérleteinkben tehát hatékonyan ki tudtuk mutatni a nyirokereket a kemény agyhártyában, és vizsgálni kezdtük fejlődésüket és funkciójukat. Azt várjuk, hogy az eredményeink segítenek megérteni a kemény agyhártya nyirokereinek a fiziológiai és a patofiziológiai jelentőségét.

# FOSZFOINOZITIDEK ÉS LIPID METABOLIZMUS. NEM VÁRT FORDULATOK A LIPID KINÁZ KUTATÁSBAN

## **Balla Tamás**

*Program for Developmental Neuroscience, NICHD, National Institutes of Health, Bethesda, USA*

A foszfoinozitidek minden eukarióta sejtmembrán fontos alkotóelemei. Ezen lipideknek kis mennyiségük mellett jellemzője a gyors metabolikus turnover, amit különböző lipid kináz és foszfatáz enzimek katalizálnak specifikus membránkompartmentekben. A plazmamembránban található foszfoinozitidek jelentősége jól ismert mind a jelátviteli mechanizmusokban, mind az ioncsatornák és transzporterek szabályozásában. Újabb kutatások ezen lipidek fontos szerepére mutattak rá az intracelluláris membránok dinamikájának szervezésében is. Számos betegség patomechanizmusában a foszfoinozid kinázok és foszfatázok működésének zavarait mutatták ki. Saját kutatásaink fő célja a lipid kinázok egy csoportja, a foszfatidilinozitol 4-kinázok (PI4K) biológiai funkcióinak jobb megértése. A négy, külön gének által kódolt PI4K enzim különböző funkciókra specializálódott. A PI4KA enzim felelős a plazmamembrán PI4P-készletének szintéziséért, míg a PI4KB enzim a Golgiból való szekréciónban játszik szerepet. A PI4K2A és -2B enzimek az endoszomális membránfolyamatok szervezésében vesznek részt. Ebben az előadásban azokat a legújabb kísérleti eredményeinket fogom ismertetni, melyek a PI4K-ok újabb, eddig nem ismert szerepére utalnak a sejtek strukturális lipidjeinek transzportjában és metabolizmusában.

# ÚJ OPIOID RECEPTOR ANTAGONISTA: A NALTREXON-14-O-SZULFÁT (N-14-O-SU) FARMAKOLÓGIAI KARAKTERIZÁLÁSA

**Balogh Mihály**<sup>1</sup>, Zádor Ferenc<sup>2</sup>, Király Kornél<sup>1</sup>, Fehér Ágnes<sup>1</sup>, Lackó Erzsébet<sup>1</sup>, Váradi András<sup>3</sup>, Kocsis Dóra<sup>2</sup>, Zádori Zoltán Sándor<sup>1</sup>, Hosztafi Sándor<sup>3</sup>, Riba Pál<sup>1</sup>, Füst Zsuzsanna<sup>1</sup>, Benyhe Sándor<sup>2</sup>, Al-Khrasani Mahmoud<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Semmelweis Egyetem Farmakológiai és Farmakoterápiás Intézet, Budapest*

<sup>2</sup>*Magyar Tudományos Akadémia Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Biokémiai Intézet, Szeged*

<sup>3</sup>*Semmelweis Egyetem Gyógyszerészi Kémiai Intézet, Budapest*

A naloxon, illetve a naltrexon mind farmakológiai kutatásokban, mind a klinikai gyakorlatban elterjedten alkalmazott opioid antagonisták. Eltérő affinitással mindhárom opioid receptor szubtypushoz kapcsolódnak. Lipidoldékonyságuk nagy, a vér-agy gáton könnyedén átjutnak. Az N-metil származékok (pl.: metilnaltrexon) centrális hatása elhanyagolható. A naloxon-14-O-szulfát in vitro analízise korábban megtörtént, azonban naltrexon esetén nincs irodalmi adat.

**CÉL:** Az újonnan szintetizált opioid antagonistá, a N-14-O-SU farmakológiai tulajdonságainak feltárása in vitro, ex vivo és in vivo vizsgálatokkal.

**METODIKA:** A vegyület szintézise a Semmelweis Egyetem Gyógyszerészi Kémia Intézetében történt (Hosztafi Sándor). In vitro vizsgálat: Wistar hím patkány és LAL/HA/BR hím tengerimalac agy membránfrakcióit használtuk a kötési kísérletekhez. Radioligand-kompetíciós-, és funkcionális [<sup>35</sup>S]GTPγS kötési vizsgálatokat végeztünk. Ex vivot tanulmányozás során izolált szerven végzett elektrostimulációs analízist végeztünk NMRI egerek ductus deferensén, valamint colonján. In vivo egér tail-flick teszten vizsgáltuk a vegyület hatását a morfin antinociceptív hatásával szemben. A kísérleteink során referensként naloxont és naltrexont használtunk.

**EREDMÉNYEK:** Az in vitro kötődési vizsgálatok eredménye szerint a N-14-O-SU különböző affinitással kötődik az opioid receptor szubtypusokhoz a következő sorrendben:  $\mu > \delta > \kappa$ . Mindhárom szubtypushoz alacsonyabb affinitással kötődik, mint a naltrexon, vagy naloxon. Azonban a  $\mu/\delta$  arány hasonló az anyavegyülethez, míg a  $\mu/\kappa$  arány jóval magasabb. A funkcionális G-protein aktivációs vizsgálat szerint az alap  $G_{i\alpha}$  aktivitást nem befolyásolja, a különböző agonisták által megemelt aktivitást hatékonyan gátolja. Az ex vivokapott eredmények ezzel korrelálnak. Az in vivotesztek alapján a N-14-O-SU a morfin analgetikus hatását dóziszfüggő módon gátolja. A Schild Plot analízis alapján az illesztett egyenes meredeksége az egyhez közeli, mely kompetitív antagonizmusra utal.

**KONKLÚZIÓ:** A N-14-O-SU az anyavegyülethez képest megtartotta  $\mu/\delta$  szelektivitását, azonban  $\mu/\kappa$  szelektivitása határozottan jobb. Szerkezet-modifikációnk az affinitást csökkentette, ugyanakkor a szelektivitást jelentősen javította. Emellett in vivo eredményeink kompetitív antagonizmust igazoltak. Végezetül a vegyület ikerion-szerkezete biztató a lokális hatás tekintetében, orális adagolás mellett. E hatás kedvező lehet krónikus opioid kezelés okozta konstipációban.

# CANNABINOID AGONISTÁK LEHETSÉGES ANTITUMOR HATÁSAI OVÁRIUM CARCINOMÁBAN

**Balogh Norbert**<sup>1</sup>, Angyal Ágnes<sup>1</sup>, Szécsy Dóra<sup>1</sup>, Szöllősi Attila Gábor<sup>1</sup>, Oláh Attila<sup>1</sup>, Tóth István Balázs<sup>1</sup>, Bíró Tamás<sup>1,2</sup>, Czifra Gabriella<sup>1</sup>

<sup>1</sup>DE-MTA „Lendület” Sejtélettani Kutatócsoport, Debreceni Egyetem, ÁOK, Élettani Intézet, Debrecen

<sup>2</sup>Debreceni Egyetem, ÁOK, Immunológiai Intézet, Debrecen

**BEVEZETÉS:** Az endocannabinoid rendszer (ECS) egy olyan komplex jelátviteli struktúra, amely magába foglalja a cannabinoid receptorokat (CB1, CB2, GPR55, GPR119), az endogén ligandokat (arachidonoil-etanolamid, AEA; 2-arachidonoil-glicerol, 2-AG), valamint az endocannabinoidokat szintetizáló és degradáló enzimeket (DAGL $\alpha$ , DAGL $\beta$ , NAPE-PLD, FAAH, MAGL). Az ECS fontos szerepet tölt be számos élettani folyamat szabályozásában, így többek között befolyásolja a sejtek proliferációját és differenciációját. Így jelen kísérletünkben az ovarium carcinoma in vitro sejtes modelljén cannabinoid agonisták lehetséges antitumor hatásait kívántuk feltérképezni.

**MÓDSZEREK:** A klasszikus (CB1; CB2) és novel cannabinoid receptorok (GPR55; GPR119) jelenlétét qPCR és Western blot technikával igazoltuk, míg az endogén ligandokat felépítő (DAGL $\alpha$ ; DAGL $\beta$ ; NAPE-PLD) és lebontó (FAAH; MAGL) enzimrendszer mRNS expresszióját qPCR technikával mutattuk ki. Az endogén és szintetikus agonisták sejtek életképességére gyakorolt hatásának vizsgálatához MTT-assay-t, a sejtek proliferációjának meghatározására CYQUANT-assay-t, míg az apoptózis és necrosis meghatározására kombinált fluoreszcens Dilc1(5)-Sytox green jelölést alkalmaztunk.

**EREDMÉNYEK:** A2780 humán, immortalizált, ovarium carcinóma sejteken kimutattuk, hogy a cannabinoid receptorok mind mRNS, mind fehérje szinten kifejeződnek, míg az endogén ligandok szintéziséért és degradációjáért felelős enzimrendszer mRNS szintű expresszióját qPCR technikával igazoltunk. Kísérleteink igazolták, hogy az endogén ligand AEA-dal, valamint a CB1 receptor szelektív, szintetikus agonista Arachidonyl-2'-chloroethylamide-dal (ACEA) történő kezelés szignifikánsan csökkentette a sejtek proliferációját. A cannabinoid vegyületekkel történő kezelés hatására ugyanakkor sem apoptosist, sem pedig necrosist nem detektáltunk. A ligandok által közvetített antiproliferatív hatást a CB1 és CB2 receptor szelektív inverz agonistái nem voltak képesek felfüggeszteni és kivédeni.

**KÖVETKEZTETÉS:** Eredményeink alapján elmondható, hogy az ovarium carcinoma in vitro sejtes modelljén az ECS tagjai expresszálódnak és a cannabinoid agonisták gátolják a tumorsejtek proliferációját, így a jövőben az ECS a petefészek daganat egyik lehetséges farmakológiai targetje lehet.

**TÁMOGATÓK:** „Lendület” LP2011-003/2015, Debreceni Egyetem Belső Kutatási Pályázata RH/885/2013

# AZ NKX2-3 HOMEODEOMÉN TRANSZKRIPCIÓS FAKTOR MINT A HASÚRI NYIROKSZÖVETEK ENDOTHEL-SPECIFIKÁCIÓJÁNAK ELSŐDLEGES MEGHATÁROZÓJA

**Balogh Péter**, Kellermayer Zoltán, Lábadi Árpád, Vojkovics Dóra, Czömpöly Tamás  
*Pécsi Tudományegyetem Immunológiai és Biotechnológiai Intézet Pécs*

A perifériás nyirokszövetek helyi érelemei elengedhetetlenek a fehérvérsejtek hatékony irányított megtelepedéséhez, ugyanakkor a szövet-specifikus érmintázat molekuláris jellemzőinek kialakításában résztvevő faktorok viszonylag kevésbé ismertek. Az előadásban az Nkx2-3 transzkripciós faktornak a lép és a bél-asszociált nyirokszövetek ér-specializációjában betöltött szerepére irányuló szerkezeti, funkcionális és génexpressziós vizsgálatainkat mutatjuk be. Nkx2-3 hiányában a lép ér szerkezetére a szinte teljes mintázat-váltás jellemző, aminek részeként LYVE-1 markert hordozó nyirokkapilláris-tasakok és (lymphotoxin béta-receptor [LT $\beta$ R] függő módon) perifériás nyirokcsomó addresszint (PNAd) kifejező ektópiás magas endotheliális venulák (HEV) jelennek meg. A bél-asszociált nyirokszövetek közül a Peyer-plakkokban a MAdCAM-1 kifejeződés helyett szintén PNAd dominancia figyelhető meg, így a mukózális HEV érszakaszokban is a nyirokcsomókra jellemző PNAd-függő homing zajlik. A megváltozott homing-folyamat mellett az Nkx2-3 hiánya megváltoztatja a bélnyálkahártya lymphocita megoszlási/áthelyeződési egyensúlyt és nagymértékben gátolja a vastagbél nyiroktüszők érését, aminek mértékét KikGR fotokonverziós eljárással és Luc biolumineszcens képalkotó módszerrel határoztuk meg. Eredményeink alapján az Nkx2-3 szerepe a lép és a bél-asszociált nyirokszövetek ér-szerveződésének és specifikációjának fenntartása az addresszin-preferencia irányításán keresztül. A humán lépben kimutatható Nkx2-3-pozitív ér-szegmentumok a hasúri nyirokszövetek ér-specifikációjának az egéréhez hasonló fejlődéstani szabályozására utalnak.

# QUANTITATIVE EXAMINATION OF EXTRACELLULAR PROFILE OF NEUROTRANSMITTERS IN MEDIAN RAPHE NUCLEI ASSOCIATED WITH OPTOGENIC PHOTO STIMULATION

**Baranyi Mária**, Zelena Dóra, Sperlách Beáta  
*MTA Kisérleti Orvostudományi Kutatóintézet*

**Rationale:** There is considerable interest in regulation of 5-hydroxytryptamine (5-HT) transmission in the median raphe nuclei (MRN) because it can control the activity of ascending serotonergic systems and the release of 5-HT in terminal areas of the forebrain. Several intrinsic and extrinsic factors regulate 5-HT release in MRN neurons and their malfunctions may lead to pathologically altered behavior.

**Objectives and methods:** In vivo microdialysis technique was used for sampling of MRN of anaesthetized transgenic mice that were microinjected with light-sensitive mutant adenoviral vector (rAAV2/9-synapsin-ChR2/eGFP). Blue light illumination using 20 Hz frequencies and theta burst stimulations protocol at 5 min interval was used. Depolarizing effect of KCl in same interval was used as positive control. Dynamic changes of extracellular levels of 5-HT, glutamate (Glu) and GABA in serotonergic neurons of MRN were analyzed by HPLC.

**Results:** K<sup>+</sup>-stimulation significantly increased the extracellular neurotransmitter release in the MRN of control mice the Glu, 5-HT and Gaba levels reached [from  $3.41 \pm 0.43$  to  $6.03 \pm 0.47$  nmol/ml (201.8 % of basal)]; [from  $1.66 \pm 0.17$  to  $3.33 \pm 0.59$  pmol/ml (191.9 % of basal)]; [from  $0.46 \pm 0.11$  to  $1.16 \pm 0.26$  nmol/ml (224.7 % of basal), respectively] 30 min after the beginning of KCl stimulation.

The peak of extracellular Glu, 5-HT and Gaba levels in virus infected mice after K<sup>+</sup>-stimulation was [ $5.98 \pm 0.91$  nmol/ml (224.2 % of basal);  $3.62 \pm 0.89$  pmol/ml (195.5 % of basal);  $1.55 \pm 0.31$  nmol/ml (153.7 % of basal), respectively] at the same time.

Two-way factorial ANOVA revealed that blue light illumination using 20 Hz frequencies (at 5 min interval) protocol of MRN in virus infected mice increased the extracellular levels of Glu ( $F_{1,174}=9.279$ ,  $p<0.0027$ ) and 5-HT ( $F_{1,174}=20.283$ ,  $p<0.000013$ ) but not the Gaba levels 30 min after the illumination was started.

In MRN of virus infected mice the Glu levels reached [to  $4.76 \pm 0.51$  nmol/ml (180.2 % of basal),  $F_{3,174}=2.715$ ,  $p<0.0465$ ], 5-HT levels reached [to  $3.98 \pm 0.66$  pmol/ml (213.7 % of basal),  $F_{3,174}=4.083$ ,  $p<0.0079$ ] and the Gaba levels changed [to  $0.42 \pm 0.11$  nmol/ml (98.3 % of basal),  $F_{3,174}=0.268$ ,  $p<0.848$ ] at the same time point. Peak of extracellular Glu and 5-HT levels in virus infected mice was [ $3.53 \pm 0.5$  nmol/ml (118.7 % of basal) 90 min after and  $2.62 \pm 0.66$  pmol/ml (132.2 % of basal) 60 min after, respectively] when illumination using intermittent theta burst protocol was initiated. Surprisingly, the Gaba levels in MRN of virus infected mice increased [to  $1.40 \pm 0.2$  nmol/ml, (130.9 % percent of basal values)] and this change was significant (LSD post-hoc test  $p<0.5$ ) 30 min after the illumination was initiated.

**Conclusions:** Glutamate exerts a facilitatory control over the release of 5-HT in the median raphe nuclei and GABA tonically regulate the extracellular concentration of 5-HT. Overall, it appears that the extracellular concentration of 5-HT in the MNR is tightly controlled by intrinsic serotonergic mechanisms.

# AZ EICOSANOIDOK SZEREPE AZ AGYI KERINGÉS SZABÁLYOZÁSÁBAN / ROLE OF EICOSANOIDS IN CEREBRAL BLOOD FLOW

**Bari Ferenc**

*Szegedi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Orvosi Fizikai és Orvosi Informatikai Intézet*

Eicosanoids play an important role in the regulation of cerebral microvascular tone in the brain parenchyma, and are involved in the mediation of neuroinflammatory cascades in cerebral ischemia. Our research group has extensively investigated the vasoregulatory action and neuroprotective or detrimental potential of arachidonic acid metabolites in animal models of perinatal hypoxic-ischemic injury, and global forebrain ischemia during adult life. We specifically focused on the contribution of cyclooxygenase (COX) enzymes to cerebral vasoregulation and its consequences on neurovascular function in the above conditions.

A major pathway leading to vasodilator prostanoids and proinflammatory eicosanoids involves COX-2, a rate limiting enzyme in prostanoid synthesis, which is located in perivascular nerve terminals along intraparenchymal penetrating arterioles and capillaries, and its products are involved in the mediation of functional hyperemia to somatosensory stimulation. A COX-2 derived vasoactive mediator produced by the downstream enzyme prostaglandin E synthase is prostaglandin E<sub>2</sub>, which causes vasodilation by binding to its receptors (EP<sub>2</sub> and EP<sub>4</sub> receptors) located in vascular smooth muscle cell membranes in the brain. In contrast with the COX-2 route, the role of the constitutive COX-1 enzyme (which is thought to be primarily expressed in astrocytes) in shaping the CBF response to somatosensory stimulation has not been proven.

Our studies conducted on newborn piglets revealed that (i) COX-dependent vascular reactions appear to depend largely on COX-2 activity in the neonatal brain, (ii) ischemic stress leads to relatively rapid, selective induction of COX-2 in cerebral arteries, (iii) COX-2 appears to be a major source of reactive oxygen species in the piglet cerebral cortex after a hypoxic/ischemic episode, (iv) COX-2 is expressed in pial arterioles as well as in cortical pyramidal cells in the piglet brain, and (v) a distinct mechanism of action of the vasodilator PACAP<sub>27</sub> and <sub>38</sub> is also COX-dependent.

In our global forebrain ischemia model created in adult rats by the occlusion of both common carotid arteries, we found that COX-2 enzyme is rapidly upregulated in the cortex and hippocampus after ischemia onset, and the selective inhibition of COX-2 prevented the ischemia-induced memory impairment, albeit without preserving hippocampal neurons.

Taken together, our results indicate that COX-2 enzyme products contribute to cerebral vasodilation, while ischemia-induced COX-2 upregulation gives rise to excessive liberation of harmful reactive oxygen species and promote memory impairment.



# PATKÁNYKÖLYKÖK TÁPLÁLÉKFELVÉTEL HATÁSÁRA BEKÖVETKEZŐ AGYI AKTIVÁCIÓS MINTÁZATA

**Barna János<sup>1</sup>**, Renner Éva<sup>2,3</sup>, Arszovszki Antónia<sup>1,3</sup>, Palkovits Miklós<sup>2,3</sup>, Dobolyi Árpád<sup>1,2,3,4</sup>

<sup>1</sup>Neuromorfológiai Laboratórium, Anatómiai, Szövet-, és Fejlődéstani Intézet, Semmelweis Egyetem, Budapest

<sup>2</sup>Humán Agyszövet Bank, Semmelweis Egyetem, Budapest

<sup>3</sup>MTA-SE-NAP A Humán Agyszövet Bank Mikrodisszekciós Kutatócsoport, Semmelweis Egyetem, Budapest

<sup>4</sup>MTA-ELTE NAP B Molekuláris és Rendszer Neurobiológiai Kutatócsoport, Élettani és Neurobiológiai Tanszék, Eötvös Loránd Tudományegyetem, Budapest

A rágcsálók kölykei vakon és gyengén fejletten jönnek világra. Születésük után egyik legfontosabb tevékenységük a táplálkozás. A kísérleteink során az volt a célkitűzésünk, hogy megállapítsuk, hogy mely agyterületek aktiválódnak a szoptatás során. C-Fos technikát használtunk az aktiválódott neuronok azonosítása céljából. Hogy a folyamatos táplálkozásból eredő c-Fos aktiválódás eltűnjön, egy napig éhezettük a kölyköket (n=6) a postpartum 10. napon. A 11. postpartum napon 2 órára visszaengedtük a kölyköket az anyákhoz, mire azok 5 percen belül táplálkozni kezdek. A Fos-ir neuronok jelentős számú növekedését tudtuk megfigyelni a nucleus sensorius principalis nervi trigemini-ben, a nucl. motorius n. facialisban, a nucl. paralemniscalis medialisban, a nucl. parabranchialis lateralisban, a hypothalamus paraventriculáris magjaiban, és az amygdala centralis magjában. A kettős jelöléses vizsgálatok aktiválódó calcitonin génnel rokon peptid (CGRP)-ir neuronokat mutattak ki a nucl. parabrachialis lateralisban és a nucl. motorius nervi facialisban, továbbá tuberoinfundibuláris peptid 39 (TIP39)-ir neuronok aktiválódtak a nucl. paralemniscalis medialisban. A paraventricularis magban a Fos-ir neuronok egy részében corticotropin releasing hormon (CRH) immunreaktivitást lehetett megfigyelni. Az A2-es noradrenerg neuronok többsége a nucl. tractus solitarii-ban aktiválódott a szoptatás során. A szoptatás hatásával való összehasonlítás céljából a 17. postnatalis napon szintén egy nap éheztetés után 6 db kölyköt nem adtunk vissza az anyjuknak, hanem száraz táplálékot és vizet adtunk nekik. Az elfogyasztott táplálék mennyiségének becslése érdekében az állatok testsúlyát ebben a csoportban is mértük. Több agyterületen a szoptató anyához visszatett csoporthoz hasonló denzitásban találtunk c-Fos pozitív sejteket. Azonban a centralis amygdalában a c-Fos aktiváció csökkent ezekben a kölykökben a szoptató anyához visszatett csoporthoz képest, viszont c-Fos aktivált sejtek megjelentek a dorsomedialis hypothalamicus magban is. A szoptatás során aktiválódó neuronok részt vehetnek a szoptatással kapcsolatos motoros és szenzoros folyamatokban és homeosztatisz szabályozásokban, míg azok az agyterületek, melyeket a szilárd táplálékfelvétel során aktiválódtak, szerepet játszanak felnőttkori táplálkozással kapcsolatos tevékenységekben.

A kutatást az OTKA K116538 és a KTIA\_NAP\_B\_13-2-2014-0004 Program támogatta.

# A DIMETIL-TRISZULFID HATÁSAI A NOCICEPCIÓ ÉS GYULLADÁS KARRAGÉN INDUKÁLTA EGÉRMODELLJÉBEN

**Bátai István Zoárd,** Pozsgai Gábor, Pintér Erika

*Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet*

Korábbi kutatások kimutatták, hogy a poliszulfidok a H<sub>2</sub>S-nél kisebb koncentrációban képesek aktiválni a tranziens receptor potenciál ankyrin 1 (TRPA1) csatornát. A TRPA1 a TRP receptor családba tartozó kation-szelektív ion csatorna, amely a kapszaicin szenzitív érző neuronok egy csoportjában expresszálódik. A TRPA1 receptor aktivációja Ca<sup>++</sup> beáramlást eredményez a sejtbe, amely az adott neuronból további pro- és antiinflammatorikus neuropeptidok felszabadulásához vezet. A szomatosztatin (SST) egyike ezen antiinflammatorikus neuropeptidoknak. Ismert a SST analgetikus és gyulladás csökkentő hatása, amelyet a SST receptor 4-hez (SSTR4) kötődve vált ki. Kísérleteink során egy dialkil-poliszulfid, a dimetil-triszulfid (DMTS), a TRPA1 és SSTR4 receptorok kapcsolatát vizsgáltuk karragén által kiváltott kevert lokális gyulladásos modellben.

Kísérleteinket TRPA1(-/-) vagy SSTR4(-/-) gén hiányos egereken és vad típusú (+/+) párjaikon végeztük. A gyulladásos válasz kiváltásához 20l 3%-os karragén oldatot injektáltunk intraplantarisan -t az egerek hátsóvégtagjába, a kontralateralis oldalt pedig azonos térfogatú fiziológiás sóoldattal kezeltük. Harminc perccel a karragén beadása előtt az egereket 250 µmol/kg DMTS i.p. adásával kezeltük, és óránként ismételtük a DMTS alkalmazását 6 órán keresztül. A karragén kezelést követő 2. 4. és 6. órában regisztráltuk a nocicepciót és az ödéma képződés mértékét dinamikus plantáris eszteziometriával, illetve pletizmometriával.

A TRPA1(+/-) egerekben a vehikulummal kezelt társaikhoz viszonyítva a DMTS kezelés hatására a fájdalomküszöb szignifikánsan emelkedett a 2. 4. és 6. órában, ellenben a lábfej térfogat esetében csak a 6. órában volt észlelhető szignifikáns csökkenés. TRPA1(-/-) egerekben a DMTS kezelés nem volt szignifikáns hatással a fájdalomküszöbre illetve a lábfej térfogatra a vehikulummal kezelt egyedekkel összehasonlítva. SSTR4(+/-) egerekben a DMTS kezelés a kontroll csoporthoz képest szintén szignifikáns mértékben növelte a nocicepció küszöbértéket a 2., 4., és a 6. órában, azonban nem befolyásolta a lábfej térfogatokat. Az SSTR4(-/-) egerekben - a TRPA1(-/-) egerekhez hasonlóan - a DMTS kezelés nem volt hatással a mért fájdalom- és gyulladásos paraméterekre. Konklúzió. Sikeresen kimutattuk, hogy a DMTS szignifikánsan csökkentette a nocicepciót és az oedema képződést karragén- indukálta gyulladásos egér modellben. A hatás kifejlődéséhez szükséges a TRPA1 és a SSTR4 receptor jelenléte. Eredményeink alapján feltételezhető a egy poliszulfid-TRPA1-SSTR4 jelátviteli út, amelynek további vizsgálatát tervezzük.

# CONTRIBUTION OF PLATELET P2Y<sub>12</sub> RECEPTORS TO CHRONIC COMPLETE FREUND'S ADJUVANT-INDUCED INFLAMMATORY PAIN

**Katinka Bekő**<sup>1</sup>, Bence Koványi<sup>1,2</sup>, Gergely Horváth<sup>1,2</sup>, Ádám Dénes<sup>3</sup>, Zsuzsanna Környei<sup>3</sup>, Bálint Botz<sup>4,5</sup>, Zsuzsanna Helyes<sup>4,5,6</sup>, Christa E. Müller<sup>6</sup>, Beáta Sperlág<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Molekuláris Farmakológia Kutatócsoport, MTA-KOKI, Budapest*

<sup>2</sup>*Szentágothai János Idegtudományi Doktori Iskola, SE, Budapest*

<sup>3</sup>*Neuroimmunológia Kutatócsoport, MTA-KOKI, Budapest*

<sup>4</sup>*Farmakológiai és Farmakoterápiai Kutatóintézet, PTE AOK, Pécs*

<sup>5</sup>*Molekuláris Farmakológia Kutatócsoport, Szentágothai János Kutatóközpont, PTE, Pécs*

<sup>6</sup>*MTA-PTE NAP B Krónikus Fájdalom Kutatócsoport, PTE, Pécs*

<sup>7</sup>*PharmaCenter Bonn, Pharmaceutical Institute, University of Bonn, Bonn*

**Background:** P2Y<sub>12</sub> receptor inhibitors are widely used in clinical practice to inhibit platelet aggregation. P2Y<sub>12</sub> receptors are also known to regulate of different forms of pain as well as local and systemic inflammation. However it is not known how platelet P2Y<sub>12</sub> receptors contribute to these effects.

**Objectives:** In this study, we explored the contribution of platelet P2Y<sub>12</sub> receptors to chronic inflammatory pain in mice.

**Methods:** Complete Freund's adjuvant (CFA)-induced chronic inflammatory pain was induced in wild-type and P2ry12 gene-deficient mice (P2ry12<sup>-/-</sup>), and the potent, direct-acting and reversible P2Y<sub>12</sub> receptor antagonists, PSB-0739, and cangrelor were used.

**Results:** CFA-induced mechanical hyperalgesia was significantly decreased in P2ry12<sup>-/-</sup> mice for up to 14 days, and increased neutrophil myeloperoxidase activity as well as TNF- $\alpha$  and KC levels in the hind paws were also alleviated in the acute inflammation phase. At day 14, elevated IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$  and KC levels were attenuated in P2ry12<sup>-/-</sup> mice. PSB-0739 and cangrelor reversed hyperalgesia in the wild-type but had no effect in the P2ry12<sup>-/-</sup> mice, and PSB-0739 was also effective when applied locally. The effect of both local and systemic PSB-0739 was occluded by A-803467, a selective NaV1.8 channel blocker, suggesting the involvement of NaV1.8 channels in the anti-hyperalgesic effect. Platelet depletion by anti-mouse CD41 antibody alleviated hyperalgesia and attenuated the pro-inflammatory cytokine response in wild-type but not in P2ry12<sup>-/-</sup> mice on the 14th day.

**Conclusions:** In conclusion, P2Y<sub>12</sub> receptors regulate CFA-induced hyperalgesia and local inflammatory response, and platelet P2Y<sub>12</sub> receptors contribute to these effects in the chronic inflammation phase.

# TUMOROS FÁJDALOM ÉS AGYI MIKROGLIA-AKTIVÁCIÓ KOMPLEX VIZSGÁLATA EGÉR OSZTEOSZARKÓMA MODELLBEN

**Bencze Noémi**<sup>1</sup>, Scheich Bálint<sup>1</sup>, Adámy András<sup>1</sup>, Szentes Nikolett<sup>1,2</sup>, Borbély Éva<sup>1,2</sup>, Szőke Éva<sup>1,2</sup>, Wilhelm Imola<sup>4</sup>, Helyes Zsuzsanna<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup>PTE Általános Orvostudományi Kar; Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet

<sup>2</sup>PTE Szentágotthai János Kutatóközpont; Molekuláris Farmakológia Kutatócsoport

<sup>3</sup>MTA-PTE NAP Krónikus Fájdalom Kutatócsoport

<sup>4</sup>Szegedi Biológiai Kutatóközpont

**Bevezetés:** A csont tumorok okozta krónikus fájdalom jelentős klinikai problémát jelent. Ezért kísérletes modellekben való vizsgálata fontos az esetleges új terápiás megközelítések kidolgozásához, és a háttérben álló komplex neuro-immunológiai folyamatok feltérképezéséhez. Kísérletünk célja a tumoros fájdalom vizsgálata volt egér oszteoszarkóma modellben a nemi különbségek figyelembevételével, funkcionális és morfológiai paraméterek, valamint agyi neuro-immun változások megfigyelésével.

**Módszerek:** Balb/c egerekbe intratibiálisan injektáltunk egér osteoszarkóma sejteket (K7M2), majd 24 napon keresztül megfigyeltük a fájdalomküszöb és a végtagterhelés változását, ill. a spontán fájdalom megjelenését. A tumornövekedést a térdátmérő méréssel, és a tibia CT vizsgálatával követtük in vivo. Az állatok leölése (24. nap) után a fájdalompercepcióban fontos két agyi régióban, a szomatoszenzoros kéregben és periakveduktális szürkeállományban tanulmányoztuk a mikroglia-aktivációt Iba1 immunhisztokémiával.

**Eredmények:** A mechano-nociceptív küszöb szignifikánsan csökkent a tumoros végtagban. A mechanikai hiperalgécia 19. napon érte el maximumát. A tumoros végtag terhelése jelentősen csökkent, és spontán fájdalom jelent meg. A térdátmérő növekedését az oszteoszarkómára jellemző CT eltérések megjelenése kísérte. A vizsgált agyterületeken nem találtunk különbséget mikroglia-aktivációban az álműtött és tumoros egerek között. A hím és nőstény egerek között szignifikáns eltérést egyik paraméterben sem találtunk.

**Összefoglalás:** Az alkalmazott modellben elsőként vizsgáltuk komplex módon a nociceptív funkciókat a morfológiai elváltozásokkal összevetve. Az oszteoszarkóma progressziója és az ehhez társuló fájdalom egerekben nemi különbséget nem mutat. Eredményeink alapján a vizsgált agyterületeken a mikroglia-aktiváció a modellben kimutatható krónikus funkcionális elváltozások nem játszik szerepet. A továbbiakban célunk a tumoros fájdalomban szerepet játszó központi- és perifériás idegrendszeri neuro-immun interakciók pontosabb feltérképezése modellünkben.

**Támogatás:** NAP B KTIA\_NAP\_13-2014-0022 (MTA-PTE NAP B Krónikus Fájdalom Kutató Csoport, kutatóhely: 888819)

# MMP-2 MINT A MIOKARDIÁLIS INFARKTUS BIOMARKERE ÉS EGYBEN TERÁPIÁS CÉLPONTJA

## Bencsik Péter

*Szegedi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Biokémiai Intézet, Kardiovaszkuláris Kutatócsoport és Pharmahungary Csoport, Szeged*

Fél évszázaddal ezelőtt történt felfedezésük óta a matrix-metalloproteinázok egyre intenzívebben kutatott és megismert enzimcsalád. Nevüket az extracelluláris mátrix átépülésében és szignalizációs folyamataiban betöltött szerepük után kapták, azonban az utóbbi évtizedben egyre több bizonyíték támasztja alá, hogy az MMP-2, mely az egyik leggyakrabban előforduló típus (különös tekintettel a szívizomra), számos kórfolyamat, köztük kardiovaszkuláris betegségek (akut miokardiális infarktus, szívelégtelenség) pathomechanizmusában intracellulárisan is jelentős szereppel bír. A 2000-es években több klinikai vizsgálat is megkísérelte az MMP-2 gátlásán keresztül javítani az akut szívinfarktuson átesett betegek szívfunkcióját, illetve túlélését, azonban - mint arra utólag fény derült -, a helytelenül alkalmazott krónikus kezelési protokollok, illetve a háttérben álló mechanizmusok ismeretének hiánya következtében ezen vizsgálatok sorra elbuktak. Jelen előadásban bemutatásra kerülnek azon utóbbi években elért ígéretes preklinikai eredmények, melyek az MMP-2 új megközelítésű, akut, mérsékelt gátlásával az elhalt terület méretének csökkentését érték el akut miokardiális infarktust követően. Továbbá kutatócsoportunk igazolta, hogy az MMP-2 mérsékelt gátlása, az iszkémiás szívbetegség komorbidityásainak (pl. hiperlipidémia) jelenlétében is kardioprotektív hatást vált ki, mely tovább növeli új, MMP-2 gátló szerek kifejlesztésének indokoltságát. Az MMP-2 terápiás célpontként történő felhasználásán túl bemutatjuk azon kísérleteket, amelyek az iszkémiás szívbetegség kialakulásának, illetve progressziójának klinikai nyomon követésére alkalmas, lehetséges prediktív biomarkerként alkalmazzák a szérumban MMP-2 aktivitását. Végül beszámolunk egy a közelmúltban megkezdett törekvésünkről, amely a szérumban MMP-2 aktivitás akut miokardiális infarktus és/vagy posztinfarktuszos szívelégtelenség diagnosztikus biomarkereként történő preklinikai és klinikai vizsgálatokon alapuló validálását, valamint ezzel szoros összefüggésben rutinszerű, automatizált klinikai laboratóriumi meghatározhatóságának kifejlesztését tűzte ki célul.

**Kulcsszavak:** mátrix-metalloproteináz-2, akut miokardiális infarktus, hiperlipidémia, kardioprotekció

# A CORTI-SZERV DEITERS SEJTJEINEK PURINERG SZIGNALIZÁCIÓJA HALLÓ EGÉR HEMICOCHELEÁJÁBAN

**Berekméri Eszter**, Fekete Ádám, Horváth Tamás, Vizi E. Szilveszter, Sperlág Beáta, Köles László, Zelles Tibor

*Farmakológiai és Farmakoterápiás Intézet, Semmelweis Egyetem*

Annak ellenére, hogy a hallás fiziológiájában és patofiziológiájában jelentőségüket már korábban felismerték, a Corti-szerv támasztósejtjeinek pontos funkciója és regulációs mechanizmusai még nagyrészt feltáratlanok. Kísérleteinkben a Deiters sejtek (DC) ATP mediálta  $Ca^{2+}$  jelátvitelét vizsgáltuk. Az efferens beidegzéssel rendelkező, poláros DC-k valószínűleg szerepet játszanak a cochleáris amplifikációban, valamint az endogén cochleoprotektív mechanizmusokban, így a cochleáris potenciál csökkentésében (pl. zajártalom esetén). Úgy vélik, az extracelluláris ATP és az intracelluláris  $Ca^{2+}$  ezen folyamatok szabályozásában meghatározó tényezők. Annak érdekében, hogy a DC-k ATP kiváltotta intracelluláris  $Ca^{2+}$ -válaszait a lehető legjobban megtartott szöveti struktúrában és kifejlett hallású egerekben (>P15) vizsgálhassuk, akut egér hemicochlea preparátumban  $Ca^{2+}$  érzékeny indikátort juttattunk egy-sejt elektroporációval a DC-k citoplazmájába. A módszer jó jel-zaj aránya szubcelluláris szintű méréseket tesz lehetővé.

Kísérleteink során az ATP-t a perfúziós oldattal juttattuk a sejtekhez, és egy hűtött CCD kamera alapú fluoreszcens imaging rendszerrel detektáltuk az általa kiváltott  $Ca^{2+}$  válaszokat. Megfigyeltük, hogy a polarizált DC-k phalangeális nyúlványában a  $Ca^{2+}$  válasz másodpercekkel megelőzi a szómában felépülőt és független a perfúzió irányától. Ezt a késést három egértörzsben is tapasztaltuk. Az extracelluláris  $Ca^{2+}$  elvonása a szubrégiók válaszai közötti időbeli eltérést lecsökkentette, ugyanakkor az intracelluláris  $Ca^{2+}$  raktárak kiürítésekor a szubrégiók  $Ca^{2+}$  válasza közötti időeltérés megnőtt. P2X7 és P2Y12 KO egértörzsekben nem tapasztaltunk eltérést a kontrollhoz képest.

Feltételezzük, hogy a DC-k intracelluláris  $Ca^{2+}$  szint regulációja az extracelluláris ATP komplex kontrollja alatt áll, amely alapját képezheti a sejtípus hallásélettanban és halláskárosodás elleni védekezésben betöltött széleskörű szerepének.

# A MIKRORNS-223 SZEREPE A POLI(ADP-RIBÓZ)POLIMERÁZ AKTIVÁCIÓBAN CROHN-BETEG GYERMEKEKBEN

**Béres Nóra Judit**<sup>1</sup>, Bartha Árpád László<sup>2</sup>, Benkő Rita<sup>2</sup>, Borka Katalin<sup>3</sup>, Veres-Székely Apor<sup>1,4</sup>, Szabó Attila<sup>1</sup>, Vannay Ádám<sup>1,4</sup>, Veres Gábor<sup>1</sup>, Horváth Eszter M.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Semmelweis Egyetem, I.sz. Gyermekgyógyászati Klinika

<sup>2</sup>Semmelweis Egyetem, Élettani Intézet

<sup>3</sup>Semmelweis Egyetem, II.sz. Patológia Intézet

<sup>4</sup>MTA-SE, Gyermekgyógyászat és Nefrológia Kutatócsoport

**Bevezetés:** A Crohn-betegség (CD) patomechanizmusa jelenleg még nem pontosan tisztázott, ugyanakkor a poli(ADP-ribóz)polimeráz (PARP) aktiváció jelentőségét számos korábbi kutatás felveti. A PARP aktivációjáról gyulladásos bélbetegségben jelenleg még nincs humán vizsgálat. Továbbá ismert, hogy a CD patomechanizmusában a genetikai és környezeti tényezők ismert szerepe mellett az utóbbi években a mikroRNS (miR) szabályozás kiemelt figyelmet kapott. A miR-223 direkt target génje a PARP-1, így célul tűztük ki a miR-223 és a PARP-1 kapcsolatának vizsgálatát CD gyermekek vastagbél biopsziáin, illetve lipopoliszachariddal (LPS) kezelt HT-29 colon sejt vonalon.

**Betegek és módszerek:** Mintáink az I. sz. Gyermekgyógyászati Klinikán gondozott gyermekek biopsziás mintái, illetve LPS-el (24h, 100 ng/mL), vagy vehikulummal (K) kezelt HT-29 sejtek. A PARP-1 aktiváció meghatározásához makroszkóposan ép (n=12) és kóros (n=11), illetve nem-colitises (n=11) gyermekek biopsziás mintáit, illetve az LPS kezelt epitél sejteket használtuk fel Western-blot során. A PARP-1 mRNS, illetve a miR-223 expresszió meghatározásához RT-PCR-t használtunk, mintáink a makroszkóposan ép (n=16) és kóros (n=18), illetve nem-colitises (n=20) gyermekek biopsziás mintái, illetve a HT-29 sejtek.

**Eredmények:** A PARP-1 expresszió szignifikánsan emelkedett CD gyermekek kóros biopsziáiban a kontroll, valamint az ép nyálkahártyához képest (CDkóros:  $1,87 \pm 0,31$  vs. K:  $1 \pm 0,11$  és CDép:  $1 \pm 0,21$ ;  $p < 0,05$ ). A miR-223 expresszió szignifikánsan magasabb CD gyermekekben (CDkóros:  $4,47 \pm 0,46$ , CDép:  $3,49 \pm 0,47$  vs. K:  $1 \pm 0,17$ ,  $p < 0,001$ ). 64 kDa-nál a PARP-1 aktivitás mértéke mindkét CD csoport esetén csökkent a kontrollhoz képest (CDép:  $7,56 \pm 0,86$ , CDkóros:  $7,27 \pm 0,43$  vs. K:  $10,09 \pm 0,64$ ;  $p < 0,05$ ). A PARP-1 mRNS szinteket a HT-29 colon epitél sejtekben az LPS kezelés nem befolyásolta, csökkentette azonban a miR-223 expresszióját ( $0,39 \pm 0,08$  vs.  $1 \pm 0,14$ ;  $p < 0,01$ ). A PARP-1 mennyisége (64kDa) emelkedett az LPS-sel kezelt sejtekben ( $41,51 \pm 5,35$  vs.  $22,57 \pm 4,5$ ;  $p < 0,05$ ).

**Következtetés:** Eredményeink alapján a PARP-1 enzim expressziójának, valamint aktivitásának változása fontos szerepet játszik a CD patomechanizmusában. Ellentétes változás igazolható a PARP-1 aktiváció, és a miR-223 szintje között, melyet kísérletes modellben is igazoltunk.

# A REGULATÓRIKUS T SEJTEK SZEREPE AZ IMMUNOLÓGIAI TOLERANCIA FENNTARTÁSÁBAN

**Berki Timea**, Ugor Emese, Pap Ramóna, Prenek Lilla, Boldizsár Ferenc

*Pécsi Tudományegyetem, Klinikai Központ, Immunológiai és Biotechnológiai Intézet, Pécs*

A CD4/CD25/Foxp3 fenotípussal jellemezhető regulatórikus T-sejtek (Treg) fontos szabályozói az immunválasznak, és felelősek a perifériás tolerancia fenntartásáért. Immunszuppresszív hatásukat sejtfelszíni molekulák és citokin termelésük révén érik el. Egyik csoportjuk, a tímuszban differenciálódik a negatív szelekció során (tTreg), míg egy másik csoport a periférián (pTreg), főleg a béltraktusban képződik saját antigének hatására.

Munkánk célja a Treg sejtek terápiás alkalmazása egér autoimmun rheumatoid arthritis kísérletes állatmodelljében (rhG1-indukált-arthritis) melyekben a CD4+ T-sejtek a porc eredetű proteoglikán arthritogén epitópját (5/4E8) ismerik fel. Az autoimmun folyamat gátlásához Balb/c és TcR transzgen egértörzsből izolált tímusz és lép eredetű Treg sejteket in vitro felszaporítottunk és vizsgáljuk azok funkcionális aktivitását.

3-4 hetes BALB/c és TcR-TgA egerekből izoláltunk mágneses negatív szelekcióval tímusz és lép CD4+ T limfocitákat. A sejteket anti-CD3/CD28 T-sejt aktivátor mikrogyöngyökkel tenyésztettük 3 napig rekombináns IL-2, TGF $\beta$  és/vagy Dexamethasone (DX) jelenlétében. Áramlási citometriás méréseket végeztünk sejtfelszíni CD4, CD25, TGF $\beta$  és intracelluláris Foxp3, IL-10 jelölést követően. Kvantitatív RT-PCR méréssel követtük nyomon a TGF $\beta$  és IL-10 citokin termelést és a Foxp3 expressziót. A BALB/c egérből izolált tímusz eredetű CD4+ T-sejtek 2-3% a tTreg sejt, a lépben ez 10-11%. In vitro anti-CD3/CD28 mikrogyöngyökkel stimulálva a sejteket, rekombináns IL-2 és TGF $\beta$  jelenlétében a tímuszból 24-25%-os tTreg arány a lépben 45%-os pTreg arány emelkedés érhető el 3 nap alatt amely DX jelenlétében további 5%-al emelkedik (50%). A transzgenikus egérben a kiindulási alacsonyabb tTreg sejtarány 16%-ra emelkedik az expansió során, míg a lépben a kezdeti 8%-ról 25%-ra, DX jelenlétében 32%-ra nő a pTreg arány. A sejtek emelkedett IL-10 és TGF $\beta$  termelését fehérje és mRNS szinten is detektáltuk.

A perifériás Treg sejtek hatékony expansiója és aktiválása ígéretes eszköz lehet jövőbeli adoptív transzfer kísérletekben autoimmun betegségek terápiás kezelési lehetőségeként.

OTKA K10596



# A HEMOKININ-1 SZEREPÉNEK VIZSGÁLATA AKUT ÉS KRÓNIKUS STRESSZ ÁLTAL KIVÁLTOTT FÁJDALOMBAN ÉS VISELKEDESI VÁLTOZÁSOKBAN EGÉRMODELLBEN

**Borbély Éva**<sup>1,2</sup>, Scheich Bálint<sup>1,2</sup>, Gaszner Balázs<sup>3</sup>, Berger Alexandra<sup>4</sup>, Szolcsányi János<sup>1</sup>, Pintér Erika<sup>1,2</sup>, Helyes Zsuzsanna<sup>1,2,5</sup>

<sup>1</sup>PTE ÁOK, Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet

<sup>2</sup>PTE, Szentágotthai János Kutatóközpont, Idegtudományi Centrum

<sup>3</sup>PTE ÁOK, Anatómiai Intézet

<sup>4</sup>Ontario Cancer Institute, University Health Network, Toronto, Canada

<sup>5</sup>MTA, NAP B Fájdalom Kutatócsoport

A P-anyag (SP) kötődését gátló NK1 antagonisták a szorongásos és depressziós kórképek gyógyításában nem váltották be a hozzájuk fűzött reményeket. A Tac4 gén-kódolt, NK1 receptor agonista hemokinin-1 (HK-1), bár szerkezeti hasonlóságot mutat a SP-hez, funkciója és expressziója eltér a többi tachykininétől. Kísérleteinkben ezért a HK-1 szerepét vizsgáltuk akut és krónikus immobilizációs stressz indukálta viselkedési és morfológiai változásokban valamint fájdalomban C57Bl/6 (WT) és HK-1 génhíányos (Tac4<sup>-/-</sup>) egerek segítségével.

Az akut stresszre adott reakciót forced swim tesztben (FST) vizsgáltuk, majd a stresszválaszban résztvevő agyterületeken a sejtaktiváció mértékét Fos immunhisztokémiával határoztuk meg. Az immobilizációt napi 6 órán át, 4 héten keresztül végeztük. A krónikus stressz-indukálta fájdalmat mechanikai hiperalgécia és hidegtolerancia-változás formájában mértük, a viselkedésváltozást tail suspension teszt (TST) segítségével vizsgáltuk, a kísérlet végén a thymus és mellékvese súlyokat mértük le.

A Tac4<sup>-/-</sup> állatok szignifikánsan több időt töltöttek immobilitással az FST-ben és a vizsgált agyterületeken (amygdala, hypothalamus, ventral lateral septum, bed nucleus, periaqueductális szürkeállomány) szignifikánsan kisebb számú Fos-pozitív sejt volt detektálható a génhíányos állatokban a WT-hoz képest. A krónikus stressz-indukálta mechanikai hiperalgécia szignifikánsan kisebb volt a Tac4<sup>-/-</sup> állatokban, azonban a hidegtolerancia-változásban nem volt különbség a csoportok között. A TST-ben az immobilitás nem változott jelentősen a WT állatokban, míg a Tac4<sup>-/-</sup> csoportban a kezdeti nagyobb immobilitás szignifikánsan csökkent a stressz hatására. A thymus súlya szignifikánsan csökkent, a mellékvesék súlya növekedett a WT-ban a stressz után, míg a Tac4<sup>-/-</sup> egerekben kontroll körülmények között a thymus súly szignifikánsan kisebb a mellékvese súly nagyobb volt, de ez a stressz hatására nem változott jelentősen.

Elsőként igazoltuk, hogy a HK-1 akut és krónikus szorongás és stressz-indukálta fájdalom mechanizmusában fontos szerepet tölt be. A HK-1 receptorális és jelátviteli folyamatainak azonosítása új irányokat nyithat a stressz-kutatásban, valamint a fájdalommal járó pszichoszomatikus betegségek pathomechanizmusának megértésében.

Támogatás: KTIA\_NAP\_13-2014-0022 (MTA-PTE NAP B Fájdalom Kutatócsoport, 888819)

# A KCNQ2- ÉS KCNQ4-SZELEKTÍV M-CSATORNANYITÓ ML213 SZEREPE A NUCLEUS PEDUNCULOPONTINUS KOLINERG NEURONJAIN

**Bordás Csilla,** Kovács Adrienn, Pál Balázs  
*Debreceni Egyetem ÁOK Élettani Intézet, Debrecen*

A nucleus pedunculopontinus (PPN) a retikuláris aktivációs rendszer egyik kolinerg ága, amely az ébrenlét és az alvás különböző fázisainak szabályozásában játszott szerepéről ismert. Ez a mag kolinerg rostokat küld más területek felé, de ő maga is fogad kolinerg rostokat az ellenoldali PPN-ből, a magon belüli kollaterálisokból és a nucleus laterodorsalis tegmentalisból.

Az M-áram egy lassan aktiválódó, nem inaktiválódó kálium áram, mely számos metabotróp receptor (mint pl. a muszkarinos acetil-kolin receptor) aktivációjával szabályozható, melyek aktivációja gátolja az M-áramot.

Az M-áram szerepet játszik az utóhiperpolarizációban, a tüzelési frekvencia adaptációban és a szinapszisok működésében is. Az áramért felelős ioncsatorna KCNQ2-5 alegységekből épül fel a központi idegrendszerben. Korábbi kísérleteinkből kiderült, hogy az M-áram kimutatható a PPN kolinerg sejtjeinek szómáin, de nincs jelen a nem-kolinerg/GABAerg sejteken. A PPN kolinerg sejtjein az M-áram hozzájárul a tüzelési frekvencia adaptációhoz és a közepes utóhiperpolarizáció alakulásához. Képes továbbá modulálni ezen neuronok magas küszöbű membránpotenciál-oszcillációit olyan módon, hogy ha gátoljuk az áramot, az oszcillációk amplitúdója nagymértékben csökken.

Jelen munkában az M-áram funkcióját vizsgáltuk a PPN kolinerg neuronjain. A KCNQ2- és KCNQ4-szelektív csatornanyitó ML213 hatását figyeltük meg az M-áram aktivációjára a PPN kolinerg neuronjain. Kimutattuk, hogy az ML213 hatására az M-áram amplitúdója a kolinerg sejtek 73%-án növekedett. Az M-áram aktivációjának nagysága úgy tűnik, hogy nem függ a kolinerg neuronok morfológiájától (rostrocaudalis elhelyezkedés, dendritek orientációja és száma). Az ML213 hatását vizsgáltuk a tüzelési frekvencia adaptációra és a magas küszöbű oszcillációra is. A tüzelési frekvencia adaptáció jelentősen fokozódott, az akcióspotenciál-sorozatok helyett a depolarizáló lépcső elején 1-2 akciós potenciál alakult ki. A membránpotenciál-oszcillációk frekvenciáját az ML213 növelte, amplitúdóját kis mértékben csökkentette. Továbbá, KCNQ4 knockout egereken végezve feszültség-clamp kísérleteket, a kolinerg sejtek 70%-án nem láttunk M-áramot.

Előkísérletes adataink alapján úgy tűnik, hogy a KCNQ2 és 4 alegységek szerepet játszanak a PPN kolinerg neuronjainak M-áramának jelenlétében. További kísérletes terveink között szerepel a KCNQ alegységek pontos helyének vizsgálata funkcionális és morfológiai megközelítésekkel, illetve az M-áramnak a PPN neuronok által kialakított kolinerg hatások létrejöttében betöltött szerepének megfigyelése.

# ÖSZTROGÉN ELŐKEZELÉS HATÁSA AZ ALFA2-ADRENERG RECEPTOR ALTÍPUSOK MŰKÖDÉSÉRE ÉS EXPRESSZIÓJÁRA KÉSŐI VEMHES PATKÁNY UTERUSZBAN

**Bóta Judit**<sup>1</sup>, Hajagos-Tóth Judit<sup>1</sup>, Ducza Eszter<sup>1</sup>, Borsodi Anna<sup>2</sup>, Samavati Reza<sup>2</sup>,  
Benyhe Sándor<sup>2</sup>, Gáspár Róbert<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Szegedi Tudományegyetem, Gyógyszerésztudományi Kar, Gyógyszerhatástani és Biofarmáciai Intézet, Szeged

<sup>2</sup>Magyar Tudományos Akadémia, Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Biokémiai Intézet, Szeged

**Előzmények, célkitűzés:** Az adrenerg rendszer fontos szerepet játszik az uterusz működésének szabályozásában. Ismert, hogy a szexuálhormonok befolyásolják az adrenerg rendszeren keresztüli simaizom válaszokat. Korábbi kutatások alapján kimutatták, hogy az  $\alpha 2A$ - és  $\alpha 2C$ -adrenerg receptorok (AR) csökkentik, míg az  $\alpha 2B$ -AR növeli a noradrenalin (NA) miometriumban kifejtett kontrakciót fokozó hatását. Ezért célul tűztük ki, hogy megvizsgáljuk, az ösztrogén előkezelés hogyan befolyásolja az  $\alpha 2$ -AR-ok működését és expresszióját vemhes patkány uteruszban.

**Módszerek:** Kísérleteinkben Sprague-Dawley patkányokat kezeltünk ösztrogénnel ( $5\mu\text{g}/\text{kg}/\text{állat}$ ) a vemhesség 18. napjától 4 napig. Izolált szervi kísérletekkel vizsgáltuk a NA által kiváltott vemhes patkány uterusz kontrakciók befolyásolhatóságát altípus szelektív  $\alpha 2$ -AR antagonisták (BRL44408, ARC239, spiroxatrin, spiroxatrin + BRL44408) jelenlétében. A miometriumban expresszálandó  $\alpha 2$ -AR altípusok mRNS és fehérje expressziójának kimutatását RT-PCR és Western blot technikával végeztük. Az  $\alpha 2$ -AR altípusokon keresztül létrejött cAMP szint változását Enzim Immunoassay Kit segítségével, a G-fehérje aktivitás változását  $[35\text{S}]\text{GTP}\gamma\text{S}$  kötési vizsgálattal mértük NA által stimulált szöveteken.

**Eredmények:** Az E2 előkezelés csökkentette az  $\alpha 2A$ - és  $\alpha 2C$ -AR-okon, míg az  $\alpha 2B$ -AR-on keresztül megszüntette a NA kontrakciót fokozó hatását. Mindhárom  $\alpha 2$ -AR altípus mRNS és fehérje expressziója csökkent. E2 előkezelés növelte a miometriális cAMP szintjét BRL 44408, ARC 239 és spiroxatrin jelenlétében, míg nem változott spiroxatrin + BRL 44408 kombináció esetén. E2 előkezelés gátolta NA G-fehérje aktiváló hatását spiroxatrin + BRL 44408 jelenlétében.

**Konklúzió:** Eredményeink alapján megállapítható, hogy az  $\alpha 2$ -AR altípusok expressziója E2 érzékeny. E2 előkezelés  $\alpha 2B$ -AR-on csökkentette a legnagyobb mértékben a NA kontrakciót fokozó hatását, amiből a G-fehérjéhez kapcsolt receptor jelátviteli mechanizmusának megváltozására következtethetünk. Az E2 diszregulációja felelős lehet az  $\alpha 2$ -AR-okon keresztül a koraszülésért és a kontrakciós elégtelenségért.

# A SZEMIKARBAZID-SZENZITÍV AMIN OXIDÁZ (SSAO) GÁTLÓK ANTI-HIPERALGETIKUS HATÁSÁNAK ÉS A TRPA1 IONCSATORNA SZEREPÉNEK VIZSGÁLATA TRAUMÁS NEUROPÁTHIÁS FÁJDALOM ÁLLATMODELLJÉBEN

**Bölcскеi Kata**<sup>1</sup>, Tékus Valéria<sup>1</sup>, Scheich Bálint<sup>1</sup>, Horváth Ádám<sup>1</sup>, Czompa Andrea<sup>2</sup>, Ludmerczki Róbert<sup>2</sup>, Mátyus Péter<sup>2</sup>, Helyes Zsuzsanna<sup>3</sup>

<sup>1</sup>PTE Általános Orvostudományi Kar, Farmakológiai Farmakoterápiai Intézet, Pécs

<sup>2</sup>SE Gyógyszerésztudományi Kar, Szerves Vegytani Intézet, Budapest

<sup>3</sup>MTA-PTE NAP B Krónikus Fájdalom Kutatócsoport, Pécs

**Bevezetés:** A Tranziens Receptor Potenciál Ankyrin 1 (TRPA1) a polimodális nociceptorokon expresszálandó nem-szelektív kationcsatorna, amely egyike a kulcsfontosságú nociceptív transzducer strukturáknak. Aktiválható többek között fájdalmas hideg ingerek, irritánsok, mint például a mustárolaj, és számos reaktív aldehid vegyület által. Utóbbiak a szervezetben endogén folyamatok során is keletkezhetnek, például a széles körben expresszálandó szemikarbazid-szenzitív amin oxidáz (SSAO) termékeiként. Korábbi eredmények szerint az SSAO enzim gátlói gyulladáscsökkentő hatásúnak bizonyultak. Jelen vizsgálatunk célja volt az SSAO gátlók antihiperalgetikus hatásának vizsgálata traumás mononeuropátia modellben, és a TRPA1 szerepének felderítése céljából a hatás összehasonlítása vad típusú és génhányos egerek között.

**Módszerek:** Hím Wistar patkányok illetve vad típusú (TRPA1+/+) és TRPA1 génhányos (TRPA1-/-) egerek mechanonociceptív küszöbét dinamikus plantáris eszteziométerrel mértük. Az egerek esetében a hátsó láb hideg fájdalomküszöbét is meghatároztuk, 0 °C-os vízbemerítéssel. A neuropátia kiváltásához altatásban a n. ischiadicust egyoldalon részlegesen lekötöttük. Egy héttel a lézió után az állatokat az SSAO gátló SZV-1287 vagy SZV-1911 kódjelű vegyületekkel kezeltük (20 mg/kg i.p.), majd a kezelés után 15 perccel mértük a nociceptív küszöböket.

**Eredmények:** A mechanonociceptív küszöbök 40-50%-kal csökkentek a műtét előtti értékekhez képest patkányokon és egereken egyaránt. Az SZV-1287 vagy SZV-1911 kezelés szignifikánsan csökkentette a patkányok mechanikai hiperalgéziáját 31%, illetve 29%-kal. A vad típusú egerekben hasonló mértékű antihiperalgéziás hatást mutattunk ki, amely azonban a TRPA1-/- egereken hiányzott. A hideg hiperalgéziát a két vizsgált szer nem befolyásolta, viszont a küszöbcsökkenés a TRPA1-/- egereken mindvégig szignifikánsan kisebb mértékű volt a vad típusúakhoz képest.

**Következtetések:** Eredményeink arra utalnak, hogy az SSAO termékei részt vehetnek a traumás neuropathiás mechanikai hiperalgézia kialakulásában, a TRPA1 aktivációja/szenzitizációja által. Az SSAO gátlása új lehetőség lehet a neuropathiás fájdalomra ható gyógyszerek fejlesztésére.

**Támogatás:** Nemzeti Agykutató Program B (MTA-PTE NAP B Krónikus Fájdalom Kutatócsoport, KTIA\_NAP\_13-2014-0022, kutatóhely: 888819)

# MEMANTIN ÉS PHA543613 KOMBINÁLT HATÁSÁNAK VIZSGÁLATA SZKOPOLAMINNAL INDUKÁLT PATKÁNY DEMENCIA MODELLBEN

**Bruszt Nóra**, Bali Zsolt Kristóf, Szántó Brigitta, Munz Clara, Nagy Lili Veronika, Csurgyók Roland, Balikó Viktória, Tompa Márton, Hernádi István  
*Pécsi Tudományegyetem Természettudományi Kar*

Napjainkban, az életkor előrehaladtával egyre gyakoribbá váló neurodegeneratív betegségek (pl. az Alzheimer-kór) súlyos népegészségügyi problémát jelentenek világszerte. Jelenleg négyféle kolinészteráz inhibitor vegyület és az NMDA receptor (NMDAR) antagonistá memantin áll rendelkezésre az Alzheimer-kór kezelésére. Egyre nagyobb érdeklődés övezi a kombinált terápiákat a farmakológiai terápiák hatásosságának növelése érdekében. Egyes preklinikai kutatások a memantin és kolinészteráz inhibitorok különböző állatkísérletes modellekben való kombinált alkalmazásáról számoltak be, ami jelentősen hatékonyabbnak bizonyult, mint a monoterápiák. Az NMDAR-ok mellett az  $\alpha 7$  nikotinos acetilkolin receptorok ( $\alpha 7$ -nAChR) is fontos szerepet játszanak az Alzheimer-kór patofiziológiájában, ezért a szelektív  $\alpha 7$ -nAChR agonisták ígéretes gyógyszerjelölt vegyületek lehetnek.

Kísérleteink során a memantin és az  $\alpha 7$ -nAChR agonista PHA543613 (PHA) különböző dózisainak kombinált hatását vizsgáltuk patkányok térbeli munkamemóriájára. Azt vizsgáltuk, hogy az anyagok együttes alkalmazása során a teljesítmény erőteljesebb javulását tudjuk-e elérni, mint az anyagok önmagában való alkalmazása során, valamint a leghatékonyabb dóziskombinációt kerestük. Vizsgálatainkat hím Wistar (W) és Long Evans (LE) patkányokkal végeztük, szkopolaminnal (0,5 mg/ttkg) indukált tranziens amnézia modellben. A térbeli munkamemória tesztelésére spontán alternációs paradigmát alkalmaztunk T-labirintusban.

Wistar patkányokkal végzett első kísérletünkben a memantin (0,3 mg/ttkg) és a PHA (0,3 mg/ttkg) is hatástalannak bizonyult egyedüli alkalmazásuk során, kombinált alkalmazásuk viszont additív jellegű hatásnak köszönhetően visszafordította a szkopolamin amnesztikus hatását. Meglepő módon alacsonyabb dózisban (0,1 mg/ttkg) a memantin önmagában is javította a munkamemóriát, PHA-val együtt adva azonban nem tapasztaltunk szuperadditív hatást. Ugyanezekben a dózisokban a memantin és PHA kombinációja csak tendenciaszerűen javította a LE patkányok memória-teljesítményét. Long Evans patkányok esetén a memantin 0,03 mg/ttkg-os dózisban bizonyult önmagában is hatásosnak, amit azonban a PHA együttes beadása erőteljesen blokkolt, így a kombinált kezelés nem okozott szignifikáns teljesítményjavulást (szubadditív összefüggés).

Eredményeink arra utalnak, hogy bonyolult interakciók jöhetnek létre az  $\alpha 7$ -nAChR agonisták és a memantin között. Amennyiben kevésbé hatékony dózisban alkalmazzuk a memantint, az  $\alpha 7$ -nAChR agonisták additív módon erősítik a hatását. Az önmagában is hatékony memantin kezelést ugyanakkor az  $\alpha 7$ -nAChR agonisták negatívan befolyásolják. A memantin és az  $\alpha 7$ -nAChR agonista dózisfüggő kölcsönhatása feltételezhetően a memantin eltérő receptoraffinitásaival (NMDAR ill.  $\alpha 7$ -nAChR) magyarázható: más-más receptorokon való kötődése eltérő módon befolyásolhatja a memóriaműködéseket és más farmakonokkal való interakcióját, a neurofiziológiai mechanizmusok feltárásához azonban további kísérletekre van szükség.

# DINAMIKUS SZTEREOTESZTEK ÉRTÉKELÉSE AZ AMBLYOPIA SZŰRÉSÉBEN – EGY KLINIKAI VIZSGÁLAT EREDMÉNYEI

**Budai Anna<sup>1</sup>**, Czigler András<sup>1</sup>, Juhász Petra<sup>1</sup>, Nemes Vanda<sup>1</sup>, Pusztai Ágota<sup>2</sup>, Jandó Gábor<sup>1</sup>

<sup>1</sup>PTE ÁOK Élettani Intézet

<sup>2</sup>PTE KK Szemészeti Klinika

**Bevezetés:** Az amblyopia, azaz tompalátás és az arra hajlamosító szemészeti rendellenességek előfordulása hazánkban 6-12%-ra tehető. A fel nem ismert, illetve kezeletlen gyermekek irreverzibilis látáskárosodást szenvedhetnek. Megfelelő szűréssel ez az állapot még kisgyermekkorban felismerhető, és időben elkezdett kezeléssel a látásfunkció megóvható. A térlátás hiányából következtethetünk az amblyopia meglétére, vagy a potenciálisan amblyopiához vezető szemészeti rendellenességekre. A térlátás vizsgálatára jelenleg nincs a klinikai gyakorlatban használatos modern és megbízható módszer. Jelen kutatásunk célja egy, eddig csak elméleti kutatóintézetekben használt dinamikus random pont sztereoteszt (továbbiakban DRDS) tesztelése és értékelése.

**Alanyok és módszerek:** A Pécsi Tudományegyetem Klinikai Központ Szemészeti Klinikájával együttműködve eddig összesen 122 gyermek vett részt a vizsgálatban, életkoruk 4-13 év közé esett. A gyermekszemészeti szakrendelésen megjelent egészséges és szemészeti diagnózissal rendelkező (amblyopia, strabismus, hypermetropia, egyéb törési rendellenességek) gyermekeket szemészeti szakvizsgálat után az általunk fejlesztett DRDS-el is megvizsgáltuk. A táblagépen vetített stimulust a gyermekek 20-30 cm távolságból, vörös-zöld szűrőszemüvegen keresztül nézték, összesen 18, véletlenszerű orientációjú E betűt. Ezek között volt korrelogram, statikus, majd pedig dinamikus stimulus, különböző pontsűrűséggel és diszparitással. Ezen kívül minden gyermeknél elvégeztük a Lang tesztet, és egy tabletre adaptált vízus vizsgálatot.

**Eredmények:** A DRDS szenzitivitása 100%, specificitása 52.7% volt az amblyopiára nézve; ezzel szemben a klinikumban arany standardként használt Lang teszt 40%-os szenzitivitást és 88.4%-os specificitást adott ugyanerre a betegségre. Ezt követően megnéztük a DRDS szenzitivitását (79.2%) és specificitását (66.2%) együttesen az amblyopiára és a potenciálisan ehhez vezető betegségekre is. Eredményeinket itt is összehasonlítottuk a Lang teszt szenzitivitásával (33.3%) és specificitásával (98.6%). Ezen teszt értékelése meglehetősen szubjektív. Mi a klinikán használatos értékelést vettük alapul.

**Diszkusszió:** A fenti eredmények azt mutatják, hogy a DRDS egy érzékeny és megbízható teszt lehet nemcsak az amblyopia, hanem az amblyopiához vezető rendellenességek szűrésére is. További céljaink között szerepel egy nemzetközi együttműködés keretében még több gyermek vizsgálata, illetve egy részletes szűrőprotokoll kidolgozása.

**Támogatás:** Nemzeti Agykutatási Program „KTIA\_NAP\_13120130001” és OTKA K108747.

# VEGETATÍV DISZTÓNIA A PUPILLOMOTOROS FUNKCIÓBAN EGY KOMPLEX SZKIZOFRÉNIA PATKÁNYMODELLBEN

**Büki Alexandra**, Kékesi Gabriella, Benedek György, Horváth Gyöngyi  
*Szegedi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Élettani Intézet, Szeged*

**Bevezetés:** Szkizofréniában szenvedő betegekben gyakran felborul a szimpatikus/paraszimpatikus idegrendszer aktivitásának egyensúlya, amely a pupillomotoros funkciókban is megmutatkozó elváltozásokat okoz. Korábbi kísérleteinkben kimutattuk, hogy az új, komplex, krónikus szkizofrénia patkány alfajta egyedei nemcsak a fájdalomérzékenységekben, a szenzoros kapuzásban, a kognitív funkciókban és a motoros aktivitásban mutatnak eltérést, de az elsősorban a vegetatív idegrendszer szabályozása alatt álló hőszabályozásban is. Jelen kísérletünk célja a pupillomotoros funkciók vizsgálata, esetleges eltéréseinek meghatározása állatmodellünkben.

**Módszerek:** Kísérletünkbe az új alfajta 23. generációját (n=39) és 15 kezelés nélküli naiv Wistar hím állatot vontunk be. A szelektíven szaporított állatokat 3 hetesen elválasztottuk, 4 hétig szociálisan elkülönítettük és ketaminnal kezeltük. A pupilla fényreflexet intraperitonális diazepam injekcióval (2,5 mg/kg) szedált, sötétbe szoktatott (10 perc) állatokon végeztük. A direkt pupillareflexet módosított digitális fényképezőgéppel (Nikon D7000) rögzítettük infravörös megvilágítás mellett. A pupillareflexet intenzív, 600 ms-os fényingerrel váltottuk ki, amellyel egy időben infravörös jelzőfényt alkalmaztunk az állat bal szemébe. Az offline videofelvételeken videó elemző program segítségével (Tracker videóelemző és modellkészítő program, 4.91, comPADRE) meghatároztuk az írisz és a pupilla hányadosát (relatív pupilla méret) minden képkockában, és így követtük annak időbeli változását. A következő paramétereket értékeltük: kezdeti és minimális pupilla átmérő; az összehúzódás latenciája, mértéke, időtartama, sebessége és a pupilla redilatáció mértéke 5 másodperccel a minimális érték elérése után.

**Eredmények:** A új alfajta állatainak kezdeti és minimális pupilla átmérője szignifikánsan nagyobb volt a kontroll állatokéhoz képest. Az összehúzódás időtartama az új alfajta állataiban szignifikánsan hosszabb, és ennek megfelelően az összehúzódás sebessége szignifikánsan kisebb volt. Az összehúzódás latenciájában, illetve az összehúzódás és a redilatáció mértékében nem találtunk eltérést a csoportok között.

**Összefoglalás:** Az új alfajta állatai számos változást mutattak a pupillomotoros működésben, a statikus és a dinamikus paraméterekben is. Mivel a pupilla vegetatív tónusában a paraszimpatikus hatás dominál, és a fényreflex is ezen aktivitás növekedésének tulajdonítható, eredményeink a paraszimpatikus idegrendszer csökkent működésére utalnak, de nem zárható ki a fokozott szimpatikus idegrendszeri aktivitás szerepe sem. Modellünk ennek megfelelően alkalmas lehet a szkizofrénia nemcsak magatartásbeli, de vegetatív tüneteinek szimulálására is.

**A munka támogatója:** OTKA (K83810) és TÁMOP-4.2.2.B-15/1/KONV-2015-0006.

# AZ ISOPROTERENOL ÉS AUTOFÁGIA KAPCSOLATA

**Czeglédi András, Tósaki Ágnes, Lekli István, Tósaki Árpád**

*Debreceni Egyetem Gyógyszerésztudományi Kar Gyógyszerhatástani Tanszék*

Az isoproterenol (ISO), egy  $\beta$ -adrenerg receptor agonista, szívfrekvenciával összefüggő hatását tanulmányoztuk az autofágiás mechanizmusok szemszögéből izolált „dolgozó” patkányszívekben. Az ISO dóziszfüggő módon kamratchycardiát okoz. Kísérleteink folyamán megállapítottuk, hogy az ISO-indukálta nekrotikus és apoptotikus folyamatok mellett, a sejtelhaláshoz autofágiás folyamatok is hozzájárulnak. Kísérleteinkben azt vizsgáltuk, hogy az ISO-indukálta szívfrekvencia emelkedés miként befolyásolja a (i) szívfunkciót (szívfrekvencia, aorta kiáramlás, aorta nyomás, koronária átáramlás) összefüggésben az (ii) autofágiás markerek expressziójával és szignáltranszdukciójával összefüggésben izolált dolgozó szívpreparátumon, olyan körülmények között, amikor a „tisztá” szívizomra gyakorolt hatásokat vizsgálhatjuk, megfosztva a szívizmot az idegrendszer, a hormonok és a vér alakos elemeinek az interakciójától.

Izolált „dolgozó” patkányszíveket oxigenizált Krebs-Henseleit oldattal perfundáltunk, majd 10 percen át 0,1 mmol/perc ISO-t infundáltunk az aortakanül kivezető oldalán keresztül. Tíz perces ISO infúziót követően, a szívfunkciókat 120 percen át regisztráltuk, majd a kamraizomzatból szövetmintákat vettünk autofágiás markerek expressziójának meghatározása céljából. A szívfrekvenciát az ISO 35 %-40 %-al emelte ( $p < 0.05$ ), amely az aorta kiáramlás 75 %-os ( $p < 0.05$ ) és az aortanyomás 60 %-os ( $p < 0.05$ ) csökkenéséhez vezetett, míg a koronária átáramlás kismértékben emelkedett. Az ISO hatására bekövetkező szívfunkciós paraméterek változása összefüggést mutatott az autofágiás markerek expressziójával.

Az autofágiás markerek közül az Atg 5-12 komplex és a Beclin-1 expressziója megemelkedett, jelezve azt, hogy az autofágiás folyamatok aktiválódnak. Az autofágia mértéke és funkcionalitása, továbbá esetleges „hasznos-sága”, in vitro körülmények között további vizsgálatokat kíván. Támogatás: OTKA PD 111794, K 104017.



# TAKARMÁNYKORLÁTOZÁS HATÁSA A HÁZITYÚK INZULIN RECEPTORÁNAK EXPRESSZIÓJÁRA

**Czeglédi Levente**<sup>1</sup>, Simon Ádám<sup>1</sup>, Mészár Zoltán<sup>2</sup>, Oláh János<sup>1</sup>, Németh József<sup>3</sup>, Szilvássy Zoltán<sup>3</sup>, Juhász Béla<sup>3</sup>, Komlósi István<sup>1</sup>, Jávor András<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Debreceni Egyetem MÉK Állattudományi, Biotechnológiai és Természetvédelmi Intézet

<sup>2</sup>Debreceni Egyetem ÁOK Anatómiai, Szövet- és Fejlődéstani Intézet

<sup>3</sup>Debreceni Egyetem ÁOK Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet

A takarmányfelvétel szabályozása meghatározó tényező az állattenyésztésben, mivel a felvett takarmány mennyisége, emészthetősége és a fajta genetikai képességei együttesen határozzák meg az állatok teljesítményét. A takarmányfelvételt fizikai és kémiai tényezők szabályozzák, melynek központja a központi idegrendszerben található hipotalamusz. A takarmánymegvonás, illetve a takarmánykorlátozás jelentős élettani változásokat vált ki az állatokban. A vércukorszint csökken, beindul a glükagon által közvetített glükogénolízis, a szövetek a fokozott inzulinreceptor kifejeződés következtében inzulin érzékennyé válnak. A baromfi fajok glükóz homeosztázisa eltér az emlősökétől. Ismert, hogy inzulin rezisztensek, éhezéskor plazma inzulinszintjük alig változik, valamint éhezési glükózsintjük kétszer nagyobb, mint az emberé.

Kísérletünket tojó típusú tyúkokkal végeztük. Egy hét adaptációs időszak után, a madarak egy csoportját (n=8) ad libitum takarmányoztuk, míg a másik csoport (n=8) napi adagját, 5 napon keresztül, 40%-al lecsökkentettük. Az abrak legnagyobb részét kukoricát és fehérje-kiegészítést tartalmazott, beltartalma a tojók táplálóanyag-szükségleti ajánlását követte (11,7 MJ/kg sz.a. metabolizálható energia és 17,5% nyersfehérje). Az állatok levágása után az inzulinreceptor génkifejeződését meghatároztuk a központi idegrendszerben (hipotalamusz), a mirigyes gyomorban és az éhbélben. Az inzulin receptort kódoló gén relatív génexpressziós változásait RT-PCR-al mértük, az inzulin receptor relatív fehérje szintjeit western blot módszerrel kvantitáltuk.

Eredményeink szerint a takarmánykorlátozás sem a plazma glükóz, sem az inzulin koncentrációját nem befolyásolta. Az inzulinreceptort kódoló gén átírása szignifikánsan, 40%-al, illetve 80%-al felülszabályozódott a hipotalamuszban, valamint az éhbélben. A mirigyes gyomorban nem találtunk génexpressziós változást a takarmányozási programok között. Az inzulinreceptor relatív szintjei összhangban vannak az mRNS kvantitálás eredményeivel, miszerint a takarmánykorlátozás nem befolyásolta az inzulinreceptor expresszióját a mirigyes gyomorban, azonban a lecsökkentett takarmányadag hatására 96%-al nagyobb kifejeződést mutatott az éhbélben.

A tanulmány az AGR-PIAC-13-1-2013-0008, a Debreceni Egyetem (RH/885/2013) és a TÁMOP-4.2.2.D-15/1KONV-2015-0016 projektek támogatásával, az Új Széchenyi Terv keretében, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósult meg.

# A SEJTADHÉZIÓS MOLEKULÁK (CLAUDIN-12) SZEREPE A MIOKARDIUMBAN

**Czompa Attila<sup>1</sup>, Lekli István<sup>1</sup>, Ingolf Blasig<sup>2</sup>, Rosel Blasig<sup>2</sup>, Tósaki Árpád<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Debreceni Egyetem, Gyógyszerésztudományi Kar, Gyógyszerhatástani Tanszék, Debrecen*

<sup>2</sup>*Leibniz-Institut für Molekulare Pharmakologie Berlin-Buch, Germany*

A sejtadhéziós molekulák közé tartozó claudin (CLDN) fehérje család komponensei fontos szerepet töltenek be a sejtközi kapcsolat létrehozásában és szabályozásában. A CLDN fehérjék négy transzmembrán doménnel rendelkező molekulák, melyeknek máig 27 tagját ismerjük, expressziós mintázatuk pedig nagyfokú szövetspecifitást mutat. Célunk volt feltárni a szívben jelen lévő CLDN fehérjék tagjait, továbbá szerepüket megvizsgálni a miokardiumban.

A CLDN fehérjék a sejtadhéziós molekulák gerincét adják, fontos szerepük van a tight junction fehérjék közötti kapcsolat szabályozásában, paracelluláris kationcsatornák formálásában. A CLDN-5-ről leírták, hogy hiánya felelőssé tehető a kardiomiopátia kialakulásában egér és humán szívben. Kísérleteink előzményeként PCR technikával feltártuk a teljes szívben és a miokardiumban jelenlévő sejtadhéziós molekulák körét, valamint immunhisztokémia segítségével meghatároztuk néhány miokardiális claudin fehérje lokalizációját. Így került figyelmünk középpontjába a CLDN-12 fehérje.

Kísérleteink során feltérképeztük a teljes szívben és a miokardiumban fellelhető CLDN fehérjéket. ~7 CLDN proteineről mondhatjuk el, hogy miokardiális eredetűek, melyek közül a CLDN-12 nagy mennyiségben expresszálódó fehérje, lokalizációját tekintve a laterális membránhoz kötött és a citoszolban is jelen van. Claudin-12 fehérjét nem expresszáló egererekkel folytatva vizsgálatainkat azt találtuk, hogy a szabályozó funkció elemei között állhat az, hogy a CLDN-12 más sejtadhéziós molekulák expresszióját befolyásolja, mint például a CLDN-3, 5 és 25, valamint az occludin. Claudin-12 knock out (KO) egerekben mindenmellett megváltozott EKG hullámot regisztráltunk

Eddigi eredményeink alapján valószínűsítjük, hogy specifikusan a miokardiumban expresszálódó CLDN-5, 12, 15, 25 fehérjék fontos szerepet tölthetnek be a szívfunkciós mechanizmusokban, ezzel új kísérleti irányvonalat nyitnak, amely a kardiovaszkuláris megbetegedések patomechanizmusainak feltérképezésében nagy segítséget nyújthat, esetlegesen új terápiás lehetőségek kidolgozásához segíthet hozzá. Kísérleteinket a CLDN-12 fehérje miokardiális funkcióinak további feltérképezésével kívánjuk folytatni izolált dolgozó egérszív és in vivo állatkísérletekben.

Támogatások: OTKA PD 111794, K 104017

# THE EFFECT OF KP-13 ON ANXIOUS BEHAVIOR IN WISTAR RATS

**Csabafi Krisztina**, Filkor Kata, Szakács Júlia, Bagosi Zsolt, Ibos Katalin,  
Garay David, Szabó Gyula  
*Department of Pathophysiology, Faculty of Medicine, University of Szeged, Hungary*

Kisspeptin, a key regulator of the reproductive axis, in our previous study induced anxiety-like behavior in rats and evoked an increase in corticosterone secretion. In the present experiment we investigated the possible mechanism of kisspeptin-13's (KP-13), an endogenous derivative of kisspeptin, effects on anxious behavior in rats.

Adult male Wistar rats were injected intracerebroventricularly with different doses of KP-13 and 30 min, 8 h or 24 h later placed in an open-field arena, in which the locomotor and anxious behavior of the animals were observed by a computerized system. To evaluate if CRH or AVP, well-known mediators of the stress response, are responsible for the mediation of KP-13's action in a second set of experiments CRH and AVP receptor antagonist pretreatment was applied. To further categorize the mechanism of KP-13's action we measured CRH and AVP gene expression changes in brain regions associated with the organization of the stress response such as hypothalamus, amygdala, hippocampus and ACC by RT-PCR. Furthermore, amygdala slices were prepared and after incubation with KP-13 the GABA neurotransmitter release was measured under electric stimulation in a superfusion system.

Our results showed that KP-13 did not alter horizontal locomotor activity, however it significantly decreased vertical locomotion, the distance travelled and time spent in the center of the arena 30 min after peptide treatment, which effect was antagonized by the CRH and AVP receptor blockers. In case of the behavioral assessment after 8 h and 24 h the opposite was observed, namely an increase in central locomotion. KP-13 also altered the gene expression of both CRH and AVP in the brain regions investigated: reduced relative gene expression of CRH was observed in the amygdala, ACC and hypothalamus, an increase in the hippocampus. AVP gene expression was found to be downregulated in ACC and hippocampus, upregulated in amygdala and hypothalamus. Furthermore, KP-13 evoked a marked increase in GABA release in the amygdala slices.

In conclusion, KP-13 seem to induce anxiety within 30 min of peptide administration, possibly through the central release of CRH and AVP. However, after 8 h KP-13 showed an anxiolytic effect in the open field further supported by the gene expression results that showed a dysregulation in the CRH and AVP system in the CNS. In addition, KP-13 seems to directly stimulate GABA release in the amygdala. Based on our results together with kisspeptin's intracellular signaling pathways it is possible that KP-13 by inducing an intracellular calcium ion accumulation in relevant brain regions triggers anxiety and through genomic changes it exerts anxiolytic effects, however, further studies are needed to investigate the exact mechanism of action.

This work was supported by the Hungarian Brain Research Program-KTIA\_13\_NAP-A- III/8.

# A KRÓNIKUS STRESSZ HATÁSA A GÁTLÓ, PERISZOMATIKUS SZINAPSZISOKRA A HIPPOKAMPUSZ CA1 RÉGIÓJÁBAN. EGY ELEKTRONMIKROSKÓPOS VIZSGÁLAT

**Csabai Dávid<sup>1</sup>**, Seress László<sup>2</sup>, Varga Zsófia<sup>1</sup>, Miseta Attila<sup>4</sup>, Ove Wiborg<sup>3</sup>, Czéh Boldizsár<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup>MTA - PTE, Stressz Neurobiológia Kutatócsoport, Szentágothai János Kutatóközpont, Pécs

<sup>2</sup>Központi Elektronmikroszkópos Laboratórium, Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Pécs

<sup>3</sup>Translational Neuropsychiatry Unit, Department of Clinical Medicine, Aarhus University, Risskov, Denmark

<sup>4</sup>Laboratóriumi Medicina Intézet, Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Pécs

Laboratóriumunk korábbi vizsgálatai szignifikáns csökkenést mutattak ki a parvalbumin-pozitív (PV+) gátló neuronok számában krónikus stressznek kitett állatok hippocampusában (Czéh et al., 2005, 2015). E megfigyelésünk fénymikroszkóppal végzett sztereológias sejtszámolásból származik. Mindmáig nem ismert azonban, hogy a PV+ neuronok számbeli csökkenésének oka vajon valódi sejtpusztulás vagy a neuronok PV tartalmának csökkenése. Jelen tanulmányunkban CA1 piramissejtekre vetülő axo-szomatikus szinapszisokat számoltuk kontroll és stresszelt patkányokban. Az általunk használt krónikus enyhe stressz modell az egyik legjobban vizsgált depressziós állatmodell. Az állatokat kilenc héten át napi rendszerességgel stressznek tettük ki. A kísérlet végén az állatokat paraformaldehidet (4%) és glutáraldehidet (0.2%) tartalmazó oldattal perfundáltuk majd az agyakat Vibratómmal 80 µm vastagságú szeletekre metsztük. A PV+ sejteket immuncitokémiai festéssel jelöltük. A metszeteket rutin módszerrel készítettük elő a transzmissziós elektronmikroszkópos (TEM) vizsgálatra. Az Ammon-szarv CA1 régiójából kimetszett ultravékony metszeteket egylyukú réz gridekre gyűjtöttük. JEOL 1200 EX-II elektronmikroszkóppal meghatároztuk a piramissejteken található axo-szomatikus terminálisok számát. Egyúttal megmértük a számához kapcsolt terminálisok membránhosszát és a szinaptikus denzitások hosszát is. Eredményeink alapján sem számbeli, sem morfológiai elváltozás nem tapasztalható a stresszelt állatok axo-szomatikus szinaptikus jellemzőiben. Mindezek alapján elmondhatjuk, hogy a fénymikroszkópos preparátumokban megfigyelt PV+ neuronok számbeli csökkenése valószínűleg az immunjelölés csökkenését jelenti, és nem jár együtt a periszomatikus terminálisok elvesztésével.

Supported by the Hungarian Brain Research Program (KTIA\_NAP\_13-2-2014-0019) and by the Lundbeck Foundation (R83-A7631)

## Referenciák:

Czeh B, Simon M, van der Hart MG, Schmelting B, Hesselink MB, Fuchs E. Chronic stress decreases the number of parvalbumin-immunoreactive interneurons in the hippocampus: prevention by treatment with a substance P receptor (NK1) antagonist. *Neuropsychopharmacology* 2005; 30(1):67-79.

Czéh B, Varga ZK, Henningsen K, Kovács GL, Miseta A, Wiborg O. Chronic stress reduces the number of GABAergic interneurons in the adult rat hippocampus, dorsal-ventral and region-specific differences. *Hippocampus* 2015; 25(3):393-405.

# A CORPUS PINEALE NEMCSAK HORMONALIS, DE IDEGI ÚTON IS BEAVATKOZIK A RETINA MŰKÖDÉSÉBE EMLŐSÖKBEN. EGY ÚJ CENTRIFUGÁLIS VIZUALIS RENDSZER

**Csáki Ágnes<sup>1</sup>, Vereczkei Viktória<sup>1</sup>, Lukács Ákos<sup>1</sup>, Boldogkői Zsolt<sup>2</sup>, Köves Katalin<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Semmelweis Egyetem Anatómiai Szövet- és Fejlődéstani Intézet, Budapest*

<sup>2</sup>*Szegedi Tudományegyetem Orvosi Biológiai Intézet, Szeged*

A retina és a központi idegrendszer között mind retinofugalis (a klasszikus vizualis és a 40 éve felismert retinohypothalamikus pálya), mind retinopetalis kapcsolatot (centrifugalis vizualis rendszer) leírtak. Több mint 100 évvel ezelőtt Ramon Y Cajal és Dogiel, akiknek neve jól ismert a neuroanatómusok között, leírták a retinában végződő és a központi idegrendszerből származó rostok végződési mintázatát. Azonban ezeknek a rostoknak az eredetét nem ismerték. Az elmúlt több mint száz évben nagyon sok adat gyűlt össze ezeknek a rostoknak az eredetéről nemcsak alacsonyabb gerincesekben, de emlősökben is. Az elmúlt századvégi vizsgálatok felderítették, hogy emlősökben a következő idegi struktúrák küldenek rostokat a retinához: formatio reticularis és raphe magok, colliculus superior, pretectum, középagyi szürke állomány, n. arcuatus és a lateralis hypothalamus. Laboratóriumunkban patkány corpus vitreumába adott biotynált dextran amin tracer 10 napos túlélés után megjelent a gyrus dentatusban, a hippocampus CA1 és CA3 regiojában, a tuberculum olfactoriumban, a habenulában, az indusium griseumában, a n. supraopticusban és a paraventricularisban. A gyrus dentatus felől jelölt rostok a retinában az amacrin sejtekig követhetők. Felnőtt patkányokban retrograd virus tracer használatával sem találtunk jelölést a corpus pinealeban. Azonban aranyhörcsögben zöld fluoreszcens proteinnel (GFP) jelölt virus a corpus vitreumba adva 4 nap alatt elérte a corpus pinealét, ahol idegsejteket jelölt. A következő kísérletben anterograd irányba is terjedő virust adtunk be a corpus pinealeba, és 5 nap múlva a virus megjelent a retinában, ahol számos sejtet jelölt oszlopos elrendeződésben. Vizsgáltuk, hogy patkányban miért nincs idegsejt a corpus pinealeban. Feltételeztük, hogy oka fiziológias apoptózis lehet. Patkányban az idegrendszer fejlődésében kritikus időszak az első két-három hét, ezért 8, 13 és 20 napos patkányoknak adtunk retrograd virust a corpus vitreumba. A virus már két napos túlélés után megjelent a corpus pinealéban, ahol különböző számú sejtet jelölt.

# A SZÍVFREKVENCIA FÜGGŐ CORONARIAÁRAMLÁS NÖVEKEDÉS LÉTREJÖTTÉBEN SZEREPET JÁTSZIK A BAL KAMRAI NYOMÁS MECHANIKAI HATÁSA LANGENDORFF-PERFUNDÁLT, IZOLÁLT TENGERIMALAC SZÍVBEN

Csavajda Ádám<sup>1</sup>, Takács Hedvig<sup>1</sup>, Kui Péter<sup>2</sup>, Csertő Dóra<sup>1</sup>, Forster Tamás<sup>1</sup>, Varró András<sup>2</sup>, Farkas Attila<sup>1</sup>, Farkas András<sup>1</sup>

<sup>1</sup>SZTE, ÁOK, II. sz. Belgyógyászati Klinika és Kardiológiai Központ, Szeged

<sup>2</sup>SZTE, ÁOK, Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet, Szeged

**Bevezetés:** Ismert, hogy a szívfrekvencia fokozódásával coronariaáramlás növekedés jön létre, melynek hátterében vegetatív idegrendszeri és endogén mediátorok által kifejtett coronaria dilatáció áll. A Langendorff-perfundált izolált szív gyakran használt kardiovaszkuláris experimentális modell, fiziológiájának ismerete fontos. Korábban igazoltuk, hogy izolált, Langendorff-perfundált szívben a bal kamra a közhiedelemmel ellentétben nem üres, hanem feltöltve dobog. Jelen munkánkban megvizsgáltuk, hogy Langendorff-perfundált szívben a frekvencia-függő coronariaáramlás-növekedés létrejöttében szerepet játszik-e a bal kamrai nyomás coronariákra kifejtett mechanikai hatása.

**Anyag és módszer:** Langendorff szerint állandó oszlopnnyomássalperfundált, izolált tengerimalac szívben regisztráltuk az EKG-t, a bal kamrai nyomást (LVP-t), az aortában mért perfúziós oszlopnnyomást (AP-t), és a 'real-time' módon mért aortaáramlást. Minden 30 másodperces időszakban meghatároztuk a coronariaáramlást és a szívfrekvenciát, és szívciklusonként meghatároztuk azon időszak hosszát, amikor a coronariák perfundálva vannak (perfundált időszak: LVP<AP), és amikor a coronariák nincsenek perfundálva (nem perfundált időszak: LVP>AP). A szívfrekvenciák alapján a szíveket egy alacsony (<235 ütés/perc; n=11) és egy magas (>235 ütés/perc; n=10) szívfrekvenciájú csoportba soroltuk.

**Eredmények:** A magas szívfrekvenciájú csoportban szignifikánsan magasabb volt a szívfrekvencia és coronariaáramlás, mint az alacsony szívfrekvenciájú csoportban (szívfrekvencia: 258±22 vs. 222±10 ütés/perc, p<0,05; coronariaáramlás: 8,7±1,9 vs. 6,8±1,8 ml/perc/g, p<0,05). Mindezek mellett, a magas szívfrekvenciájú csoportban nagyobb volt a perfundált időszak per nem perfundált időszak arány az alacsony frekvenciájú csoporthoz képest (6,90±3,11 vs. 4,61±1,25; p=0,0508).

**Következtetés:** Eredményeink szerint Langendorff-perfundált szívben a szívfrekvencia-függő coronariaáramlás növekedés létrejöttében vegetatív idegrendszertől és endogén mediátoroktól függetlenül szerepet játszik a bal kamrai nyomás coronariákra kifejtett mechanikai hatása is. E hatás következtében növekszik a perfundált időszakper nem perfundált időszak arány a szívfrekvencia növekedésekor.

# MIKROVASZKULÁRIS ENDOTÉLFUNKCIÓ ÖRÖKLŐDÉSÉNEK VIZSGÁLATA IKERPÁROKBAN

**Cseh Domonkos**<sup>1</sup>, Sárközi Adrienn<sup>1</sup>, Pintér Alexandra<sup>2</sup>, Littvay Levente<sup>3</sup>, Emanuela Medda<sup>4</sup>, Corrado Fagnani<sup>4</sup>, Filippo Farina<sup>5</sup>, Claudio Baracchini<sup>5</sup>, Giorgio Meneghetti<sup>5</sup>, Giacomo Pucci<sup>6</sup>, Giuseppe Schillaci<sup>6</sup>, Maria Antonietta Stazi<sup>4</sup>, Tárnoki Ádám Domonkos<sup>7</sup>, Tárnoki Dávid László<sup>7</sup>, Kollai Márk<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Élettani Intézet, Semmelweis Egyetem, Budapest

<sup>2</sup>Családorvosi Tanszék, Semmelweis Egyetem, Budapest

<sup>3</sup>Politikatudományi Tanszék, Közép-európai Egyetem, Budapest

<sup>4</sup>Genetic Epidemiology Unit, National Centre of Epidemiology, Istituto Superiore di Sanita, Róma, Olaszország

<sup>5</sup>Department of Neurosciences, University of Padua School of Medicine, Padova, Olaszország

<sup>6</sup>Unita di Medicina Interna, Ospedale „S. Maria”, Università di Perugia, Terni, Olaszország

<sup>7</sup>Radiológiai és Onkoterápiás Klinika, Semmelweis Egyetem, Budapest, Magyarország

**Előzmények:** Az endotélium szerepet játszik a vaszkuláris tónus, a véralvadás, az angiogenezis, valamint a lokális gyulladásos folyamatok szabályozásában. A sokrétű élettani szerepe miatt az érbelhártya funkciójának károsodása számos patológiás állapot oka és/vagy kísérőjelensége lehet. Vizsgálatunk célja a mikrovaszkuláris rendszer endotélfunkciójának háttérében álló additív genetikai (A), közös (C) és egyéni (E) környezeti tényezők hatáserősségének meghatározása volt klasszikus ikervizsgálati modell segítségével.

**Alanyok és módszerek:** A vizsgálatban az Olasz Ikerregiszter segítségével történő toborzás után 84 ikerpár (164 fő) vett részt. A párok közül 42 pár monozigóta (MZ) ( $45 \pm 13$  év), 40 pár dizigóta (DZ) ( $46 \pm 15$  év) iker volt. A tenár izomzat és a kézhát közötti átmeneti zónában a bőr mikrovaszkuláris rendszerének véráramlását lézer-Doppler áramlásmérés segítségével határoztuk meg. A vizsgálat során az alkarra helyezett mandzsetta segítségével 5 perces leszorítást alkalmaztunk. Az endotélfunkció jellemzésére a felengedést követő reaktív hiperémia során mért csúcsáramlásnak és a nyugalmi áramlásnak a különbségét használtuk (PORHmax). Az MZ és DZ ikerpárok összehasonlítása, valamint az A, C és E hatások erősségének meghatározása maximum likelihood becslés és strukturált egyenletekkel történő modellezés segítségével történt.

**Eredmények:** Az MZ- és DZ-csoport között nem volt különbség a vizsgált antropometriai (életkor, testtömeg index) és hemodinamikai (szisztolés vérnyomás, diasztolés vérnyomás, pulzusnyomás, artériás középnyomás, szívfrekvencia) paraméterekben. A PORHmaxszignifikánsan magasabbnak bizonyult a DZ-csoportban ( $87,49 \pm 42,88^*$  vs.  $75,54 \pm 32,16$  perfúziós egység). A korra és nemre történő korrekció után a PORHmaxparaméter használatával meghatározott endotélfunkció háttérében az additív genetikai tényezők 53%-ban (CI 95%: 14-79%), az egyéni környezeti tényezők 47%-ban (CI 95%: 20-85%) játszanak szerepet, a közös környezeti tényezők hatása elhanyagolható. (átlag $\pm$ SD; \*:  $p < 0,05$ ; CI 95%: 95%-os konfidencia intervallum)

**Következtetés:** Az additív genetikai tényezők jelentős hatása miatt a pozitív családi anamnézissel rendelkező személyek esetében a szekunder prevenció, azaz a szűrések rendkívül fontos szerepet tölthetnek be az endotél-diszfunkcióval járó állapotok korai felismerésében. Emellett az egyéni környezeti tényezők számottevő befolyása miatt a primer és szekunder prevenció kiemelt jelentőségű ezen állapotok megelőzésében, valamint a megfelelő terápiás stratégiák kialakításában.

# A TRANZIENS RECEPTOR POTENCIÁL VANILLOID 1 ÉS ANKYRIN 1 IONCSATORNÁK EXPRESSZIÓJA HUMÁN ÉS PATKÁNY GYOMORNYÁLKAHÁRTYÁBAN, VALAMINT VÁLTOZÁSAINAK VIZSGÁLATA JÓDACETAMIDDAL KIVÁLTOTT KRÓNIKUS GASZTRITISZ PATKÁNY MODELLBEN

**Csekő Kata**<sup>1,2</sup>, Pécsi Dániel<sup>1</sup>, Hegedűs Ivett<sup>3</sup>, Perkecz Anikó<sup>1</sup>, Szabó Sándor<sup>4</sup>, Szabó Imre<sup>5</sup>, Helyes Zsuzsanna<sup>1,2,6</sup>

<sup>1</sup>PTE-ÁOK Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet

<sup>2</sup>PTE Szentágotthai János Kutatóközpont

<sup>3</sup>PTE-ÁOK Pathológiai Intézet

<sup>4</sup>University of California, Irvine, School of Medicine, Irvine, CA, USA

<sup>5</sup>PTE-KK I. sz. Belgyógyászati Klinika, 6 NAP-B Krónikus Fájdalom Kutatócsoport

Az utóbbi években a gasztritiszben szerepet játszó szenzoros-immun interakciók vizsgálata a tudományos érdeklődés fókuszába került. A kapszaicin-érzékeny peptiderg érzőideg-végződéseken, gyulladásos és hámsejteken is lokalizálódó Tranziens Receptor Potenciál Vanilloid 1 és Ankyrin 1 (TRPV1, TRPA1) ioncsatornák számos táplálékkal bevitt irritánssal és endogén gyulladásos mediátorral aktiválódnak, de szerepük a gyomor gyulladásos mechanizmusában még nem tisztázott. Ezért célul tűztük ki e csatornák expressziójának vizsgálatát ép emberi és patkány gyomornyálkahártyában, valamint változásait gasztritiszben.

A humán gyomornyálkahártya mintákat felső tápcsatornai tükrözés során gyűjtöttük, és hisztopatológiai kiértékelés után intakt kontroll, valamint különböző szövettani típusú gasztritisz csoportokba osztottuk. A gasztritisz modellt hím Wistar patkányban (8-12 hetes) 0,05% és 0,2%-os jódacetamid (IAA) 7 és 14 napig történő ivóvízbe adásával idéztük elő, míg hím CFY patkányban 0,2%-os oldatot itattunk 7 napig. A testsúlyt és folyadékfogyasztást naponta monitoroztuk. TRPV1 és TRPA1 relatív génexpressziót kvantitatív polimeráz láncreakcióval (qPCR) mértük meg, míg a receptorok lokalizációját immunhisztokémiai festéssel határoztuk meg. A patkány gasztritisz modellben a makroszkóposan megfigyelhető eróziókat, hiperémiát pontoztuk.

Az ép humán gyomornyálkahártyában mind a qPCR, mind az immunhisztokémiai analízis magasabb TRPV1 expressziót mutatott a TRPA1-hez képest. A TRPV1 és TRPA1 immunpozitivitás a gyomornyálkahártya epitélisejtekre lokalizálódott. A TRPV1 expresszió szignifikánsan alacsonyabb volt krónikus aktív gasztritiszben és krónikus reaktív gasztropátiában, míg a TRPA1 esetében nem mértünk változást.

A IAA-oldat itatás koncentrációfüggő testsúly- és folyadékfogyasztás-csökkenést okozott. A makroszkópos szemikvantitatív pontozás nem mutatott szignifikáns különbséget Wistar és CFY patkány gyomornyálkahártyában sem koncentráció sem idő függvényében. Érdekes módon Wistar patkányokban a TRPV1 expresszió nem mutatott változást, a TRPA1 viszont markánsan növekedett az első hét végén dózistól és lokalizációtól függetlenül (RQ:3,06-3,68), amely a második hét végére is szignifikánsan emelkedett maradt (RQ:1,71-3,17). Ezzel szemben CFY patkány antrumában a humán mintákhoz hasonlóan szignifikánsan csökkent TRPV1 (RQ:0,41) és TRPA1 (RQ:0,60) expressziót mértünk, míg a korpuszban nem tapasztaltunk eltérést (TRPV1 RQ:0,97, TRPA1 RQ:0,94).

Modellünkben a makro- és mikroszkópos változások súlyossága, valamint a TRV1/A1 expressziói nem függenek jelentősen a IAA-koncentrációtól, azonban jelentős törzsek közötti különbségeket tapasztaltunk, amely magyarázatul szolgálhat az ellentmondó irodalmi adatoknak. Mivel CFY törzsben kapott eredményeink hasonlóak az emberi adatokhoz, a továbbiakban ezt használjuk e csatornák szerepének vizsgálatára.



# ZUCKER OBESE PATKÁNYOKON VÉGZETT ALACSONY- ÉS MAGAS-DÓZISÚ BÉTA-KAROTIN KEZELÉSEK KARDIOVASZKULÁRIS HATÁSAI

**Csépányi Evelin<sup>1,2</sup>**, Czompa Attila<sup>2</sup>, Szabados-Fürjesi Péter<sup>1,2</sup>, Lekli István<sup>2</sup>, Tósaki Árpád<sup>2</sup>, Bak István<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>*Debreceni Egyetem, Gyógyszerésztudományi Kar, Bionatikai Nem Önálló Tanszék, Debrecen*

<sup>2</sup>*Debreceni Egyetem, Gyógyszerésztudományi Kar, Gyógyszerhatástani Tanszék, Debrecen*

Napjainkban a növényi eredetű komponensek, mint potenciális gyógyszerhatóanyagok iránt egyre nagyobb az érdeklődés. Ez annak is köszönhető, hogy a természetes eredetű hatóanyagok gyakran kevésbé toxikusak és kevesebb mellékhatásuk van. Egy a sokat kutatott hatóanyagok közül a béta-karotin. Számos klinikai kutatás vizsgálta kardiovaszkuláris hatásait e vegyületnek, de a kapott eredmények meglehetősen ellentmondásosak. Egyre több bizonyíték van arra, miszerint a köztudott antioxidáns tulajdonságon kívül, erős oxidatív körülmények között a béta-karotin prooxidáns is lehet. Kísérleteinkben hosszú idejű, alacsony- és magas dózisú béta-karotin kezelés hatásait vizsgáltuk, ZDF patkányokból származó iszkémia/reperfundált izolált szíveken. A patkányokat 4 hétig kezeltük különböző dózisú béta-karotinnal naponta, ezt követően a szívüket izoláltuk, majd 30 perc globál iszkémiának, ezt követően 120 perc reperfüzióknak vetettük alá. A kezelések előtt, felénél és végén terheléses vércukor szintet mértünk. A kísérlet időtartama alatt regisztráltuk a szívfunkciókat. A reperfüziót követően meghatároztuk az infarktusz területet és HO-1 enzim szintet. Az eredmények alapján elmondható, hogy az alacsony dózisú kezelés szignifikáns mértékben javította a posztisztkémiás értékeket, ami megnyilvánult a csökkent mértékű infarktusz területben is. Érdekes módon, a magas dózisú béta-karotin adagolása esetén a protektív hatások eltűnését tapasztaltuk eredményeink alapján. Habár a béta-karotin kezelés növelte a HO-1 expresszióját, nem tapasztaltunk jobb szívfunkciós paramétereket és/vagy csökkent mértékű infarktust a magas dózisú béta-karotin kezelést követően. A glükóz tolerancia tesztek dóziszfüggetlen glükóz szint csökkenést mutattak a béta-karotin kezelésekre. A tapasztalt ellentmondásos eredmények feltételezésünk szerint a reperfüzió során a béta-karotinból keletkezett káros oxidatív termékeknek köszönhetőek. Támogatások: DE Belső Kutatási Pályázat, OTKA K-104017 és PD-111794, TÁMOP-4.2.2-08/1-2008-007 és TÁMOP 4.2.4.A/2-11/1-2012-0001 'Nemzeti Kiválóság Program'.

# AZ ARHGAP25 RACGAP HIÁNYÁBAN CSÖKKENNEK A SZÉRUM-TRANSZFER ARTHRITIS TÜNETEI EGEREKBEN

**Csépányi-Kömi Roland**, Wisniewski Éva, Lévai Petra, Svanya Tim, Lévay Magdolna,  
Németh Tamás, Mócsai Attila, Ligeti Erzsébet  
*Semmelweis Egyetem Élettani Intézet*

A fehérvérsejtekben kifejeződő ARHGAP25 GTPáz aktiváló fehérje (GAP) munkacsoportunk korábbi eredményei alapján a Rac kis G-fehérje specifikus szabályozója. Az ARHGAP25 gén csendesítése fagocita sejtvonalakban szignifikánsan fokozta a fagocitózist, a szuperoxid-termelést, valamint a filamentáris aktin (f-aktin) mennyiségét. In vivo egérkísérletekben az ARHGAP25 hiányában jelentősen fokozódott a neutrofilek TNF $\alpha$  stimulusra bekövetkező transzmigrációja. Megfigyeltük továbbá, hogy a vad típusú állatokból származó neutrofilekben TNF $\alpha$  stimulus hatására lecsökkent az aktív Rac mennyisége, mely csökkenés az Arhgap25 knock-out (KO) állatból származó sejtekben elmaradt.

Eddigi kísérleteink arra utalnak, hogy az ARHGAP25-nek jelentős szerepe lehet a gyulladós folyamatokban, így jelen munkánk során célul tűztük ki, hogy megvizsgáljuk ezen fehérje szerepét egy komplex, gyulladással járó betegségmodellben.

A fenti kérdés vizsgálatára a szérum-transzfer arthritis egérmodellt alkalmaztuk. A kísérletekhez használt Arhgap25 KO egértörzset a Knockout Mouse Project (KOMP)-től vásároltuk. Az arthritis indukciójához a K/BxN egértörzsből nyert szérumot használtuk. Az azonos korú hím KO és vad típusú egerek intraperitoneális oltását (150  $\mu$ l szérum/állat) követően 10 napon keresztül mértük az állatok bokavastagságát, valamint klinikai pontszámmal jellemeztük a gyulladás mértékét. A betegség okozta funkcióvesztést a rácson történő kapaszkodás képességével vizsgáltuk. Az ARHGAP25 foszforilációs szabályozását rekombináns vad típusú, valamint olyan mutáns ARHGAP25 fehérjével végeztük, melyben a 363. szerin aminosavat alaninra cseréltük. Az in vitro Rac-GAP aktivitást ezen rekombináns fehérjékkel, és  $\gamma$ 32P-GTP-vel mértük.

ARHGAP25 hiánya esetén azt tapasztaltuk, hogy a gyulladás mértékét jellemző klinikai pontszám, valamint a betegség mértékével arányos boka-megvastagodás szignifikánsan csökkent a vad típusú állatokhoz képest. Hasonlóan alakult az állatok kapaszkodó készsége is: a KO egerek hosszabb ideig voltak képesek fent maradni a rácson, mint az ugyanolyan szérummal oltott vad típusú állatok. Ezen megfigyeléseink azonban ellentétben állnak a korábbi eredményeinkkel, miszerint az ARHGAP25 hiánya fokozza az alapvető neutrofil funkciókat. Mivel az ízületi gyulladás sokkal összetettebb, térben és időben kiterjedtebb jelátvitelt igényel, mint egy-egy elemi fagocita sejtfunció, a különbség oka feltehetően az ARHGAP25 szabályozásában keresendő. Az ARHGAP25 foszforiláción keresztüli szabályozását vizsgálva azt találtuk, hogy a 363. pozícióban található szerin alaninra történő mutációja szignifikánsan csökkentette a fehérje RacGAP aktivitását.

Eredményeink szerint az ARHGAP25 kiemelt szerepet tölt be a gyulladós folyamatok szabályozásában. Működésének pontos megértése még további kísérleteket igényel, azonban feltételezzük, hogy feladatának ellátásában kulcsfontosságú szerep jut a foszforilációnak, mely befolyásolja a Rac-ra kifejtett GTPáz-aktiváló hatásának mértékét.

# CINGULÁRIS KÉRGI INTERLEUKIN-1 $\beta$ MIKROINJEKCIÓ ÍZ-PERCEPCIÓT MÓDOSÍTÓ HATÁSÁNAK VIZSGÁLATA PATKÁNYBAN

**Csetényi Bettina**<sup>1</sup>, Hormay Edina<sup>1</sup>, Szabó István<sup>1</sup>, Nagy Bernadett<sup>1</sup>, Karádi Zoltán<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Élettani Intézet

<sup>2</sup>PTE Szentágotthai János Kutatóközpont, Molekuláris Neuroendokrinológia és Neurofiziológia Kutatócsoport

A táplálék íze, látványa, állaga, szaga, a táplálékfelvételi magatartást döntően befolyásoló tényezők. A limbikus rendszer egyik meghatározó kortikális struktúrája, a cinguláris kéreg (cctx) jelentős szerepet tölt be a táplálékkal kapcsolatos motivációs folyamatokban, s különösen az ingerek hedonikus, ingerstív ill. averzív voltának értékelésében. Az interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) ún. primer citokin, szerepe régóta ismert a táplálkozás szabályozásában. Egyséjtelvezetési kísérleteinkben olyan neuronok jelenlétét mutattuk ki a cinguláris kéregben, melyek IL-1 $\beta$  mikroiontoforetikus adására megváltoztatják tüzelési frekvenciájukat. Jelen kísérleteinkben a cinguláris kérgi IL-1 $\beta$ -mediálta folyamatok íz-percepciót befolyásoló hatását vizsgáltuk íz-reaktivitási teszt segítségével.

Hím Wistar patkányok cinguláris kérgé fölé bilaterális vezető kanülöket ültettünk be sztereotaxiás operáció során. Az íz-oldatok szájüregbe juttatásához polietilén csőből készített, buccális behatolásból a fejtetőre szubkután kivezetett ún. íz-kanülöket ültettünk be. Az IL-1 $\beta$  beadása bilaterális mikroinjekció formájában, mikroinfúziós pumpával történt. Az íz-reaktivitási teszt során a patkányokra jellemző, íz-ingerlésre adott mimikai, poszturális és lokomóciós válaszmintákat videóra rögzítettük. Íz-ingerléshez az öt alapíznek megfelelő oldatokat alkalmaztunk két különböző koncentrációban: sós (NaCl 0,05 M és 0,5 M), keserű (kinin-HCl 0,03 mM és 3 mM), édes (szukróz 0,05 M és 0,5 M), umami (Na-glutamát 0,05 M és 0,5M) és savanyú (sósav 0,03 M és 0,3 M). A kontroll állatok válaszreakciói alapján kellemes ízként értékeltük a szukróz és a Na-glutamát mindkét, valamint a NaCl és a HCl alacsonyabb koncentrációjú oldatát. Kellemetlen íz-ingerként minősítettük a kinin-HCl mindkét, valamint a sósav magasabb koncentrációjú oldatát. Ingerstív válaszként a ritmusos szájmozgást, elülső és oldalsó nyelvöltögetést, valamint a mancsnyalást, averzívként pedig a száj tátást, álldörzsölést, fej- és mancsrázást, valamint a menekülésszerű kiváltott lokomóciót értékeltük.

A citokin kezelésben részesült patkányok a kellemetlen ízekre kevesebb averzív és több ingerstív válaszreakciót mutattak, mint a kontroll állatok. A változás az alacsonyabb koncentrációjú kinin-HCl oldat esetén volt a legkifejezettebb, ahol az ingerstív és averzív válaszok aránya megfordult. Általánosságban is megállapítható, hogy az IL-1 $\beta$  kezelés nyomán az állatok kellemesebbnek érezték a kellemetlen ízeket.

Eredményeink rámutatnak arra, hogy a cinguláris kéreg IL-1 $\beta$  mediálta folyamatai a táplálék kellemes ill. kellemetlen voltának értékelése által fontos szerepet játszanak a táplálkozás szabályozásában, s így a homeosztázis egyensúlyának a fenntartásában.

Támogatás: Ajinomoto 51064/2009, PTE AOK-KA 2013/34039/1.

# **HYPERTENSION ACCELERATES BRAIN AGING: NOVEL MICROVASCULAR MECHANISMS**

**Anna Csiszar, Zoltan Ungvari**

*University of Oklahoma Health Sciences Center, Reynolds Oklahoma Center on Aging*

Clinical studies demonstrate that chronic hypertension accelerates the onset of age-related cognitive impairment, however, the underlying mechanisms remain elusive. Here we present experimental evidence obtained in mouse models that hypertension accelerates brain aging by compromising multiple aspects of the cerebral microcirculation. Specifically, we found that hypertension exacerbates age-related impairment of regulation of cerebral blood flow. Hypertension also exacerbates age-related microvascular injury, which contributes to decreased capillarity and disruption of the blood-brain barrier, promoting low-grade neuroinflammation in the cortex and the hippocampus. Neuroinflammation and inadequate blood supply to active brain regions have been previously linked to progressive neuronal dysfunction leading to premature cognitive impairment. There is growing clinical evidence causally linking cerebral microhemorrhages to cognitive decline and gait dysfunction in elderly patients. Thus, it is significant that hypertension significantly accelerates the onset of cerebral microhemorrhages in aged mice, which associate with impairment of higher brain function. Our studies provide proof-of-concept that the mechanisms underlying premature microvascular aging in hypertension include increased oxidative stress and pathological remodeling of the extracellular matrix. Taken together, microvascular pathologies induced by chronic hypertension accelerate the onset of age-related alterations in the brain, promoting cognitive decline. Because microvascular causes of age-related cognitive decline are potentially preventable, there is an urgent need for further studies to develop translationally relevant interventional approaches for microvascular protection.

# KOMPLEMENT AKTIVÁCIÓ ÁLTAL KIVÁLTOTT PSZEUDOALLERGIA (CARPA) EGÉR BEN: ZYMO SAN ÉS LIPO SZÓMÁS AMPHOTERICIN B HEMODINAMIKAI ÉS HEMATOLÓGIAI HATÁSAI

**Dé zsi Lás zló,** Ő rfi Erik, Mészáros Tamás, Fülöp Tamás, Rosivall Lás zló,  
Szebeni János, Szénási Gábor

*Nanomedicina Kutató és Oktató Központ, Kórélettani Intézet, Semmelweis Egyetem, Budapest*

**Bevezetés:** A liposzómás és egyéb nano-készítmények növelik a gyógyszerek hatékonyságát, de intravénás adásuk túlérzékenységi reakciót válthat ki. Mivel az így okozott komplement aktiváció által kiváltott pszeudoallergia (CARPA) emberben végzetes kimenetelű lehet, az Európai Gyógyszerügynökség előírja a liposzómás gyógyszereknél a jelenség vizsgálatát. Kísérleteink célja ezért az volt, hogy a CARPA tesztelésére alkalmas új egér modellt dolgozzunk ki.

**Anyag és módszer:** Hím NMRI egereket (29-35 g) pentobarbitallal (60 mg/kg i.p.) altattunk, majd a bal a. carotist és a jobb v. jugulárist megkanulöztük. A vérnyomást és a szívfrekvenciát folyamatosan regisztráltuk. Az egereket zymosan, ill. liposzómás amphotericin B (Abelcet, Teva) 10, 30 és 100 mg/kg i.v. dózisaival (n=4-6/csoport) kezeltük. Más csoportokban az anyagokat éber egerek farok vénájába adtuk, majd a kezelés utáni 1, 3, 5, 10, 20 és 30. percben izoflurán altatásban vért vettünk. A mintákban a véresejtszám változásokat követtük (Abacus), a hemolitikus aktivitás mérésével (CHA) a komplement aktivációt, ELISA módszerrel a plazma tromboxán (TXB2) szinteket határoztuk meg.

**Eredmények:** A zymosan bifázisos vérnyomás-változást hozott létre. A 30 és 100 mg/kg dózis a vérnyomást kezdetben dózis-függően emelte (csúcshatások 2.9±0.2 percnél: 30 mg/kg: 21.1±4.6 %, 100 mg/kg: 71.5±8.0 %, p<0.01), ezután a vérnyomás gyorsan csökkent, és a kezelés 10. percétől hipotenzív sokk alakult ki. Zymosan 10 mg/kg dózisa 5-ből 3 állatban okozott enyhe vérnyomás-változást, a szívfrekvenciát egyik dózis sem befolyásolta. Abelcet kizárólag vérnyomás-emelkedést indukált, ennek mértéke és időtartama dózis-arányos volt (csúcshatások: 10 mg/kg: 24.2±4.8 % 1.9±0.2 percnél, p<0.05; 30 mg/kg: 47.1±8.2 % 2.9±0.5 percnél, p<0.01). Egyidejűleg enyhe szívfrekvencia növekedést (10 mg/kg: 15.5±5.3 %, p<0.05; 30 mg/kg: 10.6±1.9 %, p<0.01) láttunk, a hatás kb. 10 percig tartott. A zymosan 30 mg/kg i.v. adása után 10 perccel a fehérvérsejt szám duplájára nőtt, a trombocita szám felére csökkent. Ugyanakkor a szérum komplement jelentősen aktiválódott, a kezelést követő 10. percben a CHA a felére csökkent. A TXB2 szintje minden vizsgált időpontban emelkedett. Abelcet hematológiai, és komplement aktivitásra kifejtett hatását jelenleg vizsgáljuk.

**Következtetések:** A liposzómák és más nanomedicinák CARPA-aktivitásának tesztelésére rutinszerűen csak a malacot alkalmazzák, ami a humán CARPA legérzékenyebb modellje. Korábban patkányon, most egéren is kimutattuk, hogy ez a két faj szintén mutatja a CARPA tipikus tüneteit. Bár a rágcsálók CARPA érzékenysége nagyságrendekkel elmarad a malacé mögött, az alacsony költségek és más előnyeik miatt - megfelelő dózis esetén - a rágcsálók egyaránt alkalmasak lehetnek a CARPA hatásmechanizmusának vizsgálatára, és a fejlesztés alatt álló nanorészecskék szűrésére.

**Kutatási támogatás:** EU project FP7-NMP-2012-LARGE-6-309820 (NanoAthero)

# SPONTÁN MEGJELENŐ ÉS DEPOLARIZÁCIÓVAL KIVÁLTOTT ELEMI KALCIUMFELSZABADULÁSI ESEMÉNYEK TANULMÁNYOZÁSA AZ EMBRIONÁLIS CAV1.1 SPLICE VARIÁNST EXPRESSZÁLÓ IZOMROSTOKON

**Dienes Beatrix**<sup>1</sup>, Vincze János<sup>1</sup>, Szentesi Péter<sup>1</sup>, Nasreen Sultana<sup>2</sup>,  
Bernhard E. Flucher<sup>2</sup>, Csernoch László<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Debreceni Egyetem, ÁOK, Élettani Intézet*

<sup>2</sup>*Medical University Innsbruck, Innsbruck, Ausztria*

A feszültség-vezérelt L-típusú kalciumcsatorna felnőttkori izoformája (CaV1.1a) vázizmok esetében csak lassan, nagy mértékű depolarizáció hatására nyílik meg, így az akciós potenciál alatt beáramló kalcium mennyiségéhez csak elhanyagolható mértékben járul hozzá, s elsősorban feszültség-szenzorként működik. Ezzel szemben az embrionális kori izoformán (CaV1.1e) keresztül beáramló kalcium számottevő a depolarizáció hatására kialakuló kalciumtranziens szempontjából, ugyanis ez az izoforma a CaV1.1a-hoz viszonyítva megváltozott feszültség-függést és kapuzási kinetikát mutat; gyorsabban és mintegy 30mV-tal negatívabb membránpotenciál mellett is megnyílik. Kísérleteinkben egy olyan egérmodellt használtunk (CaV1.1 $\Delta$ E29), amiben felnőtt egyedekben is csak az embrionális variáns CaV1.1e expresszálódik. A m. flexor digitorum brevis (FDB) izomból enzimatikusan izolált izomrostokon kialakuló kalciumfelszabadulási eseményeket rögzítettük Fluo-8 fluoreszcens kalciumérzékelő festék és egy Axon Multiclamp 700B patch setuppal ellátott lézerpásztázó konfokális mikroszkóp segítségével. Az intakt rostokon spontán módon megjelenő eseményeket találtunk, amit eddig intakt, emlős izomroston nem figyeltek meg. Megállapítottuk, hogy az események nem véletlenszerű eloszlásban, hanem kitüntetett helyeken jelentek meg. Egy adott pontban detektált események száma ugyanis jelentősen eltért a random megjelenést elméletileg leíró Poisson eloszlás jóslatától. Morfológiájukat tekintve rövid (spark-szerű, hossz=46,0 $\pm$ 1,5 ms, n=125) és hosszú (ember-szerű, hossz=473 $\pm$ 14 ms, n=218) eseményeket is rögzítettünk ugyanazon a sejten. Ezekon kívül komplex kinetikájú eseményeket is detektáltunk, amelyek intenzitásprofilja a kalciumfelszabadulási események megnyílására és bezáródására jelenleg általánosan használt modellektől – melyek szerint azok néhány közeli kalciumcsatorna összehangolt, egyidejű összehangolt megnyílását tükrözik – eltérő mechanizmusra utal. Feszültség-clamp körülmények között, a szarkoplazmás reticulumból történő kalciumfelszabadulás küszöbpotenciáljához közeli értéken (-60 és -50 mV), 400 ms hosszúságú depolarizáló impulzusok hatására kialakuló eseményeket is rögzítettünk, hasonló tulajdonságokkal.

Támogatta: OTKA-K-115461

# AZ ANYAI VISELKEDÉS SZABÁLYOZÁSÁNAK ÚJ PEPTIDERG MECHANIZMUSAI

## Dobolyi Árpád

<sup>1</sup>Neuromorfológiai Laboratórium, Anatómiai, Szövet- és Fejlődéstani Intézet, Semmelweis Egyetem, Budapest

<sup>2</sup>MTA-ELTE NAP B Molekuláris és Rendszer Neurobiológiai Laboratórium, Biológiai Intézet, Magyar Tudományos Akadémia és Eötvös Lóránd Tudományegyetem, Budapest

Az utóbbi év optogenetikai kutatásai mutatták meg, hogy egerek anyai viselkedése szabályozható a hypothalamus preoptikus területén elhelyezkedő galanin sejtek aktivitásának modulálásával. Azonban sem ezen galanin sejtek jellemzése, sem pedig az ő aktivitásuk szabályozása nem ismert fiziológias körülmények között. Kísérleteink során először elhelyezkedés, és oxytocin tartalom alapján az anyai viselkedés szabályozásában résztvevő preoptikus galanin sejtek 2 csoportját különböztettük meg: az anterior commissuralis mag (ACN) galanin sejtjei oxytocint is tartalmaztak, míg a medialis preoptikus területen (MPA) ventromediálisabban elhelyezkedő galanin neuronok többsége nem tartalmazott oxytocint, viszont kifejezhettek a csak anyákban megjelenő amylin neuropeptidet. Megállapítottuk azt is, hogy a kölykök hatására megemelkedő prolaktin az ACN majdnem összes galanin sejtjére hat, mivel ezen sejtekben kimutathatóvá vált a prolaktin receptor szignál transzdukciós fehérjéjének, a STAT5-nek a foszforilációja. Ezzel szemben az MPA-ben levő galanin sejtek többségére nem hatott a prolaktin ezen körülmények között. Mindkét területen elhelyezkedő galanin sejtek kaptak viszont direkt neuronális beidegzést tuberoinfundibuláris peptid 39 (TIP39)-tartalmú terminálisoktól, a köztük kialakuló szinaptikus kapcsolatot elektronmikroszkópos technikával is igazoltuk. Neuronális nyomjelző anyagok felhasználásával azt is megmutattuk, hogy ezen TIP39 terminálisokat létrehozó axonok a thalamus posterior intralamináris komplexumából (PIL) érkeznek a preoptikus területre. A TIP39 receptora, a parathyroid hormon 2 receptor (PTH2R) jelen van a preoptikus területen, és a TIP39 mRNS expressziója anyaállatokban közel 6-szoros emelkedést mutat a nem gondozó nőstényekéhez képest, ami arra utal, hogy a PIL TIP39 sejtjei, és az ő terminálisaikból felszabaduló TIP39 szerepet játszhat a galanin sejtek szabályozásában. Valóban, PTH2R antagonistá vírusokkal való lokális, preoptikus területen történő felszabadítása az anyai motiváció csökkenéséhez vezetett feltételes helypreferencia tesztekben, amikor is csak a kontroll csoport választotta a kölykökkel asszociált térfelet. Eredményeink szerint tehát a preoptikus galanin-sejtek fiziológias regulátora lehet a posterior thalamuszban átkapcsoló, vélhetően a kölykök okozta szomatoszenzoros ingereket közvetítő, TIP39-tartalmú felszálló pálya, viszont a szoptatás hatására felszabaduló prolaktin ezen sejteknek csak egy szubpopulációjára van hatással.

Támogatás: OTKA K116538 kutatási pályázat és a KTIA\_NAP\_B\_13-2-2014-0004 Program.

# IMPACT OF DIET ON MICROVASCULAR FUNCTION AND METABOLITES OF ARACHIDONIC ACID

**Ines Drenjancevic**

*Faculty of Medicine University Josip Juraj Strossmayer Osijek, Croatia*

Increased dietary kitchen salt intake leads to impairment of the vascular reactivity to physiological stimuli, both in conduit and in microcirculatory vessels, even with normal arterial blood pressure levels. Arachidonic acid (AA) metabolites have an important role in mediating vascular reactivity to various stimuli, (e.g. acetylcholine, hypoxia or flow-induced dilation) thus changing tissue blood flow and tissue supply. Our results in animal and human studies show that increased salt intake significantly changes type and the amount of produced AA metabolites, leading to impaired microvascular function. During the high dietary salt intake, there is a switch in the production of vasoactive metabolites from vasoconstrictors to vasodilators. The underlying event is increased vascular oxidative stress which may induce non-enzymatic production of isoprostanes from AA, which, together with vasoconstrictor metabolites of AA underlie the endothelial damage and impaired vascular function.

On the other hand, omega-3 fatty acids (FA) have protective role in cardiovascular system, supposedly due to decreased production or effects of the AA metabolites. However, this is the under-investigated topic. In conclusion, low kitchen salt intake, together with diets rich in omega-3 FA, especially omega-3 enriched foodstuff is the most natural way in cardiovascular health protection.



# AZ AQUAPORIN 5 EXPRESSZIÓJÁNAK VÁLTOZÁSA HORMONÁLIS HATÁSOKRA VEMHES PATKÁNY UTERUSZBAN

**Ducza Eszter**, Csányi Adrienn, Falkay György, Gáspár Róbert

*Szegedi Tudományegyetem, Gyógyszerhatástani és Biofarmáciai Intézet, Szeged*

**Bevezetés:** Az aquaporinok (AQP), a víz transzportjáért felelős csatornák, melyek jelen vannak számos vízforralmat bonyolító sejtmembránban. Bizonyított, hogy a női és férfi reproduktív szervrendszerekben is szoros kapcsolat van a vízforgalom és az AQP-ok között, de szerepük a terhességben, különös tekintettel a szülés és koraszülés folyamatára eddig ismeretlen.

Korábbi vizsgálatainkban igazoltuk, hogy az AQP izoformák közül az AQP5 mennyisége szignifikánsan csökken a szüléshez közeledve az uterusban és expressziója oxitocin reguláció alá esik. A továbbiakban célul tűztük ki AQP5 expresszió hormonális szabályozásának vizsgálatát patkány uterusban ösztrogén és gesztagén előkezelés hatására. Vizsgáltuk továbbá az AQP5 változást hormonálisan indukált koraszülés modellen is.

**Módszerek:** Az AQP5 mRNS szintjében bekövetkező változásokat real-time RT-PCR technikával vizsgáltuk. A fehérje expressziót Western blot technikával detektáltuk. Az AQP5 szint befolyásolására a patkányokat progeszteronnal, 17- $\beta$ -ösztradiol-valeráttal, medroxiprogesteron-acetáttal, tamoxifennel és klomifen-citráttal kezeltük, hatásukat a vemhesség 18. és 22. napján vizsgáltuk. A koraszülés vizsgálatára mifepristont és prosztoglandin E2 indukálta koraszülés modellt alkalmaztuk, amelyben a szülés a vemhesség 20. napján indult meg.

**Eredmények:** (1) A progeszteron és a medroxiprogesteron-acetát előkezelés szignifikánsan megnövelte az AQP5 mRNS és fehérje expressziót a vizsgált napokon. (2) Az ösztrogénkezelés a 18. vemhességi napon nem befolyásolta az AQP5 szintjét, de a szülés napján megemelte azt. (3) A klomifen-citrát kezelés hatására nem volt detektálható szignifikáns változás, míg a tamoxifen enyhe emelkedést eredményezett AQP5 expresszióban. (4) A hormonális kezelés által kiváltott koraszülésben az AQP5 szintje lecsökkent és egyforma expressziót mutatott a 22. napos kezeletlen vemhes uteruszal.

**Megbeszélés:** Az eddigi irodalmi adatok megosztottak az AQP-ok hormonális hatásra bekövetkező változásairól, különös tekintettel a gesztagénekre. Eredményeink tükrében megállapíthatjuk, hogy az ösztrogén, a progeszteron és származékaik fokozzák az AQP5 expressziót a vemhesség végén patkány uterusban, de a gesztagének hatása kifejezettebb.

# EXPRESSION OF P2X4 AND P2X7 PURINERGIC RECEPTORS IN THE DORSAL ROOT GANGLIA AND SUPERFICIAL DORSAL HORN OF RATS SUFFERING FROM CHRONIC INFLAMMATORY PAIN

**Ducza László**, Krisztina Holló, Erzsébet Bakk, Krisztina Hegedűs, Klaudia Dócs, Zoltán Hegyi, Miklós Antal

*Debreceni Egyetem Általános Orvostudományi Kar, Anatómiai, Szövet-és Fejlődéstani Intézet*

Intense and long-term noxious stimulation associated with chronic inflammation lead to plasticity and central sensitization within the superficial spinal dorsal horn. There is a general agreement that interleukins play a crucial role in spinal pain processing mechanisms. By a purinergic receptor-dependent manner, activation of nociceptive primary afferents and the consecutive release of ATP results in substantial increase of interleukin-1 $\beta$  in the spinal dorsal horn leading to central sensitization of the neural circuit. It was previously reported that P2X4 and P2X7 receptors can be the key mediators regulating cytokine secretion including IL-1 $\beta$ . Although the contribution of interleukins to the development of chronic inflammatory pain is widely accepted, our present knowledge concerning the role of P2X4 and P2X7 receptors in spinal pain mechanisms is insufficient. Thus, in the present experiment we investigated the expression of these receptors in the superficial spinal dorsal horn of adult male rats suffering in chronic inflammatory pain evoked by unilateral plantar injection of complete Freund adjuvant (CFA). Single immunoperoxidase stainings were performed to identify and characterize the expression of purinergic receptors in the dorsal root ganglia and the dorsal horn of spinal cord at the level of lumbar segment (L2-L4). Our results demonstrated an enhancement of purinergic protein expression both in the dorsal root ganglia and in the lamina I-II of the spinal gray matter following CFA injection. The cellular distribution of purinergic receptors was investigated by using double immunofluorescent labelings. It was found that P2X4 and P2X7 receptors were abundantly expressed by astrocytes and microglial cells in chronic inflammatory pain compared to control. After CFA administration the considerable increase of purinergic receptor protein expression was also confirmed by Western blot analysis. Our results suggest that P2X4 and P2X7 receptors may play a role in the formation of chronic inflammatory pain.

**Acknowledgement:** This work was supported by the Hungarian Academy of Sciences (MTA-TKI 242) and the Hungarian Brain Research Program (KTI\_NAP\_13-1-2013-001).

# ALTERATION IN DOPAMINE RECEPTOR 1 EXPRESSION IN THE NUCLEUS ACCUMBENS SHELL AS A POTENTIAL CAUSE OF INCREASED REWARD-RELATED EATING IN INTRAUTERINE UNDERNOURISHED ADULT RATS

**Durst Máté**, Katalin Könczöl, Judit Kerti, Zsuzsanna Tóth

*Department of Anatomy, Histology and Embryology; Semmelweis University; Budapest, Hungary*

Intrauterine undernourishment is one of the main prenatal disturbances which have long lasting effects. It has a large impact on development, and it primes for a later onset obesity, and consequently for the formation of many metabolic diseases. Several studies have dealt with central changes in homeostatic regulation of energy balance and food intake involved in this process but non-homeostatic, reward-related aspects are scarce. The mesolimbic pathway with the nucleus accumbens (Acb) plays a determinative role in reward and in related food-intake. The main neurotransmitter of the pathway is dopamine, but endogen opiates have important effects on Acb, too. It has been reported that 'wanting' component of reward is represented throughout the Acb (core and shell), while 'liking' or hedonic behaviour is restricted to the dorsal part of the shell subnucleus. We hypothesized that there is a change in the hedonic component of feeding behaviour in intrauterine undernourished rats which can be reflected in an altered dopaminergic and opiate signalling in Acb.

We kept rat dams on 50 % reduced protein diet during the whole pregnancy and used 14-week-old intrauterine underfed (IU) offsprings for the experiments. Control animals developed under normal conditions. We measured hedonic food consumption of sated rats (g of sweetened milk), and determined mRNA levels of dopamine (D) type 1 and 2 receptors and of preproenkephalin in subregions of Acb by quantitative in situ hybridization. Additionally, we injected D1 receptor agonist SKF-82958 into the dorsal shell subregion of the right Acb of non-IU animals to test its impact on hedonic food intake. Besides, the experiment was recorded for later evaluation of parameters linked to hedonic behaviour. IU animals were born with smaller body weight but grew faster and have reached the weight of controls by 14th week. They drank significantly more of the sweetened milk than controls. Simultaneously, a significant decrease of D1 receptor mRNA expression in Acb shell and a tendency for increase of D2 receptor mRNA in Acb core was observed, while preproenkephalin mRNA levels did not change. D1 receptor agonist (0.5 µg or 3.0 µg) treatment produced a reduced milk consumption compared to vehicle treatment.

Overall duration of drinking increased but frequency of licking did not change in D1-agonist-receiver groups. These refer to a regular consuming which is characteristic for non-hedonic attitude. Licking clusters, what also typify hedonic drinking, showed a decrease for both dose of the drug, although cluster duration did not change.

These results are in harmony with the finding that non-IU rats with higher D1 receptor expression were less motivated in hedonic food intake than IU rats, with lower D1 receptor expression. Reduced D1 signalization in the Acb shell may contribute to the intensified hedonic food consumption and hence to consequential obesity seen in the examined phenotype.

# PEPTIDERG AFFERENSEK SZEREPE A FEJFÁJÁSOK PATHOMECHANIZMUSÁBAN

**Dux Mária<sup>1</sup>**, Messlinger Karl<sup>2</sup>, Jancsó Gábor<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Szegedi Tudományegyetem, Élettani Intézet, Szeged*

<sup>2</sup>*Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg, Institut für Physiologie und Pathophysiologie, Erlangen*

Az intrakraniális struktúrák, elsősorban a dura mater encephali nociceptív primer szenzoros neuronjainak aktiválódása fontos szerepet játszik a fejfájások pathomechanizmusában. A nociceptorok aktiválódását a fájdalomérzés centrális továbbítása mellett lokális reakciók, a meningeális véráramlás fokozódása, valamint hízósejt- és makrofág aktiváció kíséri. A trigeminális nocicepcióban kulcsszerepet betöltő kemoszenzitív neuronok intra- és extrakraniális végződéseiken elhelyezkedő tranziens receptor potenciál vanilloid 1 (TRPV1) és tranziens receptor potenciál ankyrin 1 (TRPA1) receptoraik révén támadáspontját képezik különböző kémiai irritánsoknak (pl. acrolein, formaldehid), melyek fejfájást indukáló hatása bizonyított. A kemoszenzitív neuronok jelentős hányada az aktiváció során calcitonin gén-rokon peptidet (CGRP) szabadít fel, mely a szenzoros információ továbbítása mellett erős vazodilatátor- és hízósejteket aktiváló hatása révén központi szerepet tölt be a perifériás szenzitizáció mechanizmusában.

Kísérleteinkben patkány dura materén vizsgáltuk különböző endogén stimulusok TRPV1 és TRPA1 receptorokon kifejtett hatását, melyek fiziológias vagy patológias körülmények között a kemoszenzitív neuronok aktiválódását eredményezhetik. Kísérleteink során vizsgáltuk az endogén vanilloidok TRPV1-, illetve a nitrogén monoxid (NO) és a hidrogén szulfid (H<sub>2</sub>S) TRPA1 receptorokon kifejtett hatását. In vivo állatmodellünkben lézer Doppler módszerrel mértük a szabaddá tett dura mater felszínére topikálisan applikált anyagok meningeális véráramlásra kifejtett hatását. A különböző stimulusokkal kiváltott CGRP felszabadulás mértékét in vitro dura mater preparátumokon ELISA módszerrel mértük, a TRPV1 illetve TRPA1 receptorokat expresszáló meningeális afferenseket pedig immunhisztokémiai festéssel azonosítottuk.

Kísérleteinkben igazoltuk az endogén vanilloid arachidonylethanolamide (anandamid) és N-arachidonoyl-dopamine (NADA) meningeális erekre kifejtett vazodilatátor hatását, mely a trigeminális afferensek TRPV1 receptorainak aktiválása és következményes CGRP felszabadulás eredménye. Funkcionális méréseink igazolták a meningeális nociceptorok CB1 cannabinoid receptorainak CGRP felszabadulásra kifejtett moduláló hatását is. A döntően endothel eredetű NO és H<sub>2</sub>S által kiváltott meningeális vazodilatáció hátterében a két anyag interakciójának következtében keletkező nitroxilt, mint a TRPA1 receptorokat aktiváló és a meningeális afferensekből CGRP-t felszabadító anyagot azonosítottuk.

Eredményeink igazolták a dura materben lokálisan keletkező anyagok, illetve azok interakciója következtében történő TRPV1 és TRPA1 receptor aktivációt, amely következményes CGRP felszabaduláshoz és meningeális véráramlás fokozódáshoz vezet. Ezek a mechanizmusok szerepet játszhatnak a fejfájások pathogenezisében is.

Támogató: OTKA K-101873

# A PERIAQUEDUCTALIS SZÜRKEÁLLOMÁNY FUNKCIONÁLIS KONNEKTIVITÁSA MEGVÁLTOZIK SPONTÁN MIGRÉNES ROHAM SORÁN: ESETISMERTETÉS

Édes Andrea Edit<sup>1,2</sup>, Kozák Lajos Rudolf<sup>1,3</sup>, Zsombók Terézia<sup>1,2</sup>,  
Bagdy György<sup>2,4</sup>, Juhász Gabriella<sup>1,2,4,5</sup>

<sup>1</sup>MTA-SE-NAP B Genetikai Agyi Képző Mígrené Kutató Csoport, Magyar Tudományos Akadémia, Semmelweis Egyetem, Budapest

<sup>2</sup>Semmelweis Egyetem, Gyógyszerésztudományi kar, Gyógyszerhatástani Intézet, Budapest

<sup>3</sup>Semmelweis Egyetem, MR Kutató Központ, Budapest

<sup>4</sup>MTA-SE Neuropszichofarmakológiai és Neurokémiai munkacsoport, Magyar Tudományos Akadémia, Semmelweis Egyetem, Budapest

<sup>5</sup>Neuroscience and Psychiatry Unit, The University of Manchester and Manchester Academic Health Sciences Centre, Manchester, UK

**Bevezetés:** Az utóbbi években számos funkcionális képző eljárással végzett kutatás született a migrén pathomechanizmusának felderítését célozva. Ezek közé tartozik az ún. resting state funkcionális mágneses rezonancia (RS fMRI) képző eljárás is, amely egyre nagyobb népszerűségnek örvend az idegtudomány területén. A módszer egymással nem feltétlenül anatómiai összeköttetésben álló agyterületek szinkronműködését, funkcionális konnektivitását (FK) vizsgálja, tehát funkcionális hálózatok feltérképezésére ad lehetőséget. A periaqueductalis szürkeállomány (PAG) központi szerepet játszik a fájdalom modulációjában, és korábban már strukturális és funkcionális eltéréseit is kimutatták migrénes betegekben.

**Módszer:** Két alkalommal vizsgáltunk vér oxigénszint függő (BOLD) fMRI-vel egy 24 éves aura nélküli migrénes nőt: spontán roham kezdetén és tünetmentes időszakban, egy hónap különbséggel. Mindkét 4 perces vizsgálat során a résztvevő nyitott szemmel feküdt, miközben csak egy fekete képernyőt látott, feladata nem volt. A két kondíció összehasonlításához Parametrical Mapping 12-t (SPM12) és a CONN toolboxot (MATLAB) használtuk seed-to-voxel korreláció analízist alkalmazva a teljes agyra, FDR korrigált  $p \leq 0.05$  szignifikancia szintet és minimum 50 voxeles klaszterméret küszöböt alkalmazva. A PAG seed régiót Mainero 2011-es munkája alapján definiáltuk.

**Eredmények:** A PAG FK-a számos kortikális és subkortikális régióval megváltozott a spontán migrénes roham során, melyek közül több is szerepet játszik a fájdalom modulációjában és feldolgozásában. Erősödött a FK bilaterálisan occipitális kéreggel, a precuneussal, pregenualis anterior cinguláris kéreggel (ACC), a jobb insulával, a thalamusszal, caudatummal és putamennel bilaterálisan. Ugyanakkor a jobb subgenualis ACC, illetve szimmetrikusan a középső cinguláris kéreg és a superior frontális kéreg mediális része csökkent FK-t mutatott a PAG-gal.

**Diszkusszió:** Mainero és mtsai fejfájás-mentes időszakban vizsgálták a PAG FK-át más agyterületekkel 17 migrénes betegen, és számos eltérést találtak az egészséges kontrollokhoz viszonyítva. Bár a vizsgálatuk más jellegű, és aurás migréneseket is bevontak, a FK-különbségekben láthatunk átfedéseket a mi eredményeinkkel. Ezzel az esetismertetéssel most először láthatjuk a PAG funkcionális hálózatának változásait migrénes roham során. Bár az eredmények szigorú korrekción estek át, ez egy egyedülálló eset, annak minden limitációjával. Ahhoz hogy a PAG FK-ának eltéréseit el tudjuk helyezni a migrén pathomechanizmusának kirakásában, még számos vizsgálatra lesz szükség, melynek célja az akut roham tanulmányozása RS fMRI segítségével.

**Köszönetnyilvánítás:** A vizsgálatot a KTIA\_NAP\_13-2-2015-0001 azonosító számú MTA-SE-NAP B Genetikai Agyi Képző Mígrené Kutató Csoport és az MTA-SE Neuropszichofarmakológiai és Neurokémiai munkacsoport támogatta.

# HUMÁN NEUTROFIL GRANULOCITÁK CIRKADIÁN SZABÁLYOZÁSA

**Ella Krisztina, Südy Ágnes, Csépanyi-Kömi Roland, Káldi Krisztina**

*Semmelweis Egyetem Élettani Intézet, Budapest*

A cirkadián ritmus az élőlények környezethez való adaptációját segíti. A ritmust a sejtekben működő molekuláris oszcillátorok hozzák létre, melyek működését egy központi óra hangolja össze, mely a nucleus suprachiasmaticusban található. Számos adat utal az immunrendszer cirkadián óra általi szabályozottságára, azonban a különböző immunsejtek órájának működési mechanizmusáról keveset tudunk. Kísérleteink célja az volt, hogy humán neutrofil granulociták cirkadián működését vizsgáljuk.

A neutrofil sejteket egészséges, önkéntes donoroktól vett vérből izoláltuk. Az órát működtető gének ( Bmal1, Per1, Per2, Per3, Dbp, Reverba) expresszióját RNS izolálást és cDNS szintézist követően valós idejű PCR-rel vizsgáltuk, majd ezen gének fehérjetermékeit is tanulmányoztuk Western blot segítségével. Megvizsgáltuk, hogy a nap során változik-e a neutrofil populáció kor szerinti összetétele, melyet különböző érési markerek (Cxcr4 és Gp91phox expresszió, magszegmentáltság) mérésével követtünk. Emellett vizsgáltuk a sejtek effektor készségeinek napszaki ingadozását is: különböző napszakokban összehasonlítottuk a sejtek opszonizált zimozán által indukált szuperoxid termelését, valamint opszonizált *S. aureus* fagocitózist.

Eredményeink arra utalnak, hogy neutrofil sejtekben jelentősen alacsonyabb az óragének expressziója, mint más leukocitákban. Ezt támasztja alá az óra egyik fő komponensének (BMAL1) foszforiláltsági állapota is: nincs jelen a fehérje hiperfoszforilált formája, ez pedig arra utal, hogy a sejtekben a fehérje magba való felvétele gátolt, azaz nem képes megfelelően működni mint transzkripciósfaktor, ezáltal károsodhat a ritmusgenerálás. A neutrofil populáció kor szerinti eloszlása ritmusos változást mutat: a nappali időszakban több fiatal sejt, az éjszakai időszakban több érettebb sejt található a keringésben. Ebben meghatározó lehet a sejtekben mérhető ritmusos Cxcr4 expresszió, valamint a CXCR4 ligandumának, a CXCL12-nek a szérumban mérhető szinkron változása, mivel ezek ismert szabályozói a csontvelőből történő mobilizációnak. A sejtek effektor reakcióinak vizsgálatakor mind a sejtek szuperoxid termelésében, mind a fagocitózis készségében nagyobb aktivitást tapasztaltunk az éjszakai időszakban, amikor az érettebb sejtek aránya nagyobb.

Összefoglalásként elmondható, hogy a neutrofil granulociták óraműködése nem olyan robosztus, mint más leukocitáké, ennek oka lehet a BMAL1 fehérje csökkent aktivitása. További eredményeink arra utalnak, hogy nem a sejtek saját órájának működése, hanem a perifériás vérben található neutrofil populáció korbéli összetétele a meghatározó az effektor funkciók ritmusos működésében.

# A KILÉLEGZETT METÁN SZINTEK ÖSSZEFÜGGÉSE A MESENTERIÁLIS VÉRÁRAMLÁSSAL EXTRA-MESENTERIÁLIS EREDETŰ KERINGÉSI ZAVAROK SORÁN

Érces Dániel<sup>1</sup>, Bari Gábor<sup>2</sup>, Bozsó Noémi<sup>1</sup>, Balog Dóra<sup>1</sup>, Szűcs Szilárd<sup>1</sup>, Kaszaki József<sup>1</sup>, Boros Mihály<sup>1</sup>, Varga Gabriella<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Szegedi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Sebészeti Műtéttani Intézet

<sup>2</sup>Szegedi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, II. sz. Belgyógyászati Klinika és Kardiológiai Központ, Szívsebészeti Osztály

**Bevezetés:** A gastrointestinális keringésromlás korai felismerése a kezelés sikerességének záloga. A vékonybél vérellátásának közvetlen károsodása mellett extra-mesenterialis eredetű keringési zavarok is kialakulhatnak, számos kórfolyamat (shock, haemodialysis, szív- és érsebészeti beavatkozások) következményeként. Jelen kísérleteink során megvizsgáltuk a kilélegzett levegő metán tartalmának változásai és a vékonybél makro- és mikrokeringés közötti összefüggést nem-okkluzív mesenterialis ischemia in vivo modelljeiben.

**Módszerek:** 1. tanulmány: Altatott patkányok egy csoportjában (n=6) a hasi aorta 60 perces részleges leszorításával (parciális aorta okklúzió, PAO) 30-40 Hgmm-re csökkentettük a splanchnikus terület artériás középnyomását, a másik csoport (n=6) kontrollként szolgált. 2. tanulmány: Altatott, lélegeztetett törpesertésekben 60 perces pericardiális tamponádot (PT; n=6) hoztunk létre a pericardium saját vérrel történő feltöltésével (100±50 ml), melynek során az artériás középnyomást (MAP) 40-45 Hgmm-re csökkentettük. Az álműtött csoport kontrollként szolgált (n=6). Mindkét tanulmány során metán-termelő állatokat használtunk (kilélegzett metán-szint >1 ppm), monitoroztuk az artéria mesenterica superior áramlását (AMSF), az ileum mikrokeringését jellemző vörösvérsejt áramlási sebességet (RBCV) és a kilélegzett metánkibocsátást (fotoakusztikus diódalézeres módszerrel).

**Eredmények:** 1. tanulmány: A PAO alatt csökkent AMSF és RBCV (98±70 1m/s vs 810±85 1m/s) értékeket mérünk, alacsonyabb kilélegzett metán-szint mellett. 2. tanulmány: PT alatt alacsonyabb MAP mellett az AMSF és a RBCV (447±35 1m/s vs 664±34 1m/s) romlása volt megfigyelhető, amit a kilélegzett metán-szint csökkenése kísért. Mindkét tanulmányban a lokális keringést meghatározó AMSF, valamint a mikrokeringést jellemző RBCV (I: r=0,53; p=0,011 és II: r=0,58; p=0,035) és a kilélegzett metán-szint között szignifikáns összefüggést mutattunk ki.

**Következtetés:** Az extra-mesenterialis eredetű keringési zavarok általunk alkalmazott állatmodelljeiben bizonyítottuk az összefüggést a vékonybél mikrokeringése és a kilélegzett metán-szint között.

**Támogatás:** NKFI-116861, OTKA-K104656

# ÚJ ÉS MÁR KIPRÓBÁLT ANTIDEPRESSZÍV GYÓGYSZERCÉLPONTOK RELEVANCIÁJÁNAK ÖSSZEHASONLÍTÁSA KLINIKAI MINTÁN

**Eszlári Nóra**, Gonda Xénia, Hullám Gábor, Antal Péter, Bagdy György  
MTA-SE Neuropszichofarmakológiai és Neurokémiai Kutatócsoport, Budapest

A depresszió farmakoterápiája során a nem megfelelő gyógyszerválasz a betegek mintegy felére jellemző, míg a WHO előrejelzése szerint 2030-ra a betegségek közül a depresszió jelenti majd a legnagyobb terhet Európában. A máig elfogadott hipotézis szerint a jelenleg használt antidepresszívumok nagy része a monoaminok koncentrációjának emelésén keresztül elindított kaszkád közvetítésével fejti ki hatását, amire heteket kell várni. Mindebből következik, hogy egyrészt a jelenleg használt antidepresszívumaink hatásmechanizmusának részleteit kevésbé ismerjük, másrészt égető szükség van új hatásmechanizmusú antidepresszívumokra. A kutatás szempontjai között azt is figyelembe kell vennünk, hogy depresszióban sem rendelkezünk igazán jó validitást mutató állatkísérletes modellel. Érdemes így a depressziós betegek statisztikailag igazolható neurobiológiai eltéréseire és a jelenleg használt antidepresszívumok késői molekuláris hatásaira koncentrálnunk. A depresszió kialakulásában a környezeti stressz jelentősége kiemelkedő. Eredményeink szerint a gyermekkori bántalmazás és felnőttkorban a depressziós fázis kialakulását maximum egy évvel megelőző súlyos negatív életesemények is többszörösre emelik a depresszió előfordulásának gyakoriságát. Nagy elemszámú, depressziós és egészséges személyeket is magába foglaló mintán, ahol minden személy genotípusáról, valamint az őt ért stressz jellegéről és mértékéről pontos adatokkal rendelkezünk, lehetőségünk van annak elemzésére, hogy mely gének vesznek részt a depresszió létrejöttében.

Jelen vizsgálatban G protein kapcsolt receptorok, ionotrop receptorok és neuropeptidok génjeinek relevanciáját vetettük össze a szerotonin transzporterével.

**Módszerek:** A jelen vizsgálatban közel 2000 személy adatainak (depressziós, szorongásos tünetek, életesemények, gének funkcionális polimorfizmusai) felhasználásával korábban ismert hatású, gyógyszerként alkalmazott fehérjéket kódoló és új, gyógyszeres terápiában eddig nem alkalmazott gének hatásait vetettük össze. A relevanciaszámítás Bayes-háló alapú, modellátlagoláson nyugvó, számításintenzív módszertan alkalmazásával történt. Az interakciós hatások szignifikanciájának számítása hagyományos modellben (GLM) került megerősítésre.

**Eredmények:** A korábbi eredményeket megerősítve a szerotonin transzporter funkcionális promotor polimorfizmusa, az 5-HTTLPR csak a nemrég negatív életeseményeket átélt populációban mutatott némileg releváns hatást. A szerotonin-1A receptor génje az életeseményeknek jelentősebb mértékben kitett populációban ennél erősebb hatást mutatott. A legkifejezettebb relevanciát a depresszió kialakulásának szempontjából a galanin neuropeptid 2-es receptorának génpolimorfizmusa mutatta.

**Következtetés:** A humán populációgenetika alkalmazásával új, a jelenleg használatban lévő antidepresszívumoknál (pl. SSRI szereknél) feltehetően hatékonyabb gyógyszerként jelölhetőek ki. A módszer nem nélkülözheti a stresszfaktorok számának és intenzitásának figyelembe vételét.



# A FOLÁTÚTVONAL KÉT GÉNJE, AZ MTHFR ÉS AZ MTHFD1L, ELTÉRŐEN HATNAK A DEPRESSZÍV RUMINÁCIÓRA

**Eszlári Nóra**<sup>1,2</sup>, Kovács Dávid<sup>1,2</sup>, Petschner Péter<sup>1,2</sup>, Pap Dorottya<sup>1,2</sup>, Gonda Xénia<sup>1,2,3</sup>, Rebecca Elliott<sup>4,5</sup>, Ian Muir Anderson<sup>4,5</sup>, John Francis William Deakin<sup>4,5,6</sup>, Bagdy György<sup>1,2</sup>, Juhász Gabriella<sup>1,2,4,5,7</sup>

<sup>1</sup>Semmelweis Egyetem, Gyógyszerésztudományi kar, Gyógyszerhatástani Intézet, Budapest

<sup>2</sup>MTA-SE Neuropszichofarmakológiai és Neurokémiai munkacsoport, Magyar Tudományos Akadémia, Semmelweis Egyetem, Budapest

<sup>3</sup>Semmelweis Egyetem, Kútvölgyi Klinikai Tömb, Klinikai és Kutatási Mentálhigiénés Osztály, Budapest

<sup>4</sup>Neuroscience and Psychiatry Unit, School of Community Based Medicine, Faculty of Medical and Human Sciences, The University of Manchester, Manchester, UK

<sup>5</sup>Manchester Academic Health Sciences Centre, Manchester, UK

<sup>6</sup>Manchester Mental Health and Social Care Trust, Manchester, UK

<sup>7</sup>MTA-SE-NAP B Genetikai Agyi Képpalkotó Migrén Kutató Csoport, Magyar Tudományos Akadémia, Semmelweis Egyetem, Budapest

A folátmetabolizmus eltéréseit kapcsolatba hozták már a depresszív tünetekkel és a rugalmatlan kognícióval egyaránt. A rugalmatlan kogníció egyik típusa a depresszív rumináció (röviden rumináció), mely során a személy saját depresszív hangulatán perszeveratív és passzív módon rágódik. Bár a rumináció egy fontos rizikófaktora a későbbi major depresszív zavar megjelenésének, illetve a depresszív tünetek erősségének, a folátútvonal génjeit még nem vizsgálták vele kapcsolatban.

Vizsgálatunkban az önkitöltős kérdőívvel mért rumináció összefüggését kívántuk feltárni a folátútvonal két génjének egy-egy pontpolimorfizmusával (SNP-jével). Az 5,10-metiléntetrahidrofolát-reduktáz fehérjét kódoló MTHFR gén rs1801133 (C677T) SNP-je aminosavcserét eredményez, mégsem mutatott konzisztens asszociációt korábbi vizsgálatokban sem a rugalmatlan kognícióval, sem a major depresszióval. A mitokondriális monofunkciós 10-formiltetrahidrofolát-szintetáz enzimet kódoló MTHFD1L gén pedig, korábbi vizsgálatok szerint elengedhetetlen az egészséges idegcsőfejlődéshez, rs11754661 SNP-je pedig genom szintű rizikófaktor az Alzheimer-kór kialakulására, így a gén az egész élet során fontosnak tűnik a kognitív folyamatokban.

Jelen vizsgálatunkban az MTHFR rs1801133-at és az MTHFD1L rs11754661-et budapesti és manchesteri felnőttekben genotipizáltuk. Lineáris regressziós egyenlettel vizsgáltuk egy-egy SNP hatását a ruminációra, a nem, az életkor és a populáció kontrollálásával.

Eredményeink szerint az MTHFR rs1801133 nincs kapcsolatban a ruminációval; míg az MTHFD1L rs11754661 A allélja magasabb ruminációra hajlamosít. Ezt a szignifikáns eredményt replikáltuk külön a budapesti és a manchesteri almintánkban is.

A két gén hatása között talált diszkrepanciának több oka lehet. Elsőként, kereshetjük a két enzim eltérő biokémiai szerepében. Másodsor, a két enzim eltérő szubcelluláris helye is fontos lehet. Harmadszor, a két enzim működése eltérő mértékben lehet érzékeny a környezeti hatásokra, például a folátstátuszra.

Az MTHFD1L és a rumináció közös variabilitása nem csupán a depresszív zavarok, hanem kardiovaszkuláris megbetegedések etiopatológiájában is szerepet játszhat, mivel a rumináció a kardiovaszkuláris stresszválasz elhúzódásával is összefügg, és a folátmetabolizmus egyes markereinek eltérései hasonló mintázatot mutatnak a kardiovaszkuláris és a pszichiátriai megbetegedésekben.

Támogatók: Sixth Framework Program of the European Union, NewMood, LSHM-CT-2004-503474; National Institute for Health Research Manchester Biomedical Research Centre; TAMOP-4.2.1.B-09/1/KMR-2010-0001; Nemzeti Agykutató Program - KTIA\_13\_NAP-A-II/14. nyilvántartási számú (ny.sz.) szerződés a (KTIA\_NAP\_13-1-2013-0001) keretében; MTA-SE Neuropszichofarmakológiai és Neurokémiai Kutatócsoport, Magyar Tudományos Akadémia, Semmelweis Egyetem; Nemzeti Agykutató Program - KTIA\_NAP\_13-2-2015-0001 (MTA-SE-NAP B Genetikai Agyi Képpalkotó Migrén Kutató Csoport, Magyar Tudományos Akadémia, Semmelweis Egyetem)

# DO CYCLOOXYGENASE ENZYME PRODUCTS REGULATE FUNCTIONAL HYPEREMIA ASSOCIATED WITH SPREADING DEPOLARIZATION?

**Farkas Eszter**, Varga Dániel Péter, Menyhárt Ákos, Puskás Tamás, Hertelendy Péter, Zölei-Szénási Dániel, Tóth Réka, Ivánkovitsné Kiss Orsolya, Bari ferenc

*Szegedi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Orvosi Fizikai és Orvosi Informatikai Intézet*

Recurrent spreading depolarizations (SDs) occur spontaneously in the ischemic brain, are coupled with typical changes in local cerebral blood flow (CBF), and have been recognized to promote ischemic lesion progression. The regulation of the SD-related CBF response appears to be rather complex, and the discrimination of individual mediators poses a considerable challenge. Similar to neurovascular coupling to somatosensory stimulation, arachidonic acid metabolites could possibly play a central role in mediating the CBF response to SD, because SD coincides with a considerable accumulation of arachidonic acid in the cortex, and a significant elevation of prostanoid concentration in the cerebrospinal fluid.

We set out to determine systematically whether cyclooxygenase -2 (COX-2) products - specifically prostaglandin E2 - or COX-1 derived metabolites contribute to the evolution of the SD-coupled hyperemia in the intact or the ischemic rat cerebral cortex.

Two cranial windows were prepared on the parietal bone of isoflurane-anesthetized Sprague-Dawley rats (n=65). Global forebrain ischemia was achieved by the permanent, bilateral occlusion of the common carotid arteries. Sham-operated rats served as non-ischemic controls. DC potential was acquired through a glass capillary microelectrode, and local CBF was measured with laser Doppler flowmetry in the rostral craniotomy. The cortex in the rostral craniotomy was incubated in drug solutions or vehicle (1.5% DMSO in aCSF) for 40 min prior ischemia induction or SD elicitation. The following drugs were applied topically: the selective COX-2 inhibitor NS-398 (100  $\mu$ M), the selective COX-1 inhibitor SC-560 (25  $\mu$ M), or the selective prostaglandin-E2 receptor (EP4) antagonist L161,982 (1  $\mu$ M). Four SDs were initiated in all groups in the caudal cranial window by 1 M KCl at 15 min intervals.

Ischemia significantly attenuated the peak of hyperemia and elongated the duration of hyperemia in response to SD in all treatment groups. EP4 receptor selectively reduced the amplitude of hyperemia associated with SD in the intact but not in the ischemic cerebral cortex. COX-1 inhibition increased the duration of SD-associated hyperemia with respect to vehicle under ischemia, as well as the duration of the SD-associated transient negative DC shift. The duration of the transient negative DC shift and that of the associated hyperemic response displayed a significant positive correlation.

We propose that the EP4 prostaglandin receptors located on cerebrovascular smooth muscle cells mediate the SD-related hyperemia in the intact cortex, but their contribution is overridden by other vasoactive mediators during ischemia. On the other hand, COX-1 products appear to usher the recovery from SD during ischemia, and thereby determine the duration of the SD-related hyperemia indirectly. Taken together, COX products appear to regulate the SD-associated CBF response through various pathways including EP4 receptor and COX-1 enzyme activation.

# A FLUOXETIN KEZELÉS AGYTERÜLET SPECIFIKUS HATÁSAI A PACAP HETEROZIGÓTA EGEREK FOSB NEURONÁLIS AKTIVITÁSÁRA

**Farkas József,** Gaszner Tamás, Kovács László, Gaszner Balázs

*PTE ÁOK Anatómiai Intézet, Pécs*

A hypophysis adenilát cikláz aktiváló polipeptid (PACAP) gén polimorfizmusát már korábban kapcsolatba hozták az emberi hangulatzavarokkal. A működő PACAP allél hiánya depresszió szerű viselkedést okoz rágcsáló modellekben. A PACAP heterozigóta egerek egy mutáns alléljuk révén megközelítőleg 70%-kal kevesebb PACAP-ot termelnek vad típusú társaiknál, ezért fokozott genetikai hajlamot mutathatnak a hangulatzavarokra, mely ideális alannyá teszi őket a depresszió állatmodelljének felállításához. A „három találat elmélet” szerint genetikai predispozíció (pl. a PACAP gén mutáció), epigenetikai változások (pl. korai életszakaszban bekövetkezett negatív hatások anyai megvonás által) és környezeti faktorok [pl. krónikus variábilis enyhe stressz (CVMS)] együttes fennállása vezethet a depresszió kialakulásához. Kísérletünk célja a maternális depriváció és a CVMS hatásainak vizsgálata volt PACAP heterozigóta (HZ) egereken. Modellünk validitásának alátámasztására alanyaink felét szelektív szerotonin reuptake inhibitorral (fluoxetin) kezeltük, míg a többi egér vivőanyagot kapott.

A neuronális aktivitás szemikvantitatív felméréséhez FosB térképezést végeztünk a következő, stresszhez szorosan kapcsolódó agyterületeken: a bed nucleus of stria terminalis (BST) ventralis (BSTv), dorsomedialis (BSTdm), dorsolateralis (BSTdl) és ovális (BSTov) magjaiban; a nucleus septalis lateralis (LS) ventralis (LSv) és dorsalis (LSd) magjaiban; a periaqueductalis szürke állomány (PAG) laterális (IPAG) és dorsalis (dPAG) részében; a centralis projekciójú nucleus Edinger-Westphalban (cpEW) valamint a nucleus raphe dorsalisban (DR).

Eredményeink azt mutatják, hogy a fluoxetin kezelt, maternális depriváción át nem esett állatok CVMS hatására magasabb FosB aktivitást mutatnak minden vizsgált agyterületen, mint a vivőanyaggal kezelt egerek. A BSTv, BSTdm és az IPAG-ban a FosB neuronális aktivitás gyengébbnek mutatkozott CVMS hatására azokban a fluoxetin kezelt egerekben, melyek korábban maternális depriváción estek át.

A PACAP HZ egerekben mind a maternális depriváció mind a CVMS megemelte DR-ben a FosB aktivitást, melyet a fluoxetin kezelés nem befolyásolt. A maternális szeparáción átesett, CVMS-nek kitett, vivőanyaggal kezelt egerek a DR-ben és az IPAG-ban fokozottabb FosB immunoreaktivitást mutattak fluoxetinnel kezelt társaiknál. Összefoglalva elmondható, hogy a fluoxetin agyterület specifikusan befolyásolja a stressz magok működését PACAP HZ egerekben. Eredményeink alapján a fluoxetin kezelés hatékonyságát befolyásolja mind az anyai gondoskodás minősége mind pedig a stressz expozíció, mely a három találat elmélet validitását támasztja alá. További viselkedés vizsgálatok megvilágíthatják, hogy mely morfológiai eltérés(ek) áll(nak) kapcsolatban maladaptációs tünetekkel a viselkedési fenotípusban.

# AZ ANATÓMIA FONTOSSÁGA A PREHOSPITÁLIS ELLÁTÁSBAN

**Farkas József<sup>1,2</sup>**, Rendeki Szilárd<sup>2</sup>, Vajda Márk<sup>2</sup>, Reglődi Dóra<sup>1</sup>

<sup>1</sup>PTE ÁOK Anatómiai Intézet, Pécs

<sup>2</sup>PTE ÁOK Műveleti Medicina Tanszék

Az anatómia mint tudomány hagyományosan az orvosképzés egyik alappillére. A kurrikulumban elfoglalt helye, a megkövetelet gigantikus információ mennyiség és nem utolsósorban a kifejezetten nehéz záróvizsgálata miatt az orvosi közgondolkodásban jobb esetben mint „szűrő”, de gyakran sajnos mint „szükséges rossz” szerepel. Azon „rögök” egyikének tekintik, melyen túl kell esni a diploma megszerzéséhez. Gyakran elsikkad az a fontos tény, hogy az anatómia alapvető jelentőségű az orvosi szemléletmód kialakításában. Ritkán gondolunk rá, hogy ha legtöbbször nem is közvetlenül merülnek fel konkrét anatómiai problémák a klinikumban (pl. a fossa pterygopalatina falai), de a hétköznapi orvos az anatómiai ismeretei segítségével alakít ki magában egy képet a paciensről, helyezi el térben a „betegségeket”, tanulja meg az orvosi nyelvet, illetve az anatómia segítségével tájékozódik munkája során.

Nincs ez másképp a prehospitalis ellátásban sem. Ezen terület dolgozói stabil és mélyreható ismeretekkel kell, hogy rendelkezzenek a sérültellátás részdiszciplinái terén, de nem nélkülözhetik a masszív anatómiai tudást sem.

A PTE ÁOK Műveleti Medicina Tanszéke az Anatómiai Intézettel karöltve felismerte ennek fontosságát. Közös munkánk céljául azt tűztük ki, hogy olyan gyakorlatban használható anatómiai ismereteket nyújtsunk az első vonalban dolgozók számára (pl. rendőrök, tűzoltók), melyek segítségével nem csak sokkal magabiztosabban végezhetik munkájukat, hanem képesek lehetnek szokatlan helyzetek elhárítására, improvizálásra tudásukra támaszkodva. A közös munka során nagy hangsúlyt fektetünk az ismeretek átadása mellett a sérültellátás oktatásában használatos tananyagok fejlesztésére, melyek nagy mértékben építenek az anatómiai ismeretekre. Az oktatáson kívül a két intézet közös kutatómunkát is végez, melynek fő célja a gyakorlatban használt technikák még hatékonyabbá tétele.

# LASER SPECKLE CONTRAST IMAGER ALKALMAZÁSA HUMÁN FESZES ÍNY VÉRKERINGÉSÉNEK DINAMIKUS VIZSGÁLATÁRA

Fazekas Réka<sup>1</sup>, Molnár Eszter<sup>1</sup>, Nagy Izabella<sup>1</sup>, Dinya Elek<sup>2</sup>, Lohinai Zsolt<sup>1</sup>, Vág János<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Semmelweis Egyetem, Konzerváló Fogászati Klinika, Budapest

<sup>2</sup>Semmelweis Egyetem, Digitális Egészségtudományi Intézet, Budapest

**Bevezetés:** A gingiva ereinek lefutását döntően morfológiai vizsgálatok írják le. A fiziológiás és különböző patofiziológiás állapotokban bekövetkező keringésváltozások vizsgálata azonban funkcionális módszereket igényel. A Laser Speckle Contrast Imager (LSCI) optikai képalkotó eszköz alkalmas lehet a gingiva mikrocirkulációjának tanulmányozására, mivel képes nagy terület felett egyidejűleg, gyors rögzítési sebességgel mérni a véráramlást.

**Célkitűzés:** A gingiva mikrocirkuláció tér és időbeli dinamikájának vizsgálata rövid idejű okklúziót követően LSCI segítségével.

**Anyag és módszer:** Vizsgálatunkban 20-40 év közötti egészséges pácienseknél (10 nő és 7 férfi) horizontális, vertikális és papilla alap ínymetszést modelleztünk a feszes íny 10 mm-es leszorításával. LSCI alkalmazásával követtük az érintett régió és környezete véráramlásának dinamikus változását az öt másodperces okklúzió alatt, és az azt követő húsz percben. Az adatok statisztikai elemzését a SAS programcsomag Mixed Procedure ARH(1) covariance-structure segítségével végeztük.

**Eredmények:** A feszes íny nyugalmi véráramlása mindkét nemben magasabb volt a papilláktól apikálisan, mint a fogak tengelyében ( $p < 0,001$ ). Rövid idejű horizontális leszorítás hatására a leszorítástól koronálisan és apikálisan, a mesialis és distalis papillákban, valamint a papilláktól apikálisan csökkent a véráramlás ( $p < 0,001$ ). A leszorítástól koronálisan az iszkémia nagyobb mértékű volt, mint apikálisan ( $p < 0,001$ ). Az okklúziót követő hiperémia ugyanakkor nemcsak a fenti régiókban, hanem a leszorítástól egy-egy fognyira kiterjedően is szignifikáns volt ( $p < 0,05$ ). Férfiaknál nagyobb és elhúzódóbb volt a hiperémiás válasz, mint nőknél ( $p < 0,05$ ).

**Következtetés:** Eredményeink szerint a véráramlás a feszes ínyben nem homogén, térbeli rajzolatot mutat. Az irodalomban leírt apiko-koronális véráramlási irány horizontális leszorítást alkalmazó vizsgálatunkban is igazolódott. Rövid idejű okklúziót követő hiperémia nagyobb területre terjed ki, mint az iszkémia, ennek hátterében vasoaktív reflex játszhat szerepet. A tranziens iszkémiára adott válasz nemek közötti különbözősége új megfigyelés, jelentősége, magyarázata további vizsgálatokat igényel.

# A SPONTÁN FIZIKAI AKTIVITÁS ÉS A KALÓRIA BEVITEL HATÁSA PATKÁNYOK KOGNITÍV TELJESÍTMÉNYÉRE

**Felszeghy Klára<sup>1</sup>, Pósa Anikó<sup>2</sup>, Varga Csaba<sup>2</sup>, Nyakas Csaba<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Sport- és Természettudományi Kutató Központ, Testnevelési Egyetem, Budapest*

<sup>2</sup>*Élettani, Szervezettani és Idegtudományi Tanszék, Szegedi Tudományegyetem, Szeged*

Tudományosan megalapozott tény, hogy a rendszeres fizikai aktivitás és a kalória-csökkentett diéta jótékony hatással bír a központi idegrendszer figyelmi és memória funkciójára. Másrészt az inaktív életmód, valamint a magas triglicerid tartalmú diéta bevitele negatív hatással van a kognitív képességekre. Jelen tanulmányunkban kísérleti állatokon vizsgáltuk a spontán és rendszeres fizikai tréning valamint a táp kalória tartalmának hatását komplex térbeli tanulási folyamatra Morris-féle vízlabirintusban.

Felnőtt hím patkányokat (Harland Wistar törzs) inaktív és rendszeres spontán aktivitást végző (aktív) csoportra osztottuk. Az inaktív állatokat hármával normál ketrecekben tartottuk, az aktív patkányokat mókuskereket tartalmazó ketrecekben helyeztük el. A mókuskereket bármikor önkéntesen használhatták, a megtett utat és a kerék használatának idejét mértük. Mindkét csoport további 3-3 alcsoportot képezett az alábbiak szerint: a kontrol csoport - ad libitum standard tápot, kalória csökkentett (CR) - állatonként 25g standard tápot, és magas zsírtartalmú táp (HT) - 60% normál tápot és 40% telített zsírsavat tartalmazó diétát fogyasztott. A kognitív tesztet 12 hetes kezelést követően végeztük.

Az aktív állatok futási teljesítményében nem találtunk szignifikáns különbséget függetlenül a fogyasztott táptól. A standard tápot fogyasztó kontroll állatok között a fizikai aktivitás javulást eredményezett a munka memóriában (rövid távú memória), de gyengítette a referencia memóriát (hosszú távú memória). Fokozott kalória bevitel esetében az inaktív állatok memória funkciója romlott, de rendszeres fizikai tréning mellett teljesítményük nem maradt el a kontrolltól. A kalória csökkentett táp a kontrollokhöz képest is fokozta a kognitív teljesítményt inaktív állatokon. Az aktív állatok körében viszont jelentős romlást tapasztaltunk a munka memória alakulásában.

A spontán fizikai aktivitás nem maradt el és nem csökkent magas illetve alacsony kalória-bevitel mellett sem. Az állatok kognitív teljesítményét azonban mind a kalória-bevitel, mind a fizikai aktivitás jelenléte vagy hiánya erősen befolyásolta. A kognitív teljesítmény vizsgálatakor figyelembe kell venni, hogy ez a funkció érzékeny a táplálék kalória tartalma és a fizikai tréning közötti finom kölcsönhatásokra.

# KISSPEPTIN-13 INTERFERES WITH THE EXPRESSION OF OPIOID RECEPTORS IN MALE MICE

**Kata Filkor**, Krisztina Csabafi, Katalin Ibos, Gyula Szabó  
*Department of Pathophysiology, University of Szeged, Hungary*

Kisspeptin-13, a hypothalamic neuropeptide belongs to the RF amide family. Originally, it was described as a mediator of the reproductive system, but now it is well known that it has pivotal role in behavioral and endocrine processes and in the regulation of nociception. In this study we aim to investigate how Kisspeptin-13 acts on pain sensitivity in adult male C57BL/6 mice.

Kisspeptin-13 in a concentration of 0,5 µg/µl was administered intracerebroventricularly and pain sensitivity was measured by heat-radiant tail flick test 30, 60 and 120 minutes post-treatment. The relative gene expression levels of opioid receptor family members, namely OPRD1, OPRK1 and OPRM1 were determined by quantitative real-time PCR 2 hours after Kisspeptin-13 treatment from hypothalamus, hippocampus, amygdala, anterior cingulate cortex (ACC) and dorsal root ganglia (DRG) samples. In all experimental procedures, untreated animals were used as controls.

Tail flick experiments suggest that Kisspeptin-13 decreases pain threshold in a dose-dependent manner, the most effective dose was 0,5 µg/µl. As compared with control samples, significant down regulation of pain threshold was detected 30 and 60 minutes after Kisspeptin-13 treatment. The same trend was detected 120 minutes post Kisspeptin-13 challenge. Kisspeptin-13 treatment resulted in significant relative gene expression downregulation in case of OPRM1 in hypothalamus, amygdala, and DRG samples. The relative gene expression of OPRK1 was significantly downregulated after Kisspeptin-13 challenge in hypothalamus, amygdala and DRG, however in ACC, significant relative gene expression upregulation was demonstrated. Kisspeptin-13 resulted in marked relative gene expression upregulation of OPRD1 in hypothalamus and DRG, however in samples from amygdala and hippocampus significant relative gene expression decline was detected.

Data obtained from real-time PCR experiments in accordance with heat-radiant tail-flick test support the hyperalgesic effect of Kisspeptin-13 in adult male mice via altering the expression pattern of opioid receptor family members in regions involved in nociceptive control.

This work was supported by the Hungarian Brain Research Program - KTIA\_13\_NAP-A-III/8

# A HEMATOKRITSZINT VÁLTOZÁSÁNAK HATÁSA A TÜDŐ SZÖVETI VISZKOLEASZTICITÁSÁRA

Fodor H. Gergely<sup>1</sup>, Babik Barna<sup>2</sup>, Walid Habre<sup>3</sup>, Peták Ferenc<sup>1</sup>

<sup>1</sup>SZTE ÁOK Orvosi Fizikai és Orvosi Informatikai Intézet, Szeged

<sup>2</sup>SZTE ÁOK Aneszteziológiai és Intenzív Terápiás Intézet, Szeged

<sup>3</sup>Pediatric Anaesthesia Unit, Geneva Children's Hospital, Genf, Svájc

**Bevezetés:** A tüdő mechanikai tulajdonságait a légúti és tüdőszöveti kompartmentek együttesen határozzák meg. A pulmonális ereket kitöltő, illetve bennük áramló vér hematokrit értékének (Htk) hatását a tüdő mechanikai tulajdonságaira ugyanakkor eddig még nem vizsgálták. Különböző kórállapotokban megváltozhat a keringő vér Htk-szintje, mely hozzájárulhat a pulmonális funkció megváltozásához. Kísérletünk célja így annak feltárása volt, hogy a légúti és tüdő szöveti viszkoelasztikus tulajdonságait hogyan befolyásolja a Htk értéke ex vivo patkánytüdő modellben.

**Módszerek:** Vizsgálatainkat izoláltan perfundált patkánytüdőkön végeztük, melyeket intermedier ( $26,5 \pm 3,0\%$ ) Htk értékű vérral történő perfúziót követően véletlenszerű sorrendben vagy alacsony ( $6,6 \pm 3,3\%$ ) vagy pedig normális ( $43,7 \pm 4,6\%$ ) Htk-értékű vérral perfundáltunk, egymást követően 2 mérési sorozatban. A perfúziós véráramlás ( $Q_p$ ) és pulmonális vaszkuláris ellenállás ( $R_v$ ) monitorozása mellett állandó pulmonális kapillárisnyomást tartottunk fent, a pulmonális hemodinamika tüdőmechanikára kifejtett zavaró hatásainak minimalizálására. A tüdőpreparátum légúti ellenállását ( $R_{aw}$ ), valamint a szövetek viszkózus ( $G$ ), elasztikus ( $H$ ) paramétereit és hiszterezivitását ( $\eta = G/H$ ) kényszerített oszcillációs mérésekkel határoztuk meg mindhárom Htk szinten.

**Eredmények:** A Htk csökkenése  $Q_p$  szignifikáns növekedését ( $2,7 \pm 0,4$  vs.  $12,4 \pm 1,0$  ml/min,  $p < 0,001$ ) és  $R_v$  jelentős csökkenését ( $8,77 \pm 1,15$  vs.  $1,54 \pm 0,31$  Hgmm/ml/min,  $p < 0,001$ ) okozta.  $R_{aw}$  értékét a Htk változtatása szignifikánsan nem befolyásolta. A Htk csökkentése mind  $G$  ( $16,5 \pm 7,7\%$ ,  $12,1 \pm 9,5\%$ , intermedier és alacsony Htk szinteken,  $p < 0,005$ ), mind pedig  $H$  szignifikáns csökkenéséhez vezetett ( $13,2 \pm 8,6\%$ ,  $10,8 \pm 4,7\%$ ,  $p < 0,001$  mindkettőre), az alacsony és intermedier Htk-szintek között viszont nem találtunk különbséget. Mivel  $\eta$  értékében szignifikáns változást nem találtunk, így a tüdő rezisztív és elasztikus tulajdonságainak kapcsolt változását okozta a pulmonális keringésben a Htk csökkentése.

**Következtetések:** Eredményeink alapján fiziológias Htk értékek mellett a pulmonális erekben lévő vörösvértestek elasztikus és viszkózus tulajdonságai hozzájárulnak a teljes tüdő viszkoelasztikus paramétereikhez. Ezek alapján a tüdő mechanikai állapotát befolyásolják a kisvérkörben lévő vérnek, mint folyékony szövetnek a viszkoelasztikus tulajdonságai, így a Htk-eltéréssel járó állapotok (pl. anémia, illetve liberális transfúziós gyakorlat) tüdő mechanikai tulajdonságaira gyakorolt hatásait is figyelembe kell venni lélegeztetés során, különösen indikációjának felállítása során, vagy a leszoktatás folyamata alkalmával.



# BINOKULÁRIS MÉLYSÉGÉRZÉKELÉS VIZSGÁLATA

## 64 CSATORNÁS EEG-VEL

Fülöp Diána<sup>1</sup>, Czigler András<sup>1</sup>, Radó János<sup>1</sup>, Buzás Péter<sup>1</sup>, Trunk Attila<sup>2</sup>,  
Hernádi István<sup>2</sup>, Jandó Gábor<sup>1</sup>

<sup>1</sup>PTE-ÁOK, Élettani Intézet

<sup>2</sup>PTE TTK, Biológiai Intézet

**Bevezetés:** A binokuláris mélységérzékelés, más szóval térlátás lehetővé teszi, hogy megítéljük a pontos térbeli távolságokat, három dimenzióban (3D) érzékeljük a világot. Ez a fajta percepció csak a két szem együttes használatával valósulhat meg. Abban az esetben, ha a megfigyelt tárgy képe a retina nem identikus pontjaira vetül, retinális diszparitásról beszélünk. A retinális diszparitás fajtájától függően lehet keresztezett és keresztesetlen, ilyenkor a látott képet a fixációs pont előtt vagy mögött érzékeljük. Korábbi kutatásaink azt mutatták, hogy a keresztezett és keresztesetlen diszparitású stimulusra adott reakcióidő egymástól eltér, mely felveti annak lehetőségét, hogy feldolgozásuk hátterében különböző mechanizmusok, eltérő válaszidejű neurális hálózatok vesznek részt.

**Módszerek:** Hatvannégy csatornán steady state vizuális kiváltott választ (ss-VEP) regisztráltunk három fiatal felnőtt bevonásával. A különböző diszparitású dinamikus random pont sztereogramokat (DRDS) 3D-s LCD monitoron jelenítettük meg. A DRDS régóta alkalmazott stimulus a térlátás vizsgálatára. Az alanyok a gyártótól kapott cirkuláris polárszűrős szemüveget viseltek, mely biztosította a tökéletes csatornaszétválasztást. A pilot vizsgálatok során 3 keresztezett és keresztesetlen diszparitású, egy nulla diszparitású, valamint fekete-fehér sakktabla és egyszemes DRDS kontroll VEP-et regisztráltunk. Adatainkat EEGlab segítségével, valamint T2kör statisztikával értékeltük, továbbá a stimulusra adott neurális válaszok felderítéséhez független komponens analízist is használtunk.

**Eredmények:** A T2kör statisztika és az EEGlab segítségével, a standard fejmodellt felhasználva a skalpon jeleltettük meg az általunk kiváltott válaszra jellemző első négy harmonikus szignifikancia, amplitudó és fázis vonatkozásában. Mindegyik esetben azt találtuk, hogy a 60' diszparitáson regisztrált VEP fundamentális frekvenciáján a keresztezett diszparitáshoz tartozó fázis eltér a keresztesetlen diszparitás fázisától. Míg az előbb leírt esetekben a fundamentális frekvencia mindig szignifikanciát mutatott, addig 15' és 3,7' mellett minden esetben, de eltérő harmonikusokra kaptunk szignifikáns választ.

**Következtetés:** Az alacsony elemszám ellenére a kezdeti eredményeinkből arra következtethetünk, hogy a keresztezett és keresztesetlen diszparitásra adott VEP-ek különbözőek, mely összhangban áll korábbi pszichofizikai eredményeinkkel. A talált különbség felveti annak lehetőségét, hogy a közeli és távoli mélységinformáció feldolgozásában más idegi struktúrák vesznek részt.

**Támogatás:** Nemzeti Agykutatási Program „KTIA\_NAP\_13120130001” és OTKA K108747.

# A MELANOCORTIN 4 RECEPTOR AGONISTÁJÁNAK ÉS ANTAGONISTÁJÁNAK HATÁSÁNAK VIZSGÁLATA A CENTRÁLIS PROJEKCIÓJÚ EDINGER-WESTPHAL MAG MŰKÖDÉSÉRE

Füredi Nóra<sup>1</sup>, Nagy Ákos<sup>2</sup>, Pétervári Erika<sup>1</sup>, Balaskó Márta<sup>1</sup>, Gaszner Balázs<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Transzlációs Medicina Intézet, Pécs

<sup>2</sup>Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Anatómiai Intézet

**Bevezetés:** A centrális projekciójú Edinger-Westphal mag (cpEW) urocortin1 (Ucn1) tartalmú idegsejtjeinek szerepe már ismert a stresszválasz szabályozásában. A stressz kevésbé ismert mechanizmussal befolyásolja az energia-egyensúly szabályozását is. A cpEW-ban több, mind a stresszválaszban, mind a táplálékfelvétel szabályozásban szerepet játszó neuropeptidnek illetve receptornak a jelenlétét leírták. Hipotézisünk szerint, ilyen neuropeptid lehet, az alfa-melanocyta-stimuláló hormon ( $\alpha$ -MSH), agouti-related peptid (AgRP) is, amelyek befolyásolhatják az Ucn1 tartalmú idegsejtek működését a melanocortin-4 receptoron (MC4R) keresztül. Előkísérleteinkben kimutattunk  $\alpha$ -MSH-t és AgRP-t tartalmazó rostokat az MC4R immunoreaktív Ucn1 neuronok szomszédságában.

**Módszerek:** Patkányok agyába kanült implantáltunk a cpEW fölé, melyen keresztül éheztetett állatokban  $\alpha$ -MSH (MC4R agonista) injekció hatását vizsgáltuk fiziológiás sóoldat, MC4R antagonistá (HS024) valamint  $\alpha$ -MSH, HS024-kotél kezelt kontrollokkal szemben. A kezelés hatására bekövetkező centrális és perifériás testhőmérséklet változást regisztráltuk. A cpEW működését FosB (neuron aktivációs marker), Ucn1 és agouti-related peptide (AgRP) immunfluoreszcens jelölések segítségével vizsgáltuk.

**Eredmények:** Az Ucn1 szignál denzitás és FosB expresszió növekedést mutatott HS024 hatására, mely a patkányok maghőmérséklet emelkedésével és a bőr vazodilatációjával járt együtt. Mivel az MC4R blokádjá mellett láttunk hatást, felmerült a receptor endogén inverz agonistájának, az AgRP-nek a funkcionális jelentősége. Éheztetett állatokban a cpEW-ban az AgRP jel denzitás növekedését találtuk, mely az Ucn1 és FosB expresszió növekedésével járt együtt normál tápláltságú kontrollokhoz viszonyítva.

**Összefoglalás:** Eddigi kísérleteinkben bizonyítottuk, hogy a neuroanatómiai feltétele adott az  $\alpha$ -MSH és Ucn1 rendszerek interakciójának. Morfológiai és in vivo tesztjeink alátámasztják, hogy az  $\alpha$ -MSH MC4R-on hatva befolyásolja a cpEW működését. További kísérletek szükségesek az AgRP és az MC3R szerepének tisztázására. Eredményeink segíthetnek megérteni, hogy hogyan járul hozzá a cpEW az energia egyensúlyban bekövetkező változásokhoz a hangulatzavarokkal járó kórképekben.

# LABYRINTH LESION INDUCES ECM BREAKDOWN IN PERINEURONAL NETS OF THE VESTIBULAR NUCLEI

**Gaál Botond**

*Debreceni Egyetem ÁOK Anatómiai, Szövet- és Fejlődéstani Intézet, Debrecen*

Unilateral labyrinthectomy (UL) results in postural deficits and disturbances in the eye movements in mammalian species. Symptoms spontaneously recover during the vestibular compensation, which is a model of neuronal plasticity in the adult central nervous system (CNS). Recent studies have shown that the extracellular matrix (ECM) molecules have an important role in the neural plasticity however their modifications during compensation have been poorly studied in the vestibular system. In the CNS, the ECM is composed of various macromolecules, the hyaluronan, chondroitin sulfate proteoglycans (aggrecan, brevican, versican, neurocan) and link proteins, forming the characteristic accumulation of ECM, the perineuronal net (PNN). In the present study the expression of various ECM constituents were examined following unilateral labyrinthectomy and subsequent compensation.

The left middle and inner ear was surgically exposed and damaged mechanically. After survival up to 14 days, morphological study was performed in each the vestibular nuclei.

Our results showed that UL is accompanied by the modification of ECM staining pattern in the vestibular nuclei and the time course of re-establishment of PNN is parallel to the improvement of vestibular symptoms. Also, the time course of modifications was different for each molecule during the compensatory period. Results suggest the involvement of ECM in plastic modifications of the CNS.

Grant support: OTKA K115471

# APPLICATION OF ACTIVATION INDUCED MANGANESE-ENHANCED MAGNETIC RESONANCE IMAGING (MEMRI) FOR MAPPING OF BRAIN STRUCTURES INVOLVED IN OPERANT RESPONSES IN RATS

**Gálosi, Rita**<sup>1</sup>, Szalay, Csaba<sup>1</sup>, Aradi, Mihály<sup>3</sup>, Pál, József<sup>1</sup>, Perlaki, Gábor<sup>3,4</sup>, Karádi, Zoltán<sup>1,2</sup>, Lénárd, László<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>*Institute of Physiology, Medical School of University of Pécs, Pécs, Hungary*

<sup>2</sup>*Molecular Neuroendocrinology and Neurophysiology Research Group, Szentágotthai Research Center, University of Pécs, Pécs, Hungary*

<sup>3</sup>*Neurosurgery Clinic, Medical School of University of Pécs, Pécs, Hungary*

<sup>4</sup>*NIH-UP Clinical Neuroscience MR Research Group, Pécs, Hungary*

Executed actions can be controlled by two ways: by the association formed between stimulus and effective action or by the association between the consequence and response. A wide range of imaging studies are available to detect the neuronal network that controls actions in human and in primate, but not in rodents. Functional MRI technique allows the study of neuronal activity and functional connectivity in humans and animals. The manganese enhanced magnetic resonance imaging (MEMRI) technique utilizes manganese ion accumulation in excitable neurons enhancing signal intensity and allows imaging to be performed following behavioral response of rodents. In series of experiments, we developed a MEMRI technique to map brain areas, which activated by executed actions during motivated operant responses in rats.

The MRI measurement was carried out in a 3T clinical MR scanner before and after behavioral experiments. To determine T1 relaxation time T1 maps were calculated using turbo spin echo inversion recovery sequence. The change in T1 relaxation time were voxel-based compared among 1) learned animals with reinforced operant responding, 2) control rats with water deprivation and drinking, 3) animals similarly motivated and participated in the same signal context without access to reward and 4) yoked animals which had access to reward, without reinforced lever-press, without response - reward contingency used non-parametric permutation test.

Areas showed enhanced activation in rats with operant responding compared to controls without access to reward in the operant context: in the primary and the secondary motor cortices, the primary and the secondary somatosensory cortices, the medial part of the primary and the secondary visual cortices, parietal association cortex, temporal association cortex, insular cortex, and the retrosplenial agranular cortex, entorhinal and lateral entorhinal cortices, caudate - putamen, the core of the nucleus accumbens, lateral globus pallidus, lateral septum, hippocampus, basolateral and cortical amygdala and amygdalo-hippocampal area, posterior thalamus and in the colliculus superior. Comparing the signal intensities between the groups with operant responses and yoked controls, similarity in the activity pattern of the following areas were observed: in the primary and secondary motor cortices, the primary and secondary somatosensory cortices, the insular cortices, the primary and secondary visual cortices, the parietal association cortex, the temporal associations cortex and the lateral entorhinal cortex, in the amygdala and hippocampus. Differences were observed in the visual cortical areas, where lateral and medial parts were activated too. Additional differences were found in the activation in the auditory cortex, ecto-, perirhinal, retrosplenial cortex. Activation in the retrosplenial cortex was extended involving the granular cortex. Hippocampus was activated in the ventral region and activation was observed in the periaqueductal gray area.

The activity-induced MEMRI was a reliable method to visualize local brain activity related to the discriminative stimulus and the stimulus induced operant response in trained rats.

# HIDEG-AKTIVÁLT TRP CSATORNÁK (TRPM8 ÉS TRPA1) HŐSZABÁLYOZÁSI SZEREPE

**Garami András**

*Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Transzlációs Medicina Intézet,  
Termofiziológia Kutatócsoport, Pécs*

Szervezetünk testhőmérséklet szabályozás szempontjából szenzoros szerepet játszó molekulái, vagyis termoszenzorai, jelenleg nagyrészt ismeretlenek. Ezek a szenzorok felelősek hideg- és meleg környezetben a normál testhőmérséklet fenntartásáért autonóm és viselkedési termoeffektorok mechanizmusok aktiválása, illetve gátlása révén. A tranziens receptor potenciál (TRP) ioncsatornák azon alcsoportja, amelyek hőmérsékleti behatásokra - legalábbis in vitro - aktiválódnak, jelenleg is hőszabályozási kutatások tárgyát képezik. Közéjük tartozik a hideggel aktiválható TRP melastatin-8 (M8) és ankyrin-1 (A1) ioncsatorna.

Arra szerettünk volna választ kapni, hogy a TRPM8 és/vagy a TRPA1 ioncsatornák valamelyike szerepet játszik-e a testhőmérséklet fenntartásában egész testet érintő hideghatásban, mint valódi termoszenzor. A kérdés megválaszolásához a TRPM8 és a TRPA1 ioncsatornák szelektív és potens antagonistáit adagoltuk patkányoknak vagy egereknek és mértük az állatok testhőmérsékletének és termoeffektor aktivitásának változásait különböző kísérleti körülmények között. Farmakológiai gátlás helyett, más kísérletekben az ioncsatornától genetikusan megfosztott (knock out, KO) egerek termoregulációs tulajdonságait is vizsgáltuk.

A TRPM8 ioncsatorna esetében azt az eredményt kaptuk, hogy a TRPM8 farmakológiai gátlása jelentősen csökkentette a patkányok hideg-ellenes autonóm (csökkent hőleadás, fokozott hőtermelés) és viselkedési (meleg kereső magaratás) effektor mechanizmusait. Ezek a hatások TRPM8 KO egerekben nem alakultak ki, bizonyítva az anyag TRPM8-ra specifikus hatását. A TRPM8 ioncsatornával ellentétben, a TRPA1 ioncsatorna gátlása akár potens antagonistákkal, akár génkiütéssel nem befolyásolta a normál testhőmérsékletet sem neutrális, sem hideg környezeti hőmérsékleten.

Következtetésként levonhatjuk, hogy ha egy receptor hideg ingerekkel aktiválható in vitro, az még nem minden esetben jelenti, hogy az adott receptor hideg érzékelő funkciót tölt be a hőszabályozási rendszerben. Eredményeink alapján a TRPM8, mint fájdalomtalan hideg ingereket detektáló ioncsatorna a szervezet valódi hideg receptora. A TRPM8 csatornával ellentétben a TRPA1, ugyan aktiválható (fájdalmas) hideggel in vitro, hiánya azonban nem befolyásolja a szervezet hideggel szembeni ellenálló képességét, ezért ennek az ioncsatornának nincs valódi termoszenzor funkciója a szervezetben.

Támogatás: OTKA PD 105532.

# EXTRAHYPOTHALAMIKUS CORTICOTROPIN RELEASING FACTOR TARTALMÚ RENDSZEREK MŰKÖDÉSE A DEPRESSZIÓ HÁROM TALÁLAT ELMÉLETÉNEK EGÉRMODELLJÉBEN

**Gaszner Tamás,** Kovács László Ákos, Farkas József, Gaszner Balázs

*PTE-ÁOK Anatómiai Intézet*

A depresszió három találat elmélete szerint genetikai, epigenetikai és környezeti faktorok együttesen felelnek a betegség kialakulásáért. A hypothalamus-hypophysis-mellékvese tengely szerepe a stresszadaptációban jól ismert, azonban az extrahypothalamikus magok, mint az amygdala vagy a bed nucleus of stria terminalis (BNST) funkciója alig ismert.

Célunk volt létrehozni egy a depresszióknak megfelelő egérmodellt, hogy így vizsgálhassuk CRF tartalmú neuronok viselkedését az amygdalában és a BNST-ben.

PACAP heterozigóta egerektől származó egyedeket (genetikai faktor) tettünk ki különböző szintű anyai megvonásnak, hogy abban nem részesült állatokkal hasonlíthassuk össze azokat (epigenetikai faktor). A három hónapos egerek minden csoportjának felét krónikus variábilis enyhe stressznek tettünk ki (környezeti faktor). Az állatokat perfundáltuk, ezután eltávolítottuk az agyat és a mellékveséket. Az agykból készült metszeteken kettős CRF-FosB jelölést végeztünk, a többi eltávolított szerv illetve az állatok tömegét lemértük.

A mellékvesék tömege szignifikánsan magasabb volt a mindhárom találatot elszenvedett állatoknál, illetve ugyanezen egerekben mind a CRF pozitív sejtek száma, mind az egyes neuronok specifikus jelenlétének szignifikánsan magasabb volt a BNST-ben. A FosB tartalmú sejtek száma is ugyanilyen szignifikáns különbségeket mutatott.

Ezzel ellentétben az amygdalában a csak stressznek kitett állatok mutattak szignifikánsan emelkedett jelenlétet, ami a találatok számának növekedésével csökkent. A FosB pozitív sejtek száma az anyai megvonás mértékével párhuzamosan növekedett.

Összességében, az emelkedett mellékvese-, és csökkent testtömeg jelzi a megindult stresszadaptációt, azonban a szövettani eredmények a mindhárom találatot elszenvedett állatokban maladaptációt jeleznek. Ezek alapján a három találat elmélet szerint felállított állatmodell alkalmas lehet a depresszió további vizsgálatára.

# URINE/PLASMA NEUTROPHIL GELATINASE ASSOCIATED LIPOCALIN RATIO IS A SENSITIVE AND SPECIFIC MARKER OF SUBCLINICAL ACUTE KIDNEY INJURY IN MICE

**Godó Mária**<sup>1</sup>, Tamás Kaucsár<sup>1</sup>, Csaba Révész<sup>1</sup>, Miklós Kovács<sup>2</sup>, Attila Mócsai<sup>2</sup>, Mihály Albert<sup>3</sup>, Tibor Krenács<sup>4</sup>, Gábor Szénási<sup>1</sup>, Péter Hamar<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Institute of Pathophysiology, Semmelweis University, Budapest, Hungary*

<sup>2</sup>*MTA-SE „Lendület” Inflammation Physiology Research Group, Department of Physiology, Semmelweis University, Budapest, Hungary*

<sup>3</sup>*CEVA Phylaxia Ltd. Budapest, Hungary*

<sup>4</sup>*MTA-SE Tumor Progression Research Group, 1st Department of Pathology and Experimental Cancer Research, Semmelweis University, Budapest, Hungary*

**Background:** Detection of acute kidney injury (AKI) is still a challenge if conventional markers of kidney function are within reference range. We studied the sensitivity and specificity of NGAL as an AKI marker at different degrees of renal ischemia.

**Methods:** Male C57BL/6J mice were subjected to 10-, 20- or 30-min unilateral renal ischemia, to sham operation or no operation, and AKI was evaluated 1 day later by histology, immunohistochemistry, BUN, creatinine, NGAL (plasma and urine) and renal NGAL mRNA expression.

**Results:** A short (10-min) ischemia did not alter BUN or kidney histology, but elevated plasma and urinary NGAL level and renal NGAL mRNA expression although to a much smaller extent than longer ischemia. Surprisingly, sham operation elevated plasma NGAL and renal NGAL mRNA expression to a similar extent as 10-min ischemia. Further, the ratio of urine to plasma NGAL was the best parameter to differentiate a 10-min ischemic injury from sham operation, while it was similar in the non and sham operated groups.

**Conclusions:** These results suggest that urinary NGAL excretion and especially ratio of urine to plasma NGAL are sensitive and specific markers of subclinical acute kidney injury in mice.

# ATTENTION-DEPENDENT MEMBRANE POTENTIAL AND FIRING RATE MODULATION IN VISUAL CORTEX.

**Peyman Golshani**, Michael Einstein, Pierre-Olivier Polack  
*School of Medicine, University of California, Los Angeles*

The processing of sensory information by the cerebral cortex is highly dependent attentional states, but the mechanisms of underlying this modulation are not completely understood. To investigate these mechanisms and to understand how primary sensory and connected downstream structures differentially modulate their responses as attention shifts from one locus to another, we have developed a cross-modal attention task. In this behavior, for half the session, mice pay attention to visual stimuli while ignoring auditory stimuli to earn rewards. Midway through the session, they are cued to pay attention to auditory stimuli and ignore the visual stimuli. Mice can reliably perform the task after 3-4 weeks of training. We now show that visual cortical neurons show larger depolarizations to sensory input when mice pay attention to visual inputs than when they ignore visual inputs. To further investigate these mechanisms, we are performing in-silicon probe extracellular recordings of visual cortical responses in the two attentional conditions. We find higher visually evoked firing rates in visual cortical neurons during when animals attend to visual inputs than when they ignore visual inputs. The mechanisms underlying these attention-dependent membrane potential and firing rate changes are under active study.



# SEJT ALAPÚ TESZTRENSZEREK A KARDIOPROTEKTÍV GYÓGYSZEREK FEJLESZTÉSÉBEN: ÖSSEJTEK ÉS MESTERSÉGES SZÍVIZOMSZÖVETEK

**Görbe Anikó**<sup>1,2,8</sup>, Pálóczi János<sup>3</sup>, Ernesto Ruivo<sup>1</sup>, Gáspár Renáta<sup>1</sup>, Szántai Ágnes<sup>1</sup>, Varga V. Zoltán<sup>3</sup>, Pipis Judit<sup>1</sup>, Dinnyés András<sup>4</sup>, Sarkadi Balázs<sup>5</sup>, Rosalinda Madonna<sup>6</sup>, Thomas Eschenhagen<sup>7</sup>, Ferdinandy Péter<sup>2,8</sup>

<sup>1</sup>Szegedi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Biokémiai Intézet, Kardiovaszkuláris Kutatócsoport

<sup>2</sup>Semmelweis Egyetem, Farmakológiai és Farmakoterápiás Intézet, Budapest

<sup>3</sup>NIH/NIAAA, Rockville, USA

<sup>4</sup>Biotalentum Ltd, Gödöllő

<sup>5</sup>MTA, Membránbiológiai Kutatócsoport, Budapest

<sup>6</sup>D'Anuzzo University, Chieti, Olaszország

<sup>7</sup>UnivesitatKlinikum, Hamburg, Németország

<sup>8</sup>Pharmahungary csoport, Szeged, Budapest

A miokardium iszkémiát követő, reperfúziós károsodásának hátterében több, egymással összefüggő folyamat áll, melynek megértése és feltárása nélkülözhetetlen az effektív gyógymódok kifejlesztésében. A reperfúziós károsodás kivédésében jól ismertek olyan endogén protektív folyamatok, mint az iszkémiás és farmakológiai pre- és poszt kondicionálás valamint remote- kondicionálás. Azonban a kísérletes állatmodelleken jól működő védő mechanizmusok hatása gyakran elvész a kardiovaszkuláris betegségeket kísérő társbetegségekben, mint a diabetes mellitus, hiperlipidémia, öregedés. Emiatt elengedhetetlenül fontos, hogy már a gyógyszerfejlesztés korai fázisában olyan in vitro modelleken vizsgáljuk az endogén kardioprotektív mechanizmusokat, ahol a társbetegségek szimulálása egyszerűen és költséghatékonyan érhető el.

A gyógyszeres kardioprotektív beavatkozások mellett, a világszerte kísérleti fázisban van a különböző őssejt-prepatátumok alkalmazása a károsodott szívizom megújítására, illetve pótlására. Ezek a kísérleti eredmények azonban egyelőre kevésbé biztatóak és széleskörű alkalmazásuk még jelentős szakmai és technológiai fejlesztést igényel. Az őssejtek célzottan differenciált formái lehetővé teszik jól reprodukálható, standardizált in vitro sejt kultúra létrehozását, ahol a fent említett védő mechanizmusok jól vizsgálhatóak humán szöveti struktúrában is.

In vitro a neonatális és felnőtt primer izolált kardiomiociták mellett a kardiomiocita irányba differenciáltottnak embrionális és indukált pluripotens őssejtekből (iPS) differenciáltottnak kardiomiociták is hatékonyan vizsgálhatóak szimulált iszkémia/reperfúziós teszrendszerben. Korábbi munkáinkban sikerült a fenn említett sejt típusokon egy jól reprodukálható modellt létrehozni, melyben számos ismert kardioprotektív molekula (NO-donor, B-típusú nátriuretikus peptid, proteoglikánok) és potenciális gyógyszerjelölt hatásait vizsgáltuk. Alternatív sejt alapú rendszerként vizsgálhatóak tenyésztett 3 dimenziós szívszövetek, melyeken a szívizomsejt funkcionális paramétereinek monitorizálására is lehetőség nyílik. A teszrendszer további fejlesztése a komorbiditási faktorok in vitro szimulálása irányában bővül tovább.

Munkánk során egy olyan nagy áteresztőképességű sejt alapú teszrendszer hoztunk létre, amelyben a különböző típusú szívizomsejtenyészeteken költséghatékonyan és nagy áteresztőképességgel vizsgálhatóak.

# AZ INOZITOL LIPIDEK SZEREPE A K-RAS ÉS H-RAS FEHÉRJÉK INTRACELLULÁRIS LOKALIZÁCIÓJÁNAK SZABÁLYOZÁSÁBAN

**Gulyás Gergő<sup>1</sup>**, Radvánszki Glória<sup>1</sup>, Hunyady László<sup>1,2</sup>, Várnai Péter<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Élettani Intézet, Semmelweis Egyetem, Budapest

<sup>2</sup>MTA-SE Molekuláris Élettani Kutatócsoport, Budapest

A K-Ras és H-Ras fehérjék fontos jelátviteli molekulák, melyek a plazmamembrán (PM) belső felszínén helyezkednek el. A translációt követően mindkét protein C-terminális irányító-szekvenciája lipidmódosításokon megy keresztül, ami a H-Ras esetében elégséges a PM lokalizációhoz, azonban a K-Ras esetén egy elektrosztatikus interakció is szükséges a megfelelő elhelyezkedéshez. Ez a fehérje irányító-szekvenciájának pozitív töltésű aminosavai és negatívan töltött fosfolipidek között jön létre, melyek közül a foszfatidil-szerin, a foszfatidil-inozitol 4,5-biszfoszfát (PIP2), a foszfatidil-inozitol 4-foszfát (PI4P) és a foszfatidil-inozitol 3,4,5-triszfát (PIP3) találhatóak meg a PM-ban.

Munkánk során a fehérjék lokalizációjának változásait követtük a PM inozitol lipidjeinek csökkentése során, melyhez eltérő módszereket használtunk. 1.) hormonális ingerléssel aktiváltuk a PLC $\beta$  enzimet, 2.) rapamycin függő heterodimerizációs rendszerrel egy 4- és 5-foszfátáz aktivitással egyaránt rendelkező enzimet helyeztünk ki a PM-hoz, illetve 3.) 100 nM wortmanninnal gátoltuk a foszfatidil-inozitol 3-kinázt a PIP3 csökkentése céljából.

A fehérjék mozgását konfokális mikroszkóppal és biolumineszcencia rezonancia energiatranszferrel (BRET) követtük. A kísérletekben a Ras fehérjék irányító-szekvenciái mellett a teljes hosszúságú fehérjék mozgását is vizsgáltuk, melyeket fluoreszcens jelöléssel láttunk el. A BRET mérésekben a sejt endomembrán rendszereihez (endoplazmás retikulum (ER), Golgi, korai endoszóma, mitokondrium) Luciferáz enzimet irányítottunk. A kísérleteket tranziensen transzfektált HEK293T és COS-7 sejteken végeztük.

Kísérleteink során az irányító-szekvenciák és a teljes hosszúságú fehérjék vizsgálatok azonos eredményt kaptunk. A PM PIP2 és PI4P szintjeinek csökkentése után a K-Ras fehérje az ER-ra és a Golgira helyeződött át, azonban a PIP3 szint csökkentésének nem volt jelentős hatása. A H-Ras esetében ilyen mozgást nem tapasztaltunk. A transzlokáció a Golgi esetében kifejezettebb volt, melynek hátterében az organellum felszínének PI4P tartalma áll, ugyanis ennek csökkentésével a fehérje transzlokációja gátolható volt. A hormonális ingerlés során a K-Ras Golgin való megjelenése csak tranziens jellegűnek mutatkozott, azonban a PM foszfoinozitid szintjének reszintézisét gátolva fenntartottá vált. Ugyancsak csökkenthető volt az áthelyeződés a citoplazmatikus transzportot végző fehérjék kötőhelyének farmakológiai gátlásával, ami a transzlokáció útvonalát mutatja. Az áthelyeződés funkcionális következményeinek vizsgálatára pERK mérést végeztünk. Lipiddepléciót követően a pERK mennyiségének csökkenése mindkét fehérje esetén bekövetkezett, ami ugyan a folyamat direkt lipidfüggését mutatja, azonban ebben a K-Ras mozgásának jelentőségét nem sikerült kimutatni.

Eredményeink alapján a foszfoinozitidek fontos szerepet töltenek be a K-Ras fehérje sejten belüli elhelyezkedésének szabályozásában. Jövőbeli terveink között a funkcionális vizsgálatok folytatása szerepel.

# 19-NORTESZTOSZTERON SZÁRMAZÉKOK ANTIPROLIFERATÍV HATÁSA HUMÁN MALIGNUS SEJTVONALAKON

**Gyovai András**<sup>1</sup>, Minorics Renáta<sup>1</sup>, Bózsity Noémi<sup>1</sup>, Schneider Gyula<sup>2</sup>, Ocsovszki Imre<sup>3</sup>, Kiss Anita<sup>2</sup>, Zupkó István<sup>1</sup>

<sup>1</sup>SZTE, Gyógyszerhatástani és Biofarmáciai Intézet, Szeged

<sup>2</sup>SZTE, Szerves Kémiai Tanszék, Szeged

<sup>3</sup>SZTE, Biokémiai Intézet, Szeged

**Bevezetés:** Az utóbbi években több esetben számoltak be androsztán vázzal rendelkező molekulák tumorelles hatásáról. Munkánk célja újonnan szintetizált, eddig farmakológiailag nem jellemzett 19-nortesztozsteron származékok tumorelles hatásának vizsgálata volt humán adherens sejtvonalakon. Meghatároztuk a vizsgált tesztanyagok sejtosztódást gátló hatását, majd a legpotensebb tesztanyag esetében vizsgálatokat végeztük a tumorszelektivitás jellemzésére és a hatásmechanizmus feltárására.

**Módszerek:** A tesztanyagok antiproliferatív hatását MTT-teszt segítségével határoztuk meg cervix-, emlő- és ovarium karcinóma sejtvonalakon. A vizsgálatot intakt fibroblaszt sejtvonalon megismételve a potensebb tesztanyagok tumorszelektivitásáról kaptunk információt. A legpotensebb antiproliferatív hatással rendelkező tesztanyag membránkárosító hatását LDH teszt segítségével határoztuk meg. A tesztvegyület apoptózist indukáló hatását fluoreszcens kettős festéssel és kaszpáz enzimek aktivitásának mérésével mutattuk ki. A sejtciklusban bekövetkező változásokat áramlási citometria segítségével vizsgáltuk. A tesztanyag mikrotubulusokra kifejtett hatását in vitro tubulin polimerizációs teszttel határoztuk meg.

**Eredmények:** A vizsgált tesztanyagok közül három (17 $\alpha$ -klór- (1), 17 $\alpha$ -bróm- (2), 17 $\alpha$ -jód-19- nortesztozsteron (3)) mutatott kifejezett antiproliferatív hatást HeLa sejtvonalon (IC<sub>50</sub>: 1,2–1,7  $\mu$ M), ezek mindegyike tumorszelektívnek (IC<sub>50</sub> > 30  $\mu$ M, fibroblaszt) bizonyult. A legpotensebb tesztanyag (1: IC<sub>50</sub>: 1,2  $\mu$ M, mérsékelt membránkárosító hatással) hatásmechanizmusának vizsgálata során igazoltuk annak sejtciklusra gyakorolt hatását, a vegyület már alacsony koncentrációban is megzavarta a sejtciklust, a G<sub>2</sub>/M ill. S sejtpopuláció felszaporodását idézte elő. A hipodiploid (szubG<sub>1</sub>) populáció emelkedése a vegyület apoptózist indukáló hatására utal. A programozott sejthalál indukcióját a morfológiai vizsgálatok is megerősítették. A kaszpáz-3 és -9 enzimek aktivitásának szignifikáns növekedése, valamint a kaszpáz-8 enzim változatlan aktivitása az apoptózis mitokondriális útjának aktiválását bizonyítják. A legpotensebb vegyület a tubulin polimerizációra közvetlen módon hat, annak sebességét fokozza sejtmertes in vitro rendszerben.

**Konklúzió:** A vizsgált 19-nortesztozsteron származékok eredményei alapján megállapítható, hogy a kifejezett antiproliferatív hatás kifejtésében az  $\alpha$  térállású C<sub>17</sub>-es halogén szubsztituens esszenciális szerepet tölt be. A legpotensebb antiproliferatív hatással rendelkező tesztanyag bizonyítottan apoptózist indukáló és mérsékelt citotoxikus hatással rendelkezik. Közvetlen módon befolyásolja a mikrotubulusok polimerizációját, zavart okozva a citoskeletális működésben, mely feltételezhetően felelős a sejtciklus folyamatának megrekedéséért és a programozott sejthalál beindításáért.

Köszönet illeti a munka támogatóit: Richter Gedeon Talentum Alapítvány (Bózsity N, Kiss A), Bolyai János Kutatási Ösztöndíj (Minorics R), OTKA (K109293, Zupkó I).

# A HEMOXIGENÁZ-1 ÉS AZ AUTOFÁGIA KAPCSOLATÁNAK VIZSGÁLATA SZÍVIZOMSEJTEKEN

**Gyöngyösi Alexandra**, Nagy Máté, Szőke Kitti, Czompa Attila, Zilinyi Rita, Tósaki Árpád, Lekli István

*Debreceni Egyetem Gyógyszerésztudományi Kar Gyógyszerhatástani Tanszék*

A szív-és érrendszert érintő megbetegedések a mai napig komoly népegészségügyi problémát jelentenek, melynek hátterében leggyakrabban a szívizom iszkémia áll. Az iszkémiás szívelégtelenségek vonatkozásában már több kutatócsoport is igazolta mind a hemoxigenáz-1/CO rendszer megemelkedett aktivitásának, mind pedig a bizonyos mértékig megnövekedett autofágia folyamatának citoprotektív hatását. Az azonban még kevésbé tisztázott, hogy van-e kapcsolat szívizomban a hemoxigenáz-1/CO rendszer és az autofágiás folyamatok között.

Munkánk során, a kutatócsoport heminnel kapcsolatos korábbi eredményeire alapozva, vizsgáltuk a hemoxigenáz indukálható izoenzimje, a hemoxigenáz-1, hemin által indukált megemelkedett expressziója és az autofagoszómák képződése közötti kapcsolatot.

Kísérleteinket patkány embrionális H9c2 kardiomioblaszt sejtvonalon végeztük. A 24 órás kezelések három csoportban történtek. A szívizomsejteket 100 $\mu$ M hemin oldattal, heminnel egyenlő térfogatú 20mM-os NaOH-dal kezeltük, míg a kontroll csoportot kezeletlen sejtek képezték. A sejtek kezelését követően MTT módszerrel mértük azok életképességét. A sejtek méretének esetleges változását fluoreszcens festékekkel konjugált falloidinnel detektáltuk. CytolD festést követően áramlási citométer segítségével megvizsgáltuk a kezelések hatására megnövekedett autofágiát mutató sejtek arányát, illetve az autofagoszómák jelenlétét fluoreszcens mikroszkóppal. A HO-1 expressziójának tényleges emelkedését Western-blottal tanulmányoztuk, továbbá azt, hogy a HO-1 emelkedése befolyásolta-e egyes autofágiás markerek szintjét.

Eredményeink alapján elmondható, hogy a 100  $\mu$ M hemin oldat sikeresen indukálta a hemoxigenáz-1 fehérje szintjének emelkedését. A kezelés hatására kis mértékben csökkent a sejtek életképessége, azok méretében viszont nem történt számottevő változás. CytolD festést követően, mind fluoreszcens festést követően, mind áramlási citométer segítségével az autofagoszómák fokozott jelenlétét tapasztaltuk. Összességében elmondható, hogy a HO-1 fokozott expressziója és az autofágia folyamata között kapcsolat áll fenn, azonban a kapcsolat mibenlétének pontosabb tisztázása még további kísérleteket tesz szükségessé.

Támogatás: OTKA PD 111794, K 104017, TÁMOP-4.2.4.A/2-11/1-2012-0001, TÁMOP-4.2.2.B-15/1/KONV-2015-0001

# A SEPTINEK ÉS A RAKTÁR ÁLTAL VEZÉRELT KALCIUMBELÉPÉST (SOCE) SZABÁLYOZÓ FEHÉRJÉK KAPCSOLATÁNAK VIZSGÁLATA HUMÁN MELANOMA SEJTVONALAKBAN

**Hajdú Tibor**, Takács Roland, Juhász Tamás, Zákány Róza  
*Debreceni Egyetem ÁOK Anatómiai, Szövet- és Fejlődéstani Intézet*

Napjainkban az eukariótákban erősen konzervatív fehérjecsaldhoz tartozó septin fehérjéket egyre inkább a citoskeleton új komponenseiként tartják számon. Valamennyi septin GTP-kötő fehérje, jellemzően hetero-oligomer komplexeket képeznek, illetve magasabbrendű struktúrákat alkothatnak (például filamentumokat, gyűrűket). A septinek plazmamembrán doméneket alkotnak az endoplazmás retikulum pontáinak közelében, amik a STIM1 - ORA1 szignalizációban jelentős szerepet játszhatnak. Bizonyos septin típusok csendesítése (2-es, 4-es és az 5-ös) vagy átrendeződésük inhibíciója gátolja a raktár által vezérelt kalciumbelépést (SOCE), illetve annak downstream jelátviteli folyamatait.

A septinek szerepe a melanoma biológiájában ezidáig „tudományos fehér foltként” szerepel. Irodalmi és saját adatok alapján jó okunk van feltételezni, hogy a septinek a SOCE befolyásolásán keresztül hatással lehetnek ezen sejtek migrációs és metasztázis képző képességére.

Laboratóriumunkban két melanoma sejtvonal (HT199 és WM35) septin és SOCE génjeinek mRNS és fehérje expressziós profilját vizsgáltuk meg reverz transzkripció PCR-rel, Western blottal illetve immuncitokémiai reakciókkal. A septinek összerendeződését gátló, forchlorfenuron (FCF) nevű anyag hatásait is vizsgáljuk a melanoma sejteken: 4 órás inkubációt követően MTT, proliferációs, apoptózis-nekrózis, migrációs és inváziós assay-t végzünk, valamint megvizsgáljuk a sejtek Ca<sup>2+</sup>-oszillációit is PTI segítségével. Az FCF kezeléssel kapcsolatos kísérleteink az absztrakt írásának időpontjában még folyamatban vannak.

A 2-es, 4-es és 5-ös septin valamint az Orai (1, 2, 3) és STIM (1, 2) génjeinek mRNS expressziója közel azonos mértékűnek mondható a vizsgált melanoma sejtvonalakban. A WM35 sejtvonal, melyet in situ melanomából izoláltak, expresszálja a septin 2-es, 4-es és 5-ös fehérjéket, azonban ez a kifejeződés lényegesen gyengébbnek mutatkozik, mint az agresszívabb, metasztatizáló melanomából előállított HT199 sejtvonalnál tapasztalt. Az Orai Ca<sup>2+</sup>-csatorna fehérjék szintén jelen vannak melanomában, a két sejtvonal expressziós mintázata hasonló a septinekéhez. A STIM fehérjék kifejeződése közt azonban nincs különbség, hasonló erősséggel jelennek meg WM35-ben és HT199-ben.

Eddig kapott eredményeink azt mutatják, hogy a melanoma sejtekben a SOCE-kapcsolt septinek és SOCE fehérjék egyaránt kifejeződnek. További kísérleteinkkel igazolni szeretnénk a SOCE fehérjék funkcionalitását, valamint a septin és SOCE fehérjék közti kapcsolatot.

# A MELANOMA SEJTEK NMDA RECEPTOROKRÓL ÁLMODNAK?

**Hajdú Tibor**, Juhász Tamás, Zákány Róza

*Debreceni Egyetem ÁOK Anatómiai, Szövet- és Fejlődéstani Intézet*

Az NMDA típusú glutamát receptorok (NMDAR) diheterotetramer szerkezetű, nem szelektív kationcsatornák, melyek elsősorban  $Ca^{2+}$ -ra permeábilisak. NR1, NR2 és NR3 alegységekből épülhetnek fel. Az 1-es alegység elengedhetetlen a csatorna létrehozásához és emellett nukleáris lokalizációs szignált (NLS) tartalmazhat, mely lehetővé teszi a sejtmagba történő bejutást. NMDAR-okat számos daganatban leírtak az elmúlt bő évtizedben. Célunkként tűztük ki, hogy megvizsgáljuk az NMDAR alegységek jelenlétét és potenciális szerepét melanoma sejtvonalakban.

Kísérleteinkhez öt különböző humán melanoma sejtvonalat (A2058, HT168M1, HT199, M36/01, WM35) és normál humán epidermális melanocytákat (NHEM) használtunk. A receptor alegységek mRNS expresszióját RT-PCR segítségével vizsgáltuk. Melanoma sejtek különböző frakcióiból (citoszol, sejtmag, membrán) kapott lizátumokon és melanocyták teljes sejt lizátumán végzett Western blotokkal ellenőriztük a fehérjék expresszióját. A szubcelluláris lokalizációt fluoreszcens immuncitokémiai reakciókkal vizsgáltuk. Különböző agonista és antagonistá kezelések követően határoztuk meg a sejtek életképességének és osztódóképességének megváltozását.

PCR-ral igazoltuk valamennyi alegység típus jelenlétét a sejtvonalakban. A Western blot kísérletek bizonyították, hogy az NR1 és NR3 alegységek a melanoma sejtek minden vizsgált frakciójából kimutathatóak. Ezzel szemben melanocytákban csak az NR2A és NR1-NLS alegységek expresszióját figyelhettük meg, mely teljes sejt lizátumban is gyengébb expresszióknak mutatkozik, mint a melanoma sejtek szeparált frakcióiban. Az immuncitokémiai reakciók alapján megközelítőleg a melanoma sejtek 85%-a NR1, 65%-a NR1-NLS ítéhető pozitívnak. Körülbelül a sejtmagok 60%-a pozitív mindkét antitest esetében. Az NR1-NR3 összetételű NMDAR-ok alternatív glicin receptorokként működhetnek. Az MTT assay statisztikai elemzése szignifikáns növekedést mutatott glicin+sztrichnin, valamint glicin+sztrichnin+glutamát kombinált kezeléseket követően ( $n=12$ ,  $p\leq 0.05$ ). A proliferációs assay kiértékelése során szignifikáns eltérést nem tapasztaltunk egyik kezelés hatására sem ( $n=12$ ,  $p\leq 0.05$ ). Eredményeink azt sugallják, hogy a melanoma sejtekben/magjában nem szokványos összetételű NMDAR-ok lehetnek jelen. Ezek a receptorok részt vehetnek valamely glicin-kapcsolt jelátvitelben, amely a daganatsejtek életképességével állhat összefüggésben.

Támogatás: GOP-1.1.1-11-2012-0197, TÁMOP-4.2.2.B-15/1/KONV-2015-0001

# CAPILLARY RAREFACTION AND LYMPHANGIOGENESIS ARE KEY FACTORS OF RENAL ALLOGRAFT FIBROSIS IN AN ACE INHIBITION RAT MODEL

**Hamar Péter**<sup>1</sup>, Dontscho Kerjaschki<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Institute of Pathophysiology, Semmelweis University, Budapest, Hungary*

<sup>2</sup>*Institute of Pathology, University of Vienna, AKH, Vienna, Austria*

Chronic allograft fibrosis is the major cause of graft loss in kidney transplantation. Progression can be reduced only by inhibition of the renin-angiotensin system (RAS) that alleviates the hyperfiltration-induced intra-glomerular pressure increase. We tested the hypothesis, that ACE inhibition is protective through influencing capillary rarefaction, lymphangiogenesis and glomerular podoplanin in allograft fibrosis.

Fisher kidneys were transplanted into bilaterally nephrectomized Lewis rats treated with enalapril (60mg/kg/day) (ACEi) or vehicle. Proteinuria, blood urea nitrogen and plasma creatinine were regularly assessed and grafts were harvested for morphological and immunohistological analysis at different time points up to 32 weeks.

We observed lymphatic capillaries and severe and diffuse mononuclear infiltration of allografts 1 week after transplantation. Lymphangiogenesis increased till week 4 by which time inflammatory infiltration became focal. Lymphatic capillaries were often located at sites of inflammation. On the other hand, blood capillaries were reduced in number and became less regular in fibrotic grafts. Podoplanin staining of glomeruli disappeared from inflamed or sclerotic glomerular areas. ACEi treatment protected from lymphangiogenesis and associated inflammation, preserved glomerular podoplanin, reduced glomerulosclerosis, proteinuria, tubulointerstitial fibrosis and blood capillary rarefaction at 32 weeks.

In conclusion, reduction of lymphangiogenesis was associated with amelioration of fibrosis after ACE inhibition. Prevention of glomerular podoplanin loss and proteinuria could be attributed to the known intra-glomerular pressure lowering effects of ACE inhibition. Less proteinuria was accompanied by reduced lymphangiogenesis, inflammation, fibrosis and blood capillary rarefaction.

# MIKROSÉRÜLÉS MARKEREK NYOMON KÖVETÉSE EGY RÖVIDTÁVÚ ERŐFEJLESZTŐ EDZÉSPROGRAMBAN IDŐS ÉS FIATAL EMBEREKNÉL

Heckel Zoltán<sup>1,5</sup>, Atlasz Tamás<sup>2</sup>, Tékus Éva<sup>1</sup>, Kőszegi Tamás<sup>3</sup>, Laczkó József<sup>4</sup>, Váczi Márk<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Pécsi Tudományegyetem, Egészségtudományi Doktori Iskola, Pécs

<sup>2</sup>Pécsi Tudományegyetem, Sporttudományi és Testnevelési Intézet, Pécs

<sup>3</sup>Pécsi Tudományegyetem, Laboratóriumi Medicina Intézet, Pécs

<sup>4</sup>Pécsi Tudományegyetem, Matematikai és Informatikai Intézet, Pécs

<sup>5</sup>Pázmány Péter Katolikus Egyetem Vitéz János Tanárképző Intézet, Esztergom

Vizsgálatunkban arra kerestük a választ, hogy idős emberek izomzata hogyan reagál erőfejlesztő edzés hatására a mikrosérülések kialakulása, illetve a regeneráció tekintetében a fiatal felnőttek izomzatához képest.

**Módszerek:** A kutatásban tíz fizikailag aktív idős személy (életkor:  $64,5 \pm 5,5$  év, testmagasság:  $176,2 \pm 8,8$  cm, testsúly:  $80,3 \pm 10$  kg) és tíz fiatal személyből álló kontroll csoport (életkor:  $25,1 \pm 4,9$  év, testmagasság:  $176 \pm 9$  cm, testsúly:  $72,4 \pm 17,6$  kg) vett részt. A vizsgálati személyek két héten keresztül összesen hat alkalommal arányosan elosztva, alkalmanként  $4 \times 15$  excentrikus-koncentrikus kontrakciót (térdnyújtást) végeztek Multicont II. számítógép vezérlésű dinamometeren, melynek mindegyikét maximális erővel kellett végrehajtani. A kutatásban az edzések előtt, 24 és 48 óra elteltével, valamint 1 héttel és 2 héttel az első edzést követően olyan izommechanikai változókat mértük, mint a térd extensor izmainak maximális izometriás forgatónyomatéka (MVC) 70o-os ízületi szögben, nyomatékkifejtési meredeksége (RTD).

Meghatároztuk továbbá a maximális nyújtásos-rövidüléssel szembeni kontrakció (SSC) során a különböző munkavégzési paramétereket, valamint az izom elasztikus energiatárolási képességét. A felmérések során EMG jeleket rögzítettünk a térdfesztető izmok elektromos aktivitásának meghatározására. Az izomerő vizsgálatokkal megegyező időben meghatároztuk a vér szérum kreatin kináz (CK) valamint mioglobulin (Mb) koncentrációját, illetve kérdeztük a térdfesztető izomokban érzékelt szubjektív fájdalomérzetet.

**Eredmények:** Az MVC és az edzésen kifejtett teljesítmény mindkét csoportnál szignifikánsan csökkent 24 és 48 óra elteltével, majd a program végén visszatért a kiinduló szintre. A CK 24 óra elteltével mindkét csoportban szignifikánsan emelkedett (a két csoportban átlagosan 33%-os emelkedés). Mindezen paraméterek tekintetében az idő és csoport között nem volt szignifikáns az interakció. A résztvevők nagy része kis fokú fájdalomérzetről számolt be az első edzést követő 24 és 48 órában. Az izom elektromos aktivitásának tekintetében az idő hatás nem volt szignifikáns viszont a csoport között közel szignifikáns interakciót találtunk. ( $P=0,079$ )

**Következtetés:** Az adatokból következtetve mindkét csoportnál valószínűsíthetjük a mikrosérülések kialakulását a térdfesztető izomban a jelentős erődeficit, valamint a fájdalomérzet kialakulása, és az emelkedett CK miatt. A statisztikai adatok azt mutatják, hogy a két csoport közel azonosan reagált mind a mikrosérülések kialakulására, és a regeneráció időbeli lefolyására tekintetében a vizsgálat során, bár a regeneráció üteme lassabbnak bizonyult az idős személyeknél, viszont a különbség nem volt szignifikáns. Az EMG mérések vonatkozásában az a tény, hogy a fiatal csoport az ismételt terhelésnél fokozottabb aktivitást mutatott, arra enged következtetni, hogy a fiatal izomban az idősödő izomhoz képest jelentősebb a mikrosérülések kompenzálására adott neurális válasz.

Kulcsszavak: öregedés, mikrosérülések, erőfejlesztő edzés



# TRANSZLÁCIÓ A PANCREATOLÓGIÁBAN: A MITOCHONDRIALIS KÁROSODÁS ÉS AZ ENERGIA KULCSSZEREPE AKUT PANCREATITISBEN

**Hegyi Péter**

*PTE, ÁOK, Transzlációs Medicina Intézet PTE, KK, I.sz. Belgyógyászati Klinika, Transzlációs Medicina Tanszék*

Az akut pancreatitis (AP) a hasnyálmirigy gyulladásos megbetegedése, melynek napjainkig is elfogadhatatlanul magas a halálozása. A legutóbbi nemzetközi és magyar adatok alapján a súlyos AP halálozása 25-50% közé tehető (Magyarországon 28%). Számos tanulmány, beleértve munkacsoportunk munkáit is, alátámasztották, hogy a korai mitochondriális károsodás, intracellularis ATP csökkenés illetve bikarbonát szekréció károsodása jelentős szerepet tölt be a betegség kialakulásában. Ezért úgy gondoljuk, hogy a sejtek energia szintjének visszaállítása kulcsfontosságú lehet a hasnyálmirigy gyulladás kezelésében. Alaputatási eredményeink alapján igazoltuk, hogy a sejtekbe történő ATP bevitel jelentősen csökkentette a sejtkárosodást. Klinikai vizsgálatainkban a korai jelentős energia bevitel szintén jelentősen javította a betegség lefolyását és csökkentette a betegek hospitalizációjának idejét is. További randomizált klinikai vizsgálatokat tervezünk az AP terápiájához szükséges energia mennyiségének meghatározásához.

# INTRANASALISAN ADOTT PACAP HATÁSA AZ OVULÁCIÓRA

Köves Katalin, **HeinzImann Andrea**

*SE, Anatómia, Szövet- és Fejlődésbiológiai Intézet*

A PACAP gonadotrop hormon szekrécióra kifejtett hatása jól ismert. Munkacsoportunk korábbi kísérletei bebizonyították, hogy nőstény patkányokban a proestrus délutánján a kritikus periódus előtt intracerebroventricularisan (icv) adott PACAP38 gátolja az LH – csúcsot és a másnap esedékes ovulációt. A PACAP38 ovuláció gátló hatását intranasális (in) adás után is megvizsgáltuk. A PACAP38 orron keresztül történő felszívódásának elősegítésére beta - cyclodextrint ( $\beta$  - CD) választottunk. Mivel korábban csak a CD ösztrogén orron keresztül történő felszívódására gyakorolt hatását vizsgálták, ezért jelenlegi munkák célja nem csak a PACAP38 in beadás okozta ovulációra kifejtett hatásának vizsgálata volt, hanem megvizsgáltuk azt is, hogy az inadott  $\beta$  - CD önmaga hatást gyakorol - e az ovuláció kiváltásához szükséges LH – csúcsra, valamint az ovulációra. Kísérleti eredményeink alapján elmondhatjuk, hogy míg a PACAP 7/16 állatban blokkolta az ovulációt, addig a CD önmagában 5/6 állatban, a kettőt együtt adva 3/10 állatban. Eredményeink arra engednek következtetni, hogy in adott drogok képesek gátolni az ovulációt és felhívják arra a is figyelmet, hogy a CD – nek önmagában is súlyos endokrin mellékhatásai lehetnek.

# A SZOMATOSZTATIN 4 RECEPTOR SZEREPE AKUT ÉS KRÓNIKUS STRESSZ-FOLYAMATOK SZABÁLYOZÁSÁBAN EGÉRMODELLEKBEN

Scheich Bálint<sup>1,2,3</sup>, Csekő Kata<sup>1,2,3</sup>, Kormos Viktória<sup>1,2,3</sup>, László Kristóf<sup>4</sup>, Borbély Éva<sup>1,2,3</sup>, Hajna Zsófia<sup>1,2,3</sup>, Tékus Valéria<sup>1,2,3</sup>, Bölcskei Kata<sup>1,2,3</sup>, Ádori Csaba<sup>5</sup>, Csernus Valér<sup>6</sup>, Pintér Erika<sup>1,2,3</sup>, Szolcsányi János<sup>1,2,3</sup>, Ábrahám István<sup>2,3,4,7</sup>, Gaszner Balázs<sup>2,3,6</sup>,

**Helyes Zsuzsanna<sup>1,2,3,8</sup>**

<sup>1</sup>Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet, Pécsi Tudományegyetem ÁOK, Pécs

<sup>2</sup>Szentágothai János Kutatóközpont, Pécsi Tudományegyetem, Pécs

<sup>3</sup>Idegtudományi Központ, Pécsi Tudományegyetem, Pécs

<sup>4</sup>Élettani Intézet, Pécsi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Kar, Pécs

<sup>5</sup>Department of Neuroscience, Karolinska Institutet, Stockholm, Svédország

<sup>6</sup>Anatómiai Intézet, Pécsi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Kar, Pécs

<sup>7</sup>MTA-PTE NAP B, Molekuláris Neuroendokrinológia Kutatócsoport

<sup>8</sup>MTA-PTE NAP B, Krónikus Fájdalom Kutatócsoport

A GABA-erg interneuronok egy populációjából felszabaduló gátló neuropeptid, a szomatosztatin stressz-szabályozásban és ehhez kapcsolódó betegségben (pl. szorongás, depresszió) betöltött szerepét számos adat bizonyítja. Ennek ellenére nagyon kevés információ áll rendelkezésre a hatásait közvetítő receptorokra (sst1-sst5) vonatkozóan. Az sst4 receptor endokrin hatásokat nem közvetít, azonban gyulladáscsökkentő és fájdalomcsillapító szerepe jól ismert. Mivel kimutatták néhány hangulat-szabályozásban szerepet játszó agyterületen, kísérleteinkben e receptor jelentőségét vizsgáltuk stressz-folyamatokban.

Akut és krónikus stresszorra adott válaszokban az sst4 szerepét vad típusú (Sstr4+/+) és Sstr4 génhányos (Sstr4-/-) egerekkel, valamint szelektív agonistával (J-2156) vizsgáltuk. Akut stresszben a szorongást az emelt keresztpalló tesztben (EPM), a depresszió-szerű viselkedést (immobilitást) a tail suspension (TST) és forced swim tesztekben (FST) mértük. Krónikus variábilis stresszben (KVS) az anhedóniát szacharóz preferencia tesztben (SPT), a szorongást sötét-világos doboz tesztben (SVD), a depresszió-szerű viselkedést TST-ben és FST-ben vizsgáltuk. Detektáltuk a KVS-re adott endokrin válaszokat is. TST-t követően az akut neuronális aktivációt Fos, a KVS után a krónikus aktivációt FosB immunhisztokémiával határoztuk meg a stressz-szabályozásban jelentős agyi struktúrákban. Az amygdalában sst4LacZ immunjelöléssel mutattuk ki az sst4 expressziót Sstr4-/- egerekben.

Az Sstr4-/- egerek szorongása EPM-ben és immobilitása FST-ben szignifikánsan nagyobb volt, mint a vad típusúaké. A J-2156 EPM-ben szorongáscsökkentő, TST-ben antidepresszáns-szerű hatást fejtett ki és növelte a TST-re adott Fos választ számos agyterületen, így a centrális (CeA) és basolateralis amygdala-ban (BLA). A CeA-ban és a BLA-ban erős sst4LacZ immunpozitivitás volt kimutatható. A KVS után SVD-ben a fénypreferencia fokozódott Sstr4+/+ állatokban, Sstr4-/- egerekben azonban nem változott. Az Sstr4-/- egerek immobilitása TST-ben a KVS után megnőtt, míg FST-ben a vad típusúakéhoz képest nagyobb kezdeti immobilitás csökkent. Az anhedóniát sem a KVS sem az Sstr4-hiány nem befolyásolta. A KVS Sstr4-/- egerekben nagyobb mértékben növelte a mellékvese súlyt, mint az Sstr4+/+ csoportban. Az Sstr4-/- állatok plazma kortikoszteron koncentrációja magasabb volt a Sstr4+/+ egerekénél, azonban a KVS után egyik csoportban sem változott. A KVS Sstr4-/- egerekben növelte, míg vad típusúakban nem befolyásolta a FosB expressziót a CeA-ban és a BLA-ban.

Elsőként bizonyítottuk, hogy az sst4 aktivációja szorongáscsökkentő és antidepresszáns-szerű hatásokat fejt ki akut stressz-folyamatokban. A krónikus stresszre adott viselkedés és neuroendokrin válaszokat az sst4 komplexen befolyásolja. Az sst4 kimutatható az egér CeA-ban is, ahol a receptor hiánya és szelektív aktivációja befolyásolja a stresszre adott neuronális válaszokat. Mindez arra utal, hogy CeA-ban lévő sst4 receptor fontos szerepet játszik stresszben.

Támogatás: Nemzeti Agykutatási Program B KTIA\_NAP\_13-2014-0022 (MTA-PTE NAP B, Krónikus Fájdalom Kutatócsoport: 888819).

# GRID-MINTÁZATÚ DENDRITIKUS KLASZTEREKRE ÉRKEZŐ SEJT-SPECIFIKUS INPUT A PATKÁNY ENTORHINÁLIS KÉRGÉBEN

**Henn-Mike Nóra**<sup>1,2</sup>, Krabóth Zoltán<sup>1</sup>, Sebestyén Hédi<sup>1</sup>, Kecskés Miklós<sup>1</sup>, Varga Csaba<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Pécsi Tudományegyetem, Szentágothai János Kutatóközpont, Neuronális hálózatok kutatócsoport

<sup>2</sup>Magyar Tudományos Akadémia, Támogatott Kutatócsoportok Irodája, Entorhinális kérgi neuronhálózatok kutatócsoport

A sikeres térbeli tájékozódáshoz ismernünk kell saját, pillanatról pillanatra változó térbeli elhelyezkedésünket, amelyet agyunk abstract formában tárol, megjelenít. Ezen reprezentációs forma legmarkánsabban az entorhinális kéregben elhelyezkedő grid-sejtekben nyilvánul meg. A grid sejtek ismétlődő, hexagonális térbeli tüzelési mintázatot mutatnak tájékozódás és a környezet felfedezése során. Ezt a mintázatot egyetlen ide érkező bemenet sem tartalmazza, ezért feltételezzük, hogy az entorhinális kéregre jellemző input és belső hálózati rendszer együtt felelős a grid kialakulásáért. Célunk annak a hálózati rendszernek a megértése, amely e sajátos tüzelési mintázatot kialakítja.

Korábbi kutatások leírták, hogy az entorhinális kéreg második rétegében a calbindin-pozitív piramis sejtek sziget-szerű csoportosulásokat alkotnak. Erre a megfigyelésre számos grid-sejt modell alapult, viszont ebből a mintázatból nem vezethető le a mélyebb rétegi sejtek grid aktivitása. Vizsgálatainkban Wistar patkányok entorhinális kérgi régiójának tangenciális metszetein az találtuk, hogy a harmadik rétegében található, homogén eloszlású piramis sejtek apikális dendritjei hexagonálisan elrendezett kötegekbe rendeződnek. Kolokalizációs kísérleteinkben kimutattuk, hogy ezen dendrit kötegekkel egybeesik egy glutamáterg szinapszis marker, a VGLUT2. Elektronmikroszkópos felvételeink megerősítik, hogy a harmadik rétegi piramissejtek tüskéit innerválják a VGLUT2+ boutonok. Ezzel szemben calbindin-pozitív sejtek dendritjein nem sikerült VGLUT2+ szinapsziseket kimutatni.

A legtöbb neokortikális régió a VGLUT2+ innervációt a thalamuszból kapja. Ezzel szemben az entorhinális kéreg nem, vagy alig kap közvetett inputot a thalamuszból. A thalamikus információ először a preszubikulumba érkezik, ahonnan erőteljes innervációt kap az entorhinális kéreg. Vizsgálataink alapján valószínűsítjük, hogy az entorhinális kérgi harmadik rétegi piramissejteket innerválják a presubiculumból érkező excitatórikus inputok. Ezen input tartalmazza az ún. head-direction információt, amely nagyban hozzájárul a grid mintázatú tüzelés kialakulásához.

# KÉTOLDALI JÁRULÉKOS VESEEREK TÖBBSZÖRÖS ELŐFORDULÁSÁNAK ESETISMERTETÉSE

**Hollósy Tibor**, Horváth Judit, Reglődi Dóra

*Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Anatómiai Intézet*

A vese és ereinek fejlődése és ennek megfelelően a vese anatómiája és vérellátása meglehetősen komplex folyamat. Ennek során számos fejlődési rendellenesség kialakulhat, akár a vese szerkezetében, akár a vese érrendszerében vagy a vizeletelvezető apparátusban. A fejlődés során kialakulhatnak - nem feltétlenül kóros következményekkel járó - anatómiai variációk is, melyek leggyakrabban a vese artériáit érintik. Ezek a variációk nagyon fontosak a vese sebészetében és a transzplantációban egyaránt. A vesék a metanephrosból a caudalis regioban fejlődnek, később felfelé vándorolnak. A medencében a fejlődő vese az aorta lateralis visceralis segmentalis ágaiból kapja a vérellátását. Felszállása közben a vérellátást az aorta abdominalis magasabb szakaszai, illetve annak folyamatosan kialakuló segmentális ágai biztosítják. Ezzel egyidőben az alacsonyabb helyzetű artériák visszafejlődnek, de olykor meg is maradhatnak.

Az irodalom szerint a járulékos veseartéria előfordulása kiemelkedően magas, 30-35% , melyek többsége a bal oldalon fordul elő. Kétoldali variációk 10%-ban, egyoldali variációk 21%-ban fordulnak elő. Két járulékos artéria 6-8%-ban található. Olyan eset, hogy egy oldalon négy veseartéria legyen, csak 0,4-0,5%-ban írtak le.

Esetünkben (90 éves férfi, akinek kórtörténete nem utalt vesével kapcsolatos megbetegedésre) a bal oldalon négy veseartériát találtunk, melyek közül a legfelső felel meg a szokásos anatómiai helyzetnek. A jobb oldalon egy járulékos veseartéria alakult ki. Mindegyik veseartériát a megfelelő vesevéna kíséri. Ezeken kívül a bal oldalon a hilus renalis a vese ventralis felszínére került, és a pelvis renalis egy része a vesekapun kívül helyezkedik el. Mivel a distalisabb helyzetű veseartériák nem szívódtak fel, a felfelé vándorlás is akadályozott volt, ezért a vesék alakja is elnyújtottabb, alsó pólusuk a szokásosnál distalisabban helyezkednek el.

# PATKÁNY CINGULÁRIS KÉRGI GLUKÓZ-MONITOROZÓ NEURONOK ELEKTROFIZIOLÓGIAI SAJÁTÓSÁGAI ÉS METABOLIKUS JELENTŐSÉGE

**Hormay Edina**<sup>1</sup>, Csetényi Bettina<sup>1</sup>, Szabó István<sup>1</sup>, Karádi Zoltán<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Élettani Intézet, Pécs

<sup>2</sup>PTE Szentágotthai János Kutatóközpont, Molekuláris Neuroendokrinológia és Neurofiziológia Kutatócsoport, Pécs

**Bevezetés:** Az elülső cinguláris kérget (cctx) elsősorban kognitív működések és a viselkedés regulációs folyamataival hozzák összefüggésbe. Ma már egyre több adat utal azonban arra, hogy ez az agyterület a különböző forrásokból érkező információk integrációjával, illetve más agyi régiók aktivitásának befolyásolásával szabályozza a szervezet kognitív, érzelmi, szenzomotoros, sőt bizonyos endokrin és zsigeri válaszait is. Multibarrel mikroelektroforetikus technika alkalmazásával kutatócsoportunk glukóz-monitorozó (GM) idegsejteket azonosított a cctx területén. Működési sajátosságait jobban megismerendő, vizsgálataink célterületén a neuronok endogén és exogén kémiai ingerlésre adott válaszait, és szelektív pusztításuk táplálkozásra illetve anyagcserére kiható következményeit is tanulmányoztuk.

**Anyag és módszer:** Altatott hím Wistar patkányokban egysejttevékenységet vezettünk el extracellulárisan wolfram szálas multibarrel üveg mikroelektrodával 1) kémiai anyagok (D-glukóz, noradrenalin, dopamin, GABA, acetilkolin és glutamát) mikroelektroforetikus beadása, 2) az öt alapízzel és komplex ízként narancslével végzett íz-ingerlések, illetve 3) intragasztrikus infúziók (D-glukóz 60 mM, MSG 60 mM; NaCl 60 és 150 mM) során. Éber hím Wistar patkányok cctx-ébe juttatott bilaterális streptozotocin (STZ) mikroinjekcióját követően 4) akut (20 perccel később), illetve szubakut (4 héttel később) glukóz tolerancia tesztet (GTT), továbbá 5) íz-reaktivitási tesztet végeztünk.

**Eredmények:** Az idegsejtek több mint 15%-a bizonyult GM unitnak, közöttük facilitálódó, azaz glukóz-receptor (GR, 73%), illetve gátlódó, glukóz-szenzitív (GS, 27%) neuronokat is azonosítottunk. A GM idegsejtek katekolaminok beadása során mutatott válaszkészsége jelentősen meghaladta a glukóz mikroelektroforetikus adásakor aktivitás változást nem mutató, úgynevezett glukóz-inszenzitív (GIS) neuronokét. Íz válasz tekintetében is a GM unitok dominanciáját figyeltük meg, a GIS sejtek érzékenysége jóval gyengébb volt. Az intragasztrikus kémiai ingerléskor MSG és a 60 mM-os NaCl infúziójára a neuronok együtödének a tüzelési frekvenciája változott meg. Az egyelőre alacsony esetszám miatt a GM és a GIS idegsejtek relatív válaszkészségének megítéléséhez további vizsgálatok szükségesek. A kontrollokkal összehasonlítva STZ kezelést követően az akut és a szubakut vércukor szintekben is szignifikáns különbségeket tapasztaltunk, s külön megemlítendő, hogy akut GTT során a STZ mikroinjekciós állatok vércukor görbéje a kontrolloknál később és magasabb értéken tetőzött. Az íz-reaktivitási tesztben a bilaterális STZ mikroinjekciós patkányok kellemetlen ízekre a kontroll csoport tagjainál szignifikánsan erősebb ingerstívtív válaszait figyeltük meg.

**Következtetés:** Eredményeink arra utalnak, hogy a cinguláris kéreg glukóz-monitorozó neuronjai a táplálkozás és az anyagcsere szabályozásában közreműködve fontos szerepet játszanak a homeosztázis egyensúlyának fenntartásában.

**Támogatás:** Ajinomoto 51064/2009, PTE AOK-KA 2013/34039/1.

# A KAPSAZICIN-ÉRZÉKENY ÉRZŐIDEG-VÉGZŐDÉSEK KOMPLEX SZABÁLYOZÓ SZEREPÉNEK VIZSGÁLATA KRÓNIKUS ÍZÜLETI GYULLADÁS EGÉRMODELLJÉBEN

**Horváth Ádám**<sup>1</sup>, Borbély Éva<sup>1</sup>, Bölcskei Kata<sup>1</sup>, Botz Bálint<sup>1</sup>, Szentes Nikolett<sup>1</sup>, Rauch Tibor<sup>2</sup>, Boldizsár Ferenc<sup>3</sup>, Pintér Erika<sup>1</sup>, Helyes Zsuzsanna<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup>PTE ÁOK, Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet, Szentágothai János Kutatóközpont, Idegtudományi Centrum, Pécs

<sup>2</sup>Rush University Medical Center, Department of Orthopaedic Surgery, Chicago

<sup>3</sup>PTE ÁOK, Immunológiai és Biotechnológiai Intézet, Pécs

<sup>4</sup>MTA-PTE NAP B Krónikus Fájdalom Kutatócsoport, Pécs

**Bevezetés:** A reumatoid arthritisz immunológiai aspektusai jól ismertek, azonban a szenzoros-immun interakciókra vonatkozóan kevés adat áll rendelkezésünkre. A kapszaicin-érzékeny érzőideg-végződéses számos gyulladással és fájdalommal járó betegségben fontos szabályozó funkcióval rendelkeznek a belőlük felszabaduló gyulladáskeltő- és gyulladásgátló neuropeptidok közvetítésével. Kísérleteinkben a kapszaicin-érzékeny érzőideg-végződéses szerepét vizsgáltuk autoimmun arthritisz egérmodelljében. Az alkalmazott modellt elsőként karakterizáltuk komplex funkcionális és képalkotó módszertannal.

**Módszerek:** Nőstény BALB/c egerekben a kapszaicin-érzékeny érzőideg-végződéseket reziniferatoxin (RTX)-előkezeléssel inaktívtuk (deszenzibilizáció). Az arthritiszt humán porcból származó proteoglikán aggregátum re-kombinációs G1 doménjének intraperitoneális adásával váltottuk ki 0., 3. és 6. héten. A mechanonociceptív küszöböt dinamikus plantáris eszteziométerrel, a láb duzzadását pletizmométerrel mértük, szemikvantitatív gyulladás-értékelést végeztünk, az ízületi funkciót rácson való kapaszkodással, a patológiás csontfelrakódást in vivo mikro-CT-vel, a neutrofil mieloperoxidáz (MPO) aktivitást lumineszcens, a vaszkuláris permeabilitás fokozódást és a csontátépülést fluoreszcens in vivo képalkotással vizsgáltuk.

**Eredmények:** A kapszaicin-érzékeny peptiderg érzőideg-végződéses inaktivációja után szignifikánsan kisebb mechanikai fájdalomküszöb csökkenést, lábduzzadást, arthritisz pontszámot, funkcionális károsodást és patológiás csontfelrakódást tapasztaltunk. A 7. héten szignifikánsan kisebb, a 12. héten már szignifikánsan nagyobb MPO-aktivitást észleltünk az RTX-előkezelteknél az állatok kisízületeiben a nem előkezeltekhez képest. A plazma extravazáció 7. héten szintén szignifikánsan kisebb volt a deszenzibilizált csoportban. Csontátépülésben nem tapasztaltunk szignifikáns különbséget a két arthritiszes csoport között.

**Következtetés:** Autoimmun arthritiszban a kapszaicin-érzékeny érzőideg-végződésekből felszabaduló gyulladáskeltő neuropeptidok ödéma-fokozó hatással rendelkeznek, szerepet játszanak az ízületi funkcióromlásban, a csontkárosodásban, valamint a rostok közvetítik a perifériás és centrális szenzitivizáció következtében kialakuló mechanikai hiperalgéziát.

**Támogatás:** NAP B KTIA\_NAP\_13-2014-0022 (MTA-PTE NAP B Krónikus Fájdalom Kutatócsoport, kutatóhely: 888819)

# HISZTERÉZIS HATÁS IGAZOLÁSA BINOKULÁRIS KORRELÁCIÓ VÁLTOZÁSÁRA MÉRT REAKCIÓIDŐVEL

**Horváth Gábor**<sup>1</sup>, Radó János<sup>1</sup>, Czigler András<sup>1</sup>, Nemes Vanda<sup>1</sup>, Fülöp Diána<sup>1</sup>, Török Béla<sup>2</sup>, Kovács Ilona<sup>3</sup>, Buzás Péter<sup>1</sup>, Jandó Gábor<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Pécsi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Kar, Élettani Intézet, Pécs

<sup>2</sup>Kantonsspital St. Gallen, Augenklinik, St. Gallen, Svájc

<sup>3</sup>Pázmány Péter Katolikus Egyetem Bölcsész- és Társadalomtudományi Kar, Általános Lélektan Tanszék, Budapest

Fuzionált random pont sztereogramok (RDS) diszparitása tovább növelhető anélkül, hogy a fúzió megszűnne. Az ilyenkor elérhető diszparitás nagyobb, mint amit egyébként fuzionálni tudnánk. Ezt fúziós hiszterézisnek nevezük. Jelen tanulmány célja megvizsgálni, hogy ez a jelenség megfigyelhető-e binokulárisan korrelált és diszparitással nem rendelkező anti-korrelált vagy rendezetlen random pontokból álló ingerek közötti váltáskor.

A vizsgálatban fiatal, egészséges alanyok (n=13) egyszerű reakció időit mértük milliszekundum pontossággal a binokuláris korreláció változtatására. A reakció idő felvilágosítást nyújt arról, hogy egy új inger észlelése milyen gyorsan veszi át egy előző inger percepciójának a helyét. Háromféle korrelációs állapotot különböztettünk meg: korrelált (C), inverz vagy anti-korrelált (A) és rendezetlen (U). A háttér inger mindig ezek egyike volt, majd ezen jelent meg egy sakktábla mintázat, melyben minden második mező egy másik korrelációs állapotból állt. A mérés folyamán alkalmazott háttér-célinger átmenetek tehát a következők voltak: AC, CA, UC, CU, AU és UA.

A CA és AC átmenetekre rövidebb reakcióidőt (RT) mértünk, mint a CU-ra és UC-re, tehát az A és U állapotokat a feldolgozási folyamat megkülönböztette. Érdekes módon azonban az AU és UA átmeneteket az alanyok nem észlelték. Továbbá, a korrelált háttérből való váltás (CA, CU) minden esetben hosszabb RT-t eredményezett (átlagos különbség 454ms), mint a korrelált célinger érzékelése (AC, UC). Ez hiszterézis jelenségként értelmezhető, ahol is a korrelált állapot megszüntetése időigényesebb folyamat, mint a létrehozása.

Eredményeink azt sugallják, hogy a korrelált a leginkább, míg az anti-korrelált a legkevésbé stabil neuronális állapot a vizuális kéregben.



# THE ROLE OF PURINERGIC MECHANISMS IN MATERNAL POLY(I:C) EVOKED RODENT MODEL OF AUTISM

**Gergely Horváth**, Lilla Otrókocsi, Ágnes Kittel, Mária Baranyi, Beáta Sperlách  
*MTA-KOKI, Budapest*

Autism Spectrum Disorder (ASD) is a neurodevelopmental condition as a result of interaction genes and environmental factors. Symptoms are highly variable but most frequently include individualized behaviours from deficits of social-emotional reciprocity, verbal and non-verbal communication, and deficits of development and maintenance of relationships. Typical symptoms are stereotype and repetitive motor movements, ritual behaviour patterns, fixated interests with abnormal intensity and hypo- or hyper reactivity to sensory input of the environment. Comorbidities are various from GI disturbances, increased seizure susceptibility, sleep disorders, anxiety, motor and sensory impairment, reduced nociception, altered mitochondrial dynamics, hypoinnoglobulinaemia, neuroinflammation, Purkinje cell loss etc.

Recent studies have revealed that Suramin, a broad spectrum P2 receptor antagonist relieves the majority of symptoms in different animal models of autism. Our aim was to establish a reliable model of ASD utilizing behavioural, neurochemical and anatomical parameters in order to investigate the role of different P2 receptors in autism. We measured the effect of prenatal Poly(I:C) (PIC) treatment in 8-weeks-old C57Bl/6 mice and P2X7R KO mice respectively. We performed social preference test, rotarod test, self-grooming and marble-burying tests. After behavioural experiments animals were sacrificed. Cerebellar Purkinje cells were counted and half-brain synaptosome fractions were examined by confocal and electron microscopy, respectively. Monoamine contents of the striatum and hippocampus were measured by HPLC. We compared PIC treated offsprings with saline treated animals and measured the effect of Poly (I:C) in P2X7R KO animals. The effect of Suramin was measured in this experimental paradigm as well.

PIC treated animals showed decreased sociability and impaired motor coordination. Maternal Poly(I:C) treated animals showed increased repetitive behaviour in the marble-burying and in the self-grooming tests. Quantitative Purkinje cell dropout was found in PIC treated mice and electron microscopy of half brain synaptosome fractions revealed ultrastructural abnormalities. Disturbances in monoamin levels were found in PIC treated offsprings. Mice lacking P2X7 receptor, did not show the above mentioned changes and postnatal suramin treatment had significant facilitating effect on PIC pre-treated wild-type mice.

Maternal Poly(I:C) treatment reproduced autistic features described in the literature in the majority of the offsprings. Suramin treatment could prevent the effect of maternal Poly(I:C) exposure in wild type mice. Poly(I:C) treatment did not elicit autistic-like behaviour on mice lacking P2X7 receptor what suggests that P2X7 receptor has a role in neuronal development and the formation of ASD. Based on our findings it seems that wide spectrum P2 receptor blocker, suramin has anti-autistic action which is presumably mediated by P2X7 receptors.

# AZ AMBITUS RENDSZER: EGY ÚJ MÓDSZER A KOGNITÍV MŰKÖDÉS SZEMI-AUTOMATIKUS VIZSGÁLATÁRA PATKÁNYBAN

**Horváth Gyöngyi**, Liszli Péter, Kékesi Gabriella, Büki Alexandra, Benedek György  
*Szegedi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Élettani Intézet, Szeged*

**Bevezetés:** Számos módszert alkalmaznak a rágcsálók tanulási képességének felmérésére, úgymint a lyukas-tábla (hole-board) illetve a labirintus tesztek, melyekben a jutalom megtalálása a cél. A lyukas tábla előnye, hogy egyszerre sok jutalom áll rendelkezésre, míg a labirintusok esetében a szűk folyosó a kedvező az állatok számára. A két módszer kombinációjával egy új rendszert hoztunk létre, melyet AMBITUS-nak nevezünk el (latin szó, jelentése: kerengő, körbejárás), mely egy derékszögű, önmagába visszatérő folyosó oldalfülkékkel, melyeket fotocellákkal láttunk el. Ez lehetővé teszi, hogy automatikusan detektáljuk az állat minden egyes fülkébe történő beszállását (ambuláció), így mind az állat aktivitását, mind pedig a térbeli tanulási képességet meg lehet határozni igen sokféle protokoll alkalmazásával. Jelen munka célja a rendszer validálása a tanulási képesség és flexibilitás szempontjából.

**Módszerek:** A derékszögű folyosó 8-8 oldalfülkét (8/8 kívül/belül) tartalmaz, melyekbe jutalomfalatkákat (1-1 db puffasztott rizs) helyezhetünk. A fülkék bejáratában elhelyezett fotocellák regisztrálják az állat ambulációját, míg a jutalomfalatok megevését videofelvételen rögzítjük. 14 hím, felnőtt Wistar patkányt vontunk be két különböző feladatra, melyek teljesítésére 5 perc állt rendelkezésre. Egy sorozat 2 ismétlésből állt 1 perc közbeiktatásával, és egy nap két sorozatot végeztünk el 4 óra különbséggel. 1. feladat: minden fülkében volt jutalomfalat (1-3 nap); 2. feladat: csak a belső fülkékben volt rizs (4-7 nap). Az ambulációk számát, latenciáját és frekvenciáját, a megevett rizs számát és idejét rögzítettük, melyek alapján meghatároztuk a tanulási kapacitást és a munkamemóriát.

**Eredmények:** Az 1. feladatot a legtöbb állat elsajátította, és teljesítményük a 6 sorozat folyamán fokozatosan emelkedett. A 2. feladat bevezetése után az állatok a belső fülkéket preferálták, ezáltal csökkent az ineffektív ambulációk száma. A manuális és az automatikus detektálás összehasonlítása során kapott értékek igen szoros korrelációt mutattak.

**Megbeszélés:** Megállapítható, hogy az AMBITUS rendszerben egyszerű feladat a jutalomfalatok megtalálása, melyet néhány ismétléssel elsajátítanak az egészséges patkányok. Ugyanakkor a paradigmák változtatásával ez a módszer alkalmas a tanulási flexibilitás feltérképezésére is. Az AMBITUS rendszer gyors, hatékony, objektív és megbízható adatokat biztosít a tanulási képesség vizsgálatára minimális gyakorlási periódus után.

**A munka támogatója:** OTKA (K83810) és TÁMOP-4.2.2.B-15/1/KONV-2015-0006.

# SEJT DINAMIKA MÉRÉSE JELÖLÉSMENTES OPTIKAI BIOSZENZOROKKAL

**Horváth Róbert**

*Nanobioszenzorika Csoport, MTA EK MFA, Budapest*

Napjainkban az élő sejtek felületi viselkedései, kölcsönhatásai, a belsejükben lezajló folyamatok molekuláris biológiai háttere mind intenzíven kutatott területek. A modern képalkotó eljárások lehetővé teszik a sejtek, illetve a sejteken belüli folyamatok vizsgálatát valós időben, a sej élő állapotában, akár egyetlen molekula felbontással is. Ezen technikák főképp a sejt egyes komponenseinek specifikus megfestésén alapulnak, fluoreszcens jelölőmolekulákat használnak fel. A fluoreszcens jelölők, vizualizációs megjelenítés, az újszerű képfeldolgozási technikák ugrásszerű fejlődésével a fenti módszerek a sejtbiológiai és biofizikai kutatások elengedhetetlen eszközeivé váltak. Viszont számos rendkívül időszerű kutatási irányban (pl. őssejtek bizonyos vizsgálatai, gyógyszerkutatás) ajánlatos a fent említett molekuláris jelölőket mellőzni, mivel ezek a molekulák jelenlétükkel befolyásolni is képesek a vizsgált rendszereket.

A jelen előadás röviden összefoglalja a jelölésmentes optikai hullámvezető alapú bioszenzor technikák kifejlesztésében és alkalmazásaiban elért legújabb eredményeinket. Ezen szenzorok képesek a sejtekben lezajló folyamatok monitorozására a nanométeres méretskálán, kiváló kontraszt és időbeli felbontással. Áteresztőképességük lehetővé teszi a pontos adatokon alapuló biofizikai modellalkotást is. Érdekes új irány az egyedi sejtek analízise, amelyben a bioszenzorokat egyedi sejtek manipulációjára alkalmas modern technikákkal kombináljuk.

1. Nazirizadeh, Y., Behrends, V., Prósz, A., Orgovan, N., Horvath, R., Ferrie, A. M., ... Gerken, M. (2016). Intensity interrogation near cutoff resonance for label-free cellular profiling. *Scientific Reports*, 6, 24685.
2. Ungai-Salánki, R., Gerecsei, T., Fürjes, P., Orgovan, N., Sándor, N., Holczer, E. Horvath, R., Szabó, B. (2016). Automated single cell isolation from suspension with computer vision. *Scientific Reports*, 6, 20375.
3. Beatrix Peter, Judit Nador, Krisztina Juhasz, Agnes Dobos, Laszlo Körösi, Inna Székács, Daniel Patko, Robert Horvath Incubator proof miniaturized Holomonitor to in situ monitor cancer cells exposed to green tea polyphenol and preosteoblast cells adhering on nanostructured titanate surfaces: validity of the measured parameters and their corrections *Journal of Biomedical Optics* 20:(6) Paper 067002. 10 p. (2015)

# A TITÁN-DIOXID TOXICITÁSÁNAK LEHETŐSÉGE SZUBAKUT PATKÁNYMODELLBEN

**Horváth Tamara**, Horváth Edina, Máté Zsuzsanna, Lukács Anita, Szabó Andrea,  
Oszlanczi Gbáor, Vezér Tünde, Papp András, Kozma Gábor, Kovács Dávid, Kálomista Ildikó

*SZTE ÁOK Népegészségtani Intézet*

*SZTE TTIK Alkalmazott és Környezeti Kémiai Tanszék*

*SZTE TTIK Biokémiai és Molekuláris Biológiai Tanszék*

*SZTE TTIK Szervetlen és Analitikai Kémiai Tanszék*

A titán-dioxid nanorészecskék (nanopartikulumok, NP-ok) számos ipari alkalmazásban és különböző fogyasztási cikkekben (pl.: étel színezék, festék, kozmetikai szerek) is megjelennek. A széleskörű alkalmazás felveti a TiO<sub>2</sub> NP-ok esetleges munkahelyi és környezeti humán egészségi kockázatának kérdését. A nanorészecskék biológiai hatásait széles körben tanulmányozzák, az egészségügyi következmények azonban még csak részben ismertek. Mivel a NP-ok fizikai, kémiai és biológiai tulajdonságai nagyon eltérnek a más halmazállapotú anyagokéitól, azok hatása az élő szervezetre nem teljesen kiszámítható, így a NP-ok egyre elterjedtebb használata sürgetően veti fel a lehetséges egészségügyi kockázatok tanulmányozását. Az irodalomban ellentmondó adatok állnak rendelkezésre a TiO<sub>2</sub> NP-ok bőrön és tüdőn át való felszívódásáról. A NP-ok szervezeten belüli mobilitása és felületi reaktivitása lehetséges idegrendszeri hatásokra utal. Exponált munkások körében neurológiai tünetek voltak megfigyelhetőek. Nano-TiO<sub>2</sub>-dal kezelt egerek agyában oxidatív stresszt és károsodásokat mutattak ki. Jelen munkában patkányokat (csoportonként 10 állatot) kezeltünk, intratracheális bejuttatással, háromféle méretű és alakú -gömbszerű <50 nm, gömbszerű >50 nm, rúd alakú 10 x 100 nm - TiO<sub>2</sub> NP-al, 6 hétig, 5 és 18 mg/kg testtömeg dózisban. A két kontroll csoport egyike fiziológiás sóoldatot, másik a vivőanyagot (1% hidroxil-etil-cellulóz, foszfáttal pufferolt sóoldatban) kapta. Az idegrendszeri funkcionális elváltozásokat elektrofiziológiai (spontán és kiváltott agykérgi aktivitás, perifériás idegi akciós potenciál) és magatartási (open field teszt) módszerek segítségével vizsgáltuk, valamint mértük az oxidatív stressz több biokémiai indikátorát. A Ti lerakódása nemcsak a tüdőben volt kimutatható, hanem az agyban és más szövetmintákban is. Az általános toxicitás azonban elhanyagolható volt, minthogy nem volt hatás a testtömeg-gyapodásra és a szervek tömegére. A nano-TiO<sub>2</sub>-dal kezelt patkányok spontán kérgi elektromos aktivitása kismértékben eltolódott az alacsonyabb frekvenciák felé. A szenzoros kiváltott potenciálok latenciája meghosszabbodott, a farokideg vezetési sebessége pedig csökkent a kontrollhoz képest. Az open field magatartás és a biokémiai mérések adataiban csoportszinten nem volt világos tendencia, a kisebb méretű gömbszerű TiO<sub>2</sub> NP-mal kezelt csoportokban egyedi szinten azonban világos lineáris korreláció mutatkozott a belső Ti-szint és a lipid-peroxidáció mértéke, illetőleg az elektrofiziológiai és magatartási változások erőssége között. Az eredmények bizonyos mértékig igazolták a nano-titán neurotoxicitását, de egyben rámutattak a további vizsgálatok szükségességére

# A CASKIN FEHÉRJE HIÁNYA AZ ÉLETKORRAL EGYÜTT JÁRÓ HALLÁSKÁROSODÁS PROGRESSZIÓJÁT OKOZZA

**Humli Viktória**<sup>1,2</sup>, Szepesy Judit<sup>2,3,1</sup>, Sahin-Tóth Judit<sup>2</sup>, Schlett Katalin<sup>4</sup>, Buday László<sup>5</sup>, Zelles Tibor<sup>2,1</sup>

<sup>1</sup>Magyar Tudományos Akadémia, Kísérleti Orvostudományi Kutatóintézet, Budapest

<sup>2</sup>Semmelweis Egyetem, Farmakológiai és Farmakoterápiás Intézet, Budapest

<sup>3</sup>Semmelweis Egyetem, Fül-Orr-Gégészeti és Fej-Nyaksebészeti Klinika, Budapest

<sup>4</sup>Eötvös Loránd Tudományegyetem, Élettani és Neurobiológiai Tanszék, Budapest

<sup>5</sup>Magyar Tudományos Akadémia, Természettudományi Kutatóközpont, Enzimológiai Intézet, Budapest

A Caskin egy multidomén horgonyzó fehérje, amely megtalálható az idegrendszerben, ezen belül is elsősorban a szinapszisokban. Kimutatták a perifériás idegrendszerben, a retina ribbon szinapszisaiban is. Két izoformája - Caskin1 és Caskin2 - ismert. Vélhetően szerepet játszik a szinapszisok megfelelő működésében, fenotípusra gyakorolt hatása azonban alapvetően ismeretlen. A CASK (calcium/ calmodulin-dependens szerin proteín kináz) kötőpartnereként fedezték fel. A CASK is adapter protein, amely széles körben megtalálható mind pre-, mind posztzinaptikusan és bizonyítottan fontos szerepet játszik a szinaptikus működésben. A CASK megtalálható a hallópálya szinapszisaiban is, de kölcsönhatásba lép a belső fülben a whirlinnel és a prestinnel is, melyek hibás működése halláskárosodással jár.

Kísérleteink célja a Caskin hallásban betöltött szerepének in vivo vizsgálata volt.

A kísérleteket különböző korú (1,5-17,5 hónapos), Caskin 1,2 knock-out (KO), Caskin heterozigóta (HZ) és C57Bl/6 vad típusú (WT) egereken végeztük. A hallásküszöböt objektív audiometriával, az auditoros agytörzsi kiváltott válasz módszerrel (ABR, auditory brainstem response) határoztuk meg különböző frekvenciákon (4, 8, 16, 32 és 65 kHz). Vizsgáltuk a kiváltott válasz hullámok egyedi csúcsainak amplitúdóját és látenciáját is a Caskin 1,2 KO és HZ testvéreik hallása közötti finomabb eltérések elemzése céljából.

A Caskin 1,2 KO egerek hallásküszöbe tendenciózusan magasabb volt HZ társaikénál. Ez a különbség fél éves kor fölött már statisztikailag szignifikáns volt és az életkor előrehaladtával tovább fokozódott, ill. kifejezettebb volt a magasabb frekvenciákon. Az egyedi csúcsok elemzése a fiatalabb egerek esetében is kimutatott különbséget a KO és a HZ egerek között. A 2,5 hónapos KO állatokban az ABR görbe III. csúcsának amplitúdója kisebb volt, mint HZ társaiké. Ez a különbség 3 hónapos korokra tovább nőtt és az I., II., IV. és V. csúcs esetében is megjelent. A látencia értékekben is ennél az életkornál jelentek meg az első látványos eltérések.

Eredményeink azt mutatják, hogy a Caskin funkciójának kiesése az időskori halláskárosodás (presbycusis) fiatal kori iniciálódását és kifejezett progresszióját okozza.

# HALLÁSKÁROSODÁS VIZSGÁLATA HIPOFÍZIS ADENILÁT-CIKLÁZ AKTIVÁLÓ POLIPEPTID (PACAP) GÉNKIÜTÖTT EGEREKBE

**Humli Viktória**<sup>\*1,2</sup>, Fülöp Balázs Dániel<sup>\*3</sup>, Ott Virág<sup>3</sup>, Szepesy Judit<sup>2</sup>, Tamás Andrea<sup>3</sup>, Németh Adrienn<sup>4</sup>, Reglődi Dóra<sup>3</sup>, Zelles Tibor<sup>2,1</sup>

<sup>1</sup>Gyógyszerkutatói kutatócsoport, MTA KOKI, Budapest

<sup>2</sup>Farmakológiai és Farmakoterápiás Intézet, Általános Orvostudományi Kar, Semmelweis Egyetem, Budapest

<sup>3</sup>Anatómiai Intézet, MTA-PTE Lendület PACAP Kutatócsoport, Általános Orvostudományi Kar, Pécsi Tudományegyetem, Pécs

<sup>4</sup>Fül-Orr-Gégészeti és Fej-Nyaksebészeti Klinika, Általános Orvostudományi Kar, Pécsi Tudományegyetem, Pécs

\*Fent nevezett elsőszerzők egyenlő arányban járultak hozzá az előadás elkészültéhez

A PACAP neurotrofikus, neuroprotektív és citoprotektív hatásokkal rendelkező fehérje, amely legnagyobb mennyiségben az idegrendszerben és endokrin mirigyekben fordul elő. Érzékszervekben is védő hatást fejt ki, megtalálható a belső fülben és a hallópályában egyaránt. Antiapoptotikus hatását belső fül szőrsejt-tenyészetben korábban bizonyítottuk. PACAP-génkiütött (KO) egerek belső fülét vad társaikkal (WT) összehasonlítva a PACAP specifikus receptorának (PAC1-receptor) csökkent expresszióját, és Ca<sup>2+</sup>-kötő fehérjék emelkedett expresszióját találtuk. Az endogén PACAP védő hatásának tehát fontos szerepe van a belső fülben, és hiánya funkcionális és morfológiai eltérésekhez vezethet.

Kutatásunk célja, a hallópálya funkcionális és morfológiai vizsgálata volt PACAP KO és WT egerekben. Munkánk során másfél, 4 és 8 hónapos WT (n=19) és KO (n=19) hím egerek hallásküszöbét hasonlítottuk össze. A hallásküszöbüket az auditoros kiváltott válasz vizsgálattal (ABR) mértük. Egy zárt akusztikai rendszerben frekvencia független click, valamint 4, 8, 16, 32 és 65kHz-es burst stimulusokat alkalmaztunk. A hallásküszöbnek azt a hangnyomás szintet tekintettük, ahol a subdermális elektródákról elvezetett potenciálgörbék hullámai tisztán azonosíthatóak voltak. Az utolsó mérést követően az egereket túlaltattuk, és hallópályájukban a neuronális aktivitást jelző c-fos fehérje expresszióját vizsgáltuk immunhisztológiai módszerrel.

Eredményeink azt mutatták, hogy a KO egerek szignifikánsan rosszabbul hallottak vad társaiknál: a hallásküszöb másfél és 4 hónapos korukban 31-37 dB-el (4, 8kHz és click inger esetén); 8 hónapos korukban 10-13 dB-el (4kHz és click inger esetén) volt magasabb a WT egerekhez képest. Magasabb frekvenciákon nem volt szignifikáns eltérés a két csoport között (16, 32, 65kHz), de a hasonló tendencia szintén látható volt. A hallópálya magjai közül a nucleus intermedius lemnisci lateralis vizsgálata történt meg, ahol a hanginger hatására WT egerekben szignifikánsan több aktivált neuront találtunk, mint KO társaikban. Kutatásunk során bebizonyítottuk, hogy PACAP hiányában a korábban belső fülben leírt eltérések mellett a hallópálya funkcionális és morfológiai elváltozásai is kimutathatóak.

Támogatók: NKTH-ANR, TÉT\_10-1-2011-0421, OTKA K104984, Arimura Foundation, TÁMOP 4.2.4.A/2-11-1-2012-0001 „National Excellence Program”, Bolyai Ösztöndíj, MTA-PTE „Lendület” Program.

# THE EFFECT OF NOVEL CRF1 RECEPTOR ANTAGONIST ON MICE BEHAVIOR

**Ibos Katalin**, Filkor Kata, Garay David, Csabafi Krisztina, Szabó Gyula

*Department of Pathophysiology, Faculty of Medicine, University of Szeged, Hungary*

Corticotropin releasing factor is a well established mediator of the stress system and has been implicated in multiple pathologies such as depression, anxiety related disorders and even neurodegenerative disorders. In the present experiments we aimed to characterize a novel CRF1 receptor antagonist CP376395 on mice behavior.

Adult male C57BL/6 mice were injected intracerebroventricularly with different doses of CP376395 (0.01, 0.1, 1, 2, 5 g) dissolved in 2 l artificial cerebrospinal fluid. 30 min later mice were placed in the center of the open-field arena, in which the locomotor and anxious behavior of the animals were observed by a computerized system via infrared beams. The following parameters were measured: horizontal locomotion, ambulation time, immobility time, vertical locomotion (rearing and jumping behavior), distance travelled and time spent in the central zone of the arena.

Our results showed that CP376395 did not alter horizontal locomotor activity, however it significantly increased vertical locomotion, the distance travelled and time spent in the center of the arena 30 min after peptide treatment, the most effective dose was 0.1 g. In case of ambulation time and immobility time only a tendency was observed.

In conclusion, CP376395 induced an anxiolytic effect and considering the fact that it readily enters through the blood brain barrier it might prove a new candidate for antianxiety intervention.

This work was supported by the Hungarian Brain Research Program-KTIA\_13\_NAP-A- III/8.

# A HYPOPHYSIS ADENILÁT CIKLÁZ AKTIVÁLÓ POLIPEPTID (PACAP) VIZSGÁLATA A GASZTROINTESZTINUM MEGBETEGEDÉSEIBEN

**Illés Anita<sup>1</sup>**, Reglődi Dóra<sup>1</sup>, Németh József<sup>3</sup>, Tamás Andrea<sup>1</sup>, Szántó Zalán<sup>4</sup>, Vincze Áron<sup>2</sup>, Gódi Szilárd<sup>2</sup>, Szabó Imre<sup>2</sup>, Pakodi Ferenc<sup>2</sup>, Czimmer József<sup>2</sup>, Bajor Judit<sup>2</sup>, Horváth Gabriella<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Anatómiai Intézet, <sup>2</sup>I. sz. Belgyógyászati Klinika, <sup>4</sup>Sebészeti Klinika,

Általános Orvostudományi Kar, Pécsi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Kar,

<sup>3</sup>Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet, Debreceni Egyetem Általános Orvostudományi Kar

A hypophysis adenilát cikláz aktiváló polipeptid a szervezet szinte valamennyi szervében előforduló polipeptid, így a gasztrointesztinalis rendszer teljes hosszában is kimutatható. Hatása sokrétű, antiapoptotikus, neuroprotektív, sejttúlélést segítő hatásán túl ismert általános antiinflammatorikus hatása is.

Vizsgálataink során célul tűztük ki a PACAP szintjének meghatározását a gasztrointesztinum gyulladásos és tumoros megbetegedéseiben.

Vizsgálatunk során összesen 53 gyulladásos bélbetegségben (23 Crohn beteg, 30 colitis ulcerosás) szenvedő beteg szövettani mintáiban hasonlítottuk össze a PACAP38 és PACAP27 szinteket. A betegeket a vizsgálat során vett szövettani minta alapján soroltuk akut vagy krónikus gyulladással, vagy ép nyálkahártyával bíró csoportokba, valamint megvizsgáltuk, hogy a betegek általi antibiotikum szedés befolyásolta-e a szövettani mintákban a PACAP szintjét. Emellett 9 colontumorról operált beteg mintáit vizsgáltuk. Vizsgáltuk ugyanakkor 8 antrum gastritisben és 6 gyomorfekélyben szenvedő beteg szövettani mintáit is. Helicobacter pozitívitás alapján osztottuk csoportokra a betegeket, antrum gastritis esetén a gyulladt és ép nyálkahártya adatait hasonlítottuk össze, fekély esetén a fekély alap, a fekély szél és az ép nyálkahártyával borított antrum mintáinak értékeit elemeztük.

Az elvégzett vizsgálatok során Crohn betegek adatait összehasonlítva nem találtunk jelentős eltérést, ugyanakkor colitis ulcerosa esetén az ép nyálkahártyájú és az akut gyulladással bíró betegek mintáit összehasonlítva észleltünk szignifikáns különbséget, ugyancsak colitis ulcerosa esetén a betegek antibiotikum szedése szintén szignifikáns eltérést eredményezett. A tumoros vastagbélzövet mintáiban szignifikánsan alacsonyabb PACAP szinteket detektáltunk.

A gyomor minták esetében nem találtunk jelentős eltérést sem antrum gastritis, sem fekély esetében, a PACAP szintet a Helicobacter pylori fertőzöttség sem befolyásolta.

Eredményeink összegezve: a vizsgált bélbetegségekben PACAP szint különbséget colitis ulcerosa és neoplasia, illetve az antibiotikumot szedő és nem szedő betegek adatainak elemzése kapcsán találtunk. A PACAP hatása a gasztrointesztinum gyulladásos és tumoros megbetegedéseiben még nem pontosan tisztázott, mely további vizsgálatok elvégzését teszi szükségessé.

Támogatás: OTKA K104984, Bolyai ösztöndíj



# MAGATARTÁS-FARMAKOLÓGIAI TÁPLÁLÉKPREFERENCIA VIZSGÁLATA OPERÁNS TÁPLÁLÉKFELVÉTELI TESZTBEN FŐEMLŐS MODELLEN

**Inkeller Judit**, Gödri Zoltán, Oláh Vilmos, Trunk Attila, Hernádi István  
*Grastyán Endre Transzlációs Kutatóközpont, Pécsi Tudományegyetem, Pécs*

Az elhízás napjainkra a világ lakosságának egészségügyi állapotát befolyásoló egyik legjelentősebb kóroki tényezőjévé vált. A homeosztatis (létfenntartási) étvágy helyett a modernkori elhízásért inkább az úgynevezett hedonikus (élvezeti) túlfogyasztás tehető felelőssé. Elengedhetlenné vált az elhízás gyógyszeres kezelése, mert önmagában az életmódváltás az esetek nagy részében nem hoz tartós változást, és nagy az esélye az ún. yo-yo hatás kialakulásának, ami további elhízáshoz és súlyos szövődményekhez vezethet. Emellett, az obezitás és az elhízás farmakológiai terápiája a mai napig nem megoldott.

Jelen vizsgálatunkban célunk egy olyan új táplálékfelvételi (food intake, FI) tesztcsomag kidolgozása volt, amely egy vizsgálati ülésen belül alkalmas a táplálékfelvétel csökkentésének mérésére, ill. a háttérben működő homeosztatis és hedonikus motivációs faktorok elkülönített értékelésére. Kísérleteinkben hím rhesus makákókat (n=5) használtunk, fix válaszarányú (fixed ratio, FR) operáns paradigmában. Az állatok egy jelzőfény megjelenését követően 3 pedálnyomásra megerősítésként 1 darab jutalmat kaptak (FR3), amit egy rövid várakozási idő követett. Az általunk beállított FI teszt két ülésből állt. Az első ülés (S1) alkalmával a maximális 200 db jutalom megszerzésére 2 óra, míg a második ülés (S2) alatt a maximális 100 db jutalom elérésére 1 óra állt az állatok rendelkezésére. Az FI tesztben két különböző palatabilitású, tápanyagtartalom szempontjából teljes értékű jutalmat kínáltunk fel az állatoknak: az általuk kevésbé preferált standard banánízű (1g/pellet, 3.35 kcal/g, Bioserve), valamint az általuk jobban preferált palatábilis, erdei gyümölcs ízű jutalmat (1 g/pellet, 3.46 kcal/g, Bioserve). A motivációs faktorok elkülönítésének érdekében a kétféle jutalmat kombináltuk az ülések között. Farmakológiai vizsgálatunknál validáló ágensként a GLP1 receptor agonista exenatidot (1 µg/kg) alkalmaztuk.

Azon kísérleti elrendezésben, amikor az S1 során a kevésbé preferált jutalmat kínáltuk fel az állatoknak, a napi tápanyagszükségletüknek csak a felét fogyasztották el és tartalékoztak az S2-ben felkínált palatábilis jutalomra ("reward comparison" jelenség). Azokon a napokon, amikor az S1 során a palatábilis jutalmat kínáltuk fel, szignifikánsan megemelkedett a táplálékfelvétel, míg S2 során a jutalom minőségétől függetlenül csökkent a táplálékfelvétel. Az exenatid kezelést követően az S1 során felvett táplálék mennyisége mindkét típusú jutalom estében lecsökkent, azonban a "reward comparison" jelenségre nem volt hatással az exenatid. Feltételezzük, hogy az S1 során a táplálékfelvétel egyik fő hajtóereje az éhségérzet, míg az S2 alkalmával a reward rendszeren keresztüli, pl. ízek által közvetített motivációs hatás volt. Eredményeink azt mutatják, hogy az általunk főemlősökben standardizált modell alkalmas lehet a táplálékfelvételt befolyásoló farmakológiai hatások preklinikai vizsgálatára.

# GENDER DIFFERENCES IN ARTERIAL VASOMOTOR RESPONSES OF PACAP DEFICIENT MICE

Ivan Ivic<sup>1,3</sup>, Tamas Juhasz<sup>2</sup>, Dora Reglodi<sup>3</sup>, Balazs Fülöp<sup>3</sup>, Gabor Toth<sup>4</sup>, Hitoshi Hashimoto<sup>5</sup>, Andrea Tamas<sup>2</sup>, Akos Koller<sup>1,6,7</sup>

<sup>1</sup>*Institute for Translational Medicine and Department of Anatomy, University of Pecs Medical School and Szentagotthai Research Centre, Pecs, Hungary*

<sup>2</sup>*Department of Anatomy, Histology and Embryology, Faculty of Medicine, University of Debrecen, Debrecen, Hungary*

<sup>3</sup>*Department of Anatomy, MTA-PTE PACAP Lendület Research Group, University of Pecs Medical School Pecs, Hungary*

<sup>4</sup>*Department of Medical Chemistry, University of Szeged* <sup>5</sup>*Laboratory of Molecular Neuropharmacology, Osaka University, Osaka, Japan*

<sup>6</sup>*Institute of Natural Sciences, University of Physical Education, Budapest, Hungary*

<sup>7</sup>*Department of Physiology, New York Medical College, Valhalla, NY, USA*

**Introduction:** Pituitary adenylate cyclase activating polypeptide (PACAP) is a neuropeptide with diverse functions. Among others, PACAP is well known for its vasodilator activity mediated by G protein coupled receptors: PAC1 and VPAC1 and 2. The VPAC receptors also mediate the effects of VIP. The vasomotor activity of PACAP has been described in various vessels of different animal species, but information about vasomotor effect in PACAP-deficient (KO) mice or gender dependency are lacking. Thus, in the present study we aimed to investigate vasomotor effects of PACAP1-38 and 1-27 in wild type (WT) and PACAP-deficient (KO) mice in males and females.

**Methods:** Carotid (CA) and femoral (FA) arteries were isolated from 2-month-old PACAP WT (n=6) and KO (n=6) male and female mice. Vasomotor responses were measured with an isometric myograph in response to vasoconstrictor KCl (60mM), and vasodilators PACAP1-38, PACAP1-27 (10<sup>-9</sup> - 10<sup>-6</sup> M). The effect of selective agonist for PAC1, VPAC1/VPAC2 was also assessed.

**Results:** Contractions of CA and FA to KCl were significantly higher in KO-mice compared to WT-mice only in males, whereas no difference was found in females. In males, PACAP38 caused significantly smaller relaxations, but PACAP27 and VIP caused increased relaxations in CA and FA. In females, there were no differences in relaxations of CA of WT- and KO-mice; in FA, increased relaxations in KO mice were observed in response to the highest doses of peptides. Both males and females arteries responded to PAC1, but not to VPAC2 agonist. Responses to VPAC1 agonist were present in male WT (both CA and FA) mice and in FA of female KO mice.

**Conclusions:** In the absence of PACAP, alternative receptor-mediated pathways seem to be responsible for the mediation of the PACAP/VIP-induced relaxations. Impairment of PACAP system is more pronounced in males than in females, providing an interesting gender-dependent difference.

**Support:** Hungarian National Science Research Fund (OTKA) K104984, K108444, PTE-MTA „Lendület” Program, TAMOP 4.1.1.C-13/1/KONV-2014-0001, SROP-4.2.2.A-11/1/KONV-2012-0017 and „Complex examination of neuropeptide.” SROP-4.2.2.A-11/1/KONV-2012-0024 and SROP-4.2.4.A/2-11-1-2012-0001 „National Excellence Program”. Tamás Juhász was supported by Bolyai János Scholarship, Szodoray Lajos and Magyary Zoltán Funds by the European Union and the State of Hungary, co-financed by the European Social Fund in the framework of TÁMOP 4.2.4. A/2-11-1-2012-0001 „National Excellence Program”, University of Debrecen (RH/751/2015).

# AZ ACUT GÖRÖGSZÉNAMAG-KIVONAT KEZELÉS METABOLIKUS FUNKCIÓKRA KIFEJTETT HATÁSAINAK VIZSGÁLATA PATKÁNYBAN

**Juhász Béla,** Kovács Diána, Hegedűs Csaba, Szilvássy Zoltán, Kiss Rita  
*Debreceni Egyetem Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet*

**Bevezetés:** A melanin koncentráló hormon (MCH) egy 19 aminosavból álló neuropeptid, mely a szervezetben számos élettani folyamatban játszik fontos szerepet, úgymint a táplálkozás, energiafelhasználás, kedélyállapot, alvás-ébrenlét ciklus. Az emlősagy sejtjei is expresszálnak MCH-t, legnagyobb mennyiségben a hypothalamusban, feltételezhetően ezért is a legfontosabb szerepük az étvágy szabályozás. Az MCH-nak 2 receptorát azonosították, az MCH-R1 és az MCH-R2 receptorokat, melyek G-proteinhez kapcsolódnak. A kutatások középpontjában az MCH-R1 antagonisták állnak, melyek hatásos testsúlycsökkentő készítmények lehetnek.

**Célkitűzés:** A görögszénamag szaponin hatóanyagai (diosgenin, yamogenin) MCH-1 receptor agonista hatással rendelkeznek, így alkalmasak lehetnek testsúlygyarapodás előidézésére, ezért előkísérleteinkben a görögszénamag és diosgenin hatásait vizsgáltuk a metabolikus funkciókra és a táplálkozásra Sprague-Dawley patkányban. Célunk olyan természetes táplálékkiegészítő kifejlesztése, melyek gerincesekben, de főként szárnyasokban képesek testsúlygyarapodást, elsődlegesen máj típusú elhízást előidézni. A görögszénamag és a diosgenin akut hatásait vizsgáltuk a táplálékfelvételre, glükóz toleranciára, valamint az inzulinérzékenységre. A táplálékfelvétel meghatározása során az állatokat 16 órás éheztetést követően kezeltük, majd 60 percen keresztül hagytuk őket ad libitum enni. Az ezen időszak alatt elfogyasztott táp mennyisége a meal size, amit grammban fejeztünk ki. A glükóz toleranciát, illetve inzulinérzékenységet orális glükóztolerancia teszt (OGTT), inzulin tolerancia teszt (ITT) és hiperinzulinémiás euglikémiás glükóz clamp (HEGC) módszer segítségével határoztuk meg. Az OGTT során egy éjszakai éheztetést követően orálisan 2g/kg glükózt adtunk, és a vércukorszint időbeli változását figyeltük. Az ITT során 3 órás éheztetést követően intraperitoneális inzulin injekciót adtunk, és a vércukorszint időbeli változását mértük.

**Eredmények:** 3 mg/kg diosgenin hatására a meal size-ban emelkedés, 0.1 mg/kg dózisonál csökkenés következett be, míg az 1 mg/kg dózisban nem láttunk szignifikáns változást. Az OGTT, ITT és HEGC vizsgálatok során a diosgenin egyszeri dózisa nem befolyásolta a vizsgált paramétereket a kezeltlen csoporthoz viszonyítva. További célunk a diosgenin és a görögszénamag koncentrációfüggő subacute és krónikus adagolása, és a hatások vizsgálata a táplálékfelvételre és a glükózháztartásra, és az említett anyagok hatásainak vizsgálata diabéteszes állatmodellben is.

**Témátámogatás:** A kutatás a TÁMOP-4.2.2.D-15/1/KONV-2015-0016, KUTEGY (J.B.), OTKA K 120345, OTKA K 120295, AGR\_Piac\_13-1-2013-0008 kereteiből valósult meg. A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósult meg.

# RADIO-ANALITIKAI MÓDSZEREK ALKALMAZÁSA A MELANIN-KONCENTRÁLÓ HORMON (MCH) MÉRÉSÉRE ÉS RECEPTORÁNAK DETEKTÁLÁSÁRA

Tóth Attila, **Juhász Béla**, Szilvássy Zoltán, Németh József  
*Debreceni Egyetem, Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet*

Munkánk célkitűzése volt, hogy nagy érzékenységű radioimmunoassay (RIA) módszert fejlesszünk ki a melanin-koncentráló hormon (MCH) szöveti és plazma koncentrációjának mérésére, továbbá receptor-binding assay-t az MCH receptorok szöveti eloszlásának detektálására.

**Anyagok és módszerek:** Az MCH RIA kifejlesztéséhez szükséges ellenanyagot BSA-MCH immunogén felhasználásával nyulakban termeltettük. Az MCH  $^{125}\text{I}$  izotóppal történő jelölését iodogénes módszerrel végeztük és a jelölt anyagot HPLC-vel tisztítottuk. RIA standardként szilárd fázisú szintézissel készített MCH-t alkalmaztunk. Az ellenanyaghoz kötődött és szabadon maradó peptid frakciók elválasztására dextránnal bevont csontoszenes eljárást alkalmaztunk. Receptor-kötődési vizsgálatokat három patkány szervén (agy, duodénum, vese) végeztünk a RIA tracer-ként is alkalmazott  $^{125}\text{I}$ -MCH segítségével.

**Eredmények:** Az MCH mérésére nagy érzékenységű ( $D_{50}=11,93\pm 1,78$  fmol/ml) és specifikus RIA módszert fejlesztettünk ki. A módszer gyakorlati alkalmazásaként meghatároztuk a patkány központi idegrendszer egyes területeinek MCH koncentrációját, továbbá elvégeztük a gasztrointesztinális traktus (GIT) és egyéb fontos szervek MCH tartalmának feltérképezését. A központi idegrendszert illetően a legnagyobb koncentrációt a hypothalamusban mértünk, de valamennyi agyterület mérhető mennyiségű MCH-t tartalmazott. Nagy koncentrációban találtunk MCH-t a vékonybélben (duodénum, jejunum), valamint a pancreasban és a vesében. A többi vizsgált szerv alacsony, vagy elhanyagolható mennyiségben tartalmazott MCH-t. Receptor-kötődési vizsgálataink segítségével MCH receptorok jelenlétét mutattuk ki patkány agyban, ellenben a vizsgált perifériás szervekben receptor aktivitást nem sikerült detektálnunk.

**Konklúzió:** Munkacsoportunk által kifejlesztett RIA módszer nagy érzékenységű és specifikus az MCH mérésére. Alkalmas különböző szervek szöveti peptid tartalmának meghatározására, valamint plazma MCH koncentráció mérésére. Az MCH nem csak a központi idegrendszerben fordul elő, hanem a GIT egyes területein is nagy koncentrációban megtalálható. MCH receptorok jelenlétét csak a központi idegrendszerben tudtuk kimutatni, a másik két vizsgált perifériás szervben nem.

**Támogatás:** Magyar Nemzeti Fejlesztési és Technológiai Iroda (AGR-PIAC-13-1-2013-0008)

# A MITOKONDRIÁLIS FUNKCIÓ VÁLTOZÁSA FEKÁLIS PERITONITIS SZEPSZISBEN PATKÁNY MODELLBEN - ÖSSZEFÜGGÉS AZ NO ÉS ENDOTHELIN KÉPZŐDÉSSEL

**Juhász László**, Poles Marietta, Mészáros András, Boros Mihály, Kaszaki József  
SZTE ÁOK, Sebészeti Műtéttani Intézet

**Bevezetés:** A szepszis az egyik vezető halálok az intenzív osztályokon, a kórtan lényegi elemei tisztázatlanok, jelenleg nincs hatékony oki terápiája. Ismert azonban, hogy a szepszis progressziója során a gyulladáshoz vezető kaskád aktivációja szorosan összefügg az oxigén szállítás és felhasználás között kialakuló aránytalansággal, amely szükségszerűen a sejtek energiadeficitjéhez vezet. Korábbi vizsgálataink során kimutattuk peritonitisz-szepszis (PS) modell 24. órájában az oxigénfogyasztás (VO<sub>2</sub>) és extrakció csökkenését (Büki és mtsai. *Acta Physiol* 2011), és a romló oxigén dinamika hátterében a sejtek energiaellátásában meghatározó szerepet játszó mitokondriumok funkció zavarát feltételeztük. Kísérleteinkben ezért megvizsgáltuk a polimikrobiális, faeces indukált PS modellben a mitokondriális funkció változását, az oxigén dinamika és a gyulladáshoz vezető mediátorok [endothelin (ET), nitrit/nitrát (NO<sub>x</sub>)] képződésével párhuzamosan.

**Módszerek:** Idős korú (400-450 gr), hím SPRD patkányokban fekális peritonitist (n=18, 0,6 g/kg faeces i.p.) indukáltunk, a kontroll csoportot (n=16) i.p. fiziológiás sóoldattal kezeltük. Hemodinamikai monitorozást és vérértékek vizsgálatát végeztük a 24., 32. és 48. órában, közvetlenül a terminálást megelőzően, a ketamin-xylazin keverékkel altatott állatokon. A plazma ET szinteket (ELISA) és az NO<sub>x</sub> termelést jelző NO<sub>x</sub> szinteket Griess-reakcióval mértük, a bal májleány homogenizátumából mitokondriális légzési funkciókat, a komplex I (glutamát, malát+ADP) és komplex II-függő (szukcinát+ADP) oxidatív foszforilációt (OXPHOS) nagyfelbontású respirometriával vizsgáltuk. Safranin fluoreszcencia módszerrel a mitokondriális membránpotenciál változásait monitoroztuk, a kapcsoltságot (respirációs kontroll hányados; RCR) az oligomycinnel történő gátlás és az OXPHOS arányából határoztuk meg.

**Eredmények:** A szepszis 24-32. órája között emelkedett NO<sub>x</sub> szintet mutattunk ki, míg a plazma ET a 48. órában érte el maximumát. A szepszis indukciót követő 24-32. órában az oxidatív foszforiláció mértéke felére csökkent az álműtött állatokhoz képest, míg az RCR értéke nem változott. A szepszis 48. órájában a vizsgált mitokondriális paraméterekben nem volt jelentős eltérés a két csoport között.

**Következtetés:** A szepszis 24-32. órája között kialakuló szöveti oxigénhiány (VO<sub>2</sub> csökkenés) és emelkedett NO<sub>x</sub> termelés összefüggést mutat az ezzel párhuzamosan észlelt, ATP depléciót eredményező mitokondriális funkcióromlással. Ugyanakkor a szepszis 48. órájára bekövetkező ET szint emelkedéssel együtt a légzési komplexek működése normalizálódik.

**Támogatás:** OTKA K104656; Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatal - NKFIK K116689

# PACAP KO EGEREK CSONTOSODÁSI FOLYAMATAINAK JELÁTVITELI MÓDOSULÁSAI

**Juhász Tamás<sup>1</sup>**, Pálfi Andrea<sup>1</sup>, Szegeczki Vince<sup>1</sup>, Czibere Bernadett<sup>1</sup>, Józsa Gergő<sup>2</sup>,  
Fülöp Balázs<sup>2</sup>, Tamás Andrea<sup>2</sup>, Reglődi Dóra<sup>2</sup>, Zákány Róza<sup>1</sup>

<sup>1</sup>DE ÁOK Anatómiai, Szövet- és Fejlődéstani Intézet

<sup>2</sup>PTE ÁOK Anatómiai Intézet

A PACAP (hypophysis adenilát-cikláz aktiváló polipeptid) a hypothalamus által termelt 38 aminosavból álló neuropeptid, mely kimutatható az agyban és számos perifériás szövetben is. Bizonyított, hogy UMR-106 csontosodó sejt kultúrákban is pozitív hatása van az osteogenesisre, viszont a PACAP KO egerek csontjainak makroszkópos morfológiája nem változik lényegesen. UMR-106 osteoblast sejt vonalon és PACAP KO egerek femurjain, követtük nyomon a PACAP és Notch kapcsolatának csontosodásra kifejtett hatásait, feltételezve, hogy a Notch jelátvitel kapcsolatba hozható a kompenzációs mechanizmussal. PAC1 receptor agonistaként PACAP 1-38-at 100 nM-os és Notch inhibitorként DAPT-ot 5 μM-os koncentrációban alkalmaztunk Alizarin vörös és von Kossa festéssel, a PACAP-KO egerek csontjaiban kevesebb kalcium mutatható ki, viszont a KO egerekben az alkalikus foszfatáz (ALP) expressziója és aktivitása megnövekedett. Hasonlóan ehhez a PACAP adagolása is ALP aktivitás fokozódáshoz vezetett. A Notch jelátviteli útvonalat megvizsgálva elmondhatjuk, hogy a Notch receptorok expressziója igen alacsony a KO egereknél, a hozzájuk kötődő ligandok DLL1, DLL3, DLL4, Jagged1 fehérjeexpressziója jelentősen megemelkedett. Hasonló fehérjeexpresszió emelkedést tapasztaltunk a célmolekulák esetében is, így jelentős növekedést detektáltunk a TACE, Numb, CSL és Adam9 jelátviteli elemek esetében. PACAP hatására Notch1 és 2 receptorok mRNS expressziója nem, de fehérjeexpressziója DAPT kezelés hatására fokozódott. Ligandjának (DLL1, Jagged1) és célmolekuláinak (TACE, Numb) fehérjeexpressziója megemelkedett PACAP kezelések hatására, de a DAPT kezelések csökkentették azokat. Az NFATc1 transzkripciós faktor, melynek expresszióját megemelte a PACAP jelenléte, a Notch és PACAP jelátvitel közös célmolekulája lehet, mely aktivációja serkengetheti a csontdifferenciációt.

Az eredmények alapján arra következtettünk, hogy a PACAP jelátviteli út aktiválódásának hiányában olyan mechanizmus indukálódik a csontsejtekben, amely megnöveli a Notch jelátviteli útvonal aktivitását biztosítva a megfelelő csontdifferenciáció létrejöttét.

A kutatás a K72592, TÁMOP 4.2.1.B-10/2/KONV-2010-002, CNK78480, GOP-1.1.1-11-2012-0197, Debreceni Egyetem (RH/751/2015), MTA-PTE "Lendület" keretében zajlott. JT. a Szodoray Lajos és Bolyai János ösztöndíj, és a TÁMOP-4.2.4.A/2-11/1-2012-0001 Nemzeti Kiválóság Program című kiemelt projekt keretében támogatott. A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.

# VASCULAR RESPONSES OF SUBCUTANEOUS AND VISCERAL ADIPOSE TISSUE MICROVESSELS TO FLOW AND ACETYLCHOLINE IN HUMAN OBESITY

Jukic Ivana<sup>1</sup>, Stupin A<sup>1</sup>, Drenjancevic I<sup>1</sup>, Phillips SA<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Department of Physiology and Immunology, Faculty of Medicine, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Osijek, Croatia*

<sup>2</sup>*Department of Physical Therapy, College of Applied Health Sciences, University of Illinois in Chicago, Chicago, IL, USA*

**Objective:** The primary goals of the present study were to 1) test the hypothesis that microvascular flow-induced dilation (FID) and acetylcholine-induced dilation (AChID) are reduced in visceral (VAT) compared to subcutaneous adipose tissue (SAT) in obese patients and 2) determine the mechanisms contributing to reduced vasodilator sensitivity to flow in human visceral and subcutaneous adipose tissue arterioles in human obesity.

**Methods:** Vessels from 53 morbidly obese women (BMI>40 kg/m<sup>2</sup>) were collected from subcutaneous and visceral adipose biopsies and were cannulated for vascular reactivity measurements in response to flow (pressure gradients of 10-100 cmH<sub>2</sub>O) and in response to acetylcholine (ACh, 10<sup>-9</sup>-10<sup>-4</sup> M). Flow- and acetylcholine-mediated vasodilation was observed in the presence and absence of nitric oxide synthase (NOS) inhibitor N<sup>ω</sup>-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME, 10<sup>-4</sup> M), cyclooxygenase inhibitor indomethacin (INDO; 10<sup>-5</sup>M), the H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> scavenger poly ethyleneglycol catalase (PEG-CAT; 500 U/ml), and non-selective cytochrome P450 pathway inhibitor 17-octadecynoic acid (17-ODYA; 10<sup>-5</sup>M). Also, nitric oxide (NO) and hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) generation in arterioles was detected with fluorescence microscopy, in the presence and absence of flow.

**Results:** Dilator responses of VAT resistance arteries were less sensitive to increase flow, but also to ACh compared to SAT vessels. L-NAME significantly reduced FID in SAT microvessels. INDO reduced FID in SAT microvessels too, but had no additional effect in the presence of L-NAME. There was no effect of L-NAME or INDO alone on FID of VAT microvessels, but addition of L-NAME to INDO reduced FID at higher flow rates. The presence of 17-ODYA partially reduced FID of microvessels from both SAT and VAT, compared to baseline. PEG-CAT reduced FID of SAT microvessels, but had no effect on resistance arteries from VAT.

There was a significant reduction in AChID in arterioles from SAT in the presence of L-NAME, INDO and PEG-CAT, but had no effect in microvessels from VAT.

In the absence of intraluminal flow, NO production was increased in vessels from SAT compared to VAT, and presence of L-NAME reduced NO production in vessels from SAT, but not in vessels from VAT. In the presence of intraluminal flow, NO production was increased in both SAT and VAT microvessels, and was reduced in SAT by NOS inhibition with L-NAME. During flow PEG-CAT significantly reduced DCF fluorescence in SAT but not in VAT.

**Conclusion:** During obesity, arterioles of visceral fat are less sensitive to flow-induced dilation and flow-induced NO generation compared to arterioles of subcutaneous adipose tissue. Microvascular reactivity to flow is mediated by different regulatory mechanisms in visceral and subcutaneous fat.

# A KORAI INGERGAZDAG KÖRNYEZET ÉS A PACAP KEZELÉS HATÁSÁNAK VIZSGÁLATA A DOPAMIN SZINT VÁLTOZÁSÁRA 1 ÉVES PATKÁNY PARKINSON-KÓR MODELLBEN

Jüngling Adél<sup>1</sup>, Reglődi Dóra<sup>1</sup>, Maász Gábor<sup>2</sup>, Zrínyi Zita<sup>2</sup>, Császár András<sup>1</sup>, Rivnyák Ádám<sup>1</sup>, Petrovics Dóra<sup>3</sup>, Fülöp B. Dániel<sup>1</sup>, Gaszner Balázs<sup>1</sup>, Kiss István<sup>2</sup>, Pirger Zsolt<sup>2</sup>, Tamás Andrea<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Pécsi Tudományegyetem, Anatómiai Intézet, MTA-PTE „Lendület” PACAP Munkacsoport, Pécs

<sup>2</sup>MTA Ökológiai Kutatóközpont, Balatoni Limnológiai Intézet, Tihany

<sup>3</sup>Pécsi Tudományegyetem, Biokémiai és Orvosi Kémiai Intézet, Pécs

**Bevezetés:** A Parkinson-kór oki terápiája a mai napig nem ismert. Az ingergazdag környezet és a hipofízis adenilát cikláz-aktiváló polipeptid (PACAP) neuroprotektív hatását korábban már bizonyítottuk Parkinson-kór modellben fiatal állatokban. Jelen kísérletünk célja az ingergazdag környezet és a PACAP kezelés hatásának vizsgálata idősödő patkány Parkinson-kór modellben.

**Módszerek:** Kísérleteinket Wistar patkányokon végeztük (n=15). Az állatok felét (n=8) az első 5 postnatális héten ingergazdag környezetben neveltük, a másik csoport (n=7) születéstől kezdve hagyományos körülmények között nevelkedett. Egy éves korban Parkinson-kór modellezése céljából a bal oldali substantia nigra területére 2 µl (5µg/µl) 6-OHDA-t injektáltunk, a kontroll csoportnál pedig fiziológiás sóoldatot használtunk. Az ingerszegény állatok egy csoportja 6-OHDA terápiát követően 2 µl (1µg/µl) lokális PACAP kezelésben is részesült. A postoperatív 7. napon LCMS módszerrel meghatároztuk a substantia nigra dopamin (DA) és serotonin (5-HT) szintjét.

**Eredmények:** A fiziológiás sóoldat egyik csoportban sem csökkentette szignifikánsan a DA szintet. A 6-OHDA-nal kezelt állatokban a DA szint szignifikáns csökkenést mutatott a fiziológiás sóoldattal kezelt állatokhoz képest mindkét csoportban. A normál és ingergazdag, 6-OHDA-al kezelt állatok DA szintje között nem találtunk különbséget. Ezzel szemben a korábbi, 3 hónapos állatokon végzett vizsgálatainkhoz hasonlóan a PACAP közel 15%-os DA-szint emelkedést okozott a 6-OHDA-al kezelt ingerszegény csoportban. A substantia nigra serotonin szintjét tekintve egyik csoportban sem tapasztaltunk szignifikáns eltérést.

**Következtetések:** Kísérletünkben az ingergazdag környezet fiatal korban már bizonyított protektív hatását nem tudtuk igazolni. Ezzel szemben korábbi vizsgálatainkhoz hasonlóan idős állatokban is kimutattuk, hogy a PACAP kezelés képes emelni a substantia nigra DA szintjét, amely hatásnak fontos szerepe lehet neuroprotektív hatásának kifejtésében.

**Támogatók:** OTKA-K104984, Nemzeti Agykutatási Program-KTIA\_13\_NAP-A-III/5, Bolyai Scholarship, MTA-PTE „Lendület” Program.



# ACCELERATING ANTIBODY DISCOVERY USING TRANSGENIC ANIMALS OVEREXPRESSING THE NEONATAL FC RECEPTOR (FCRN) AS A RESULT OF AUGMENTED HUMORAL IMMUNITY

**Imre Kacskovics**<sup>1,2</sup>, Peter Karoly Jani<sup>2</sup>, Bence Szikora<sup>1</sup>, Maria Baranyi<sup>2</sup>,  
Attila Illiás<sup>1</sup>, Judit Cervenak<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Eötvös Loránd Tudományegyetem, Immunológiai Tanszék, Budapest*

<sup>2</sup>*ImmunoGenes Kft, Budakeszi*

In recent years, there has been an increasing demand for the development of faster and more efficient technologies for the generation of monoclonal antibodies against challenging targets that are weakly immunogenic or available only in limited amounts. Typical classes of such targets are cell surface antigens such as G-protein related receptors (GPCRs) or ion channels. We have developed transgenic (Tg) mice and rabbits that overexpress the neonatal Fc receptor (FcRn), resulting in an augmented humoral immune response even if challenging antigens are used for immunization. The impressively enhanced FcRn-mediated immune reactions are characterized by improved IgG protection and enhanced antigen presentation leading to greater number of antigen-specific T-helper and B-cell activation in lymphoid organs. Notably, these animals do not show any sign of autoimmunity and can be efficiently bred. FcRn overexpression thus leads to a number of practical benefits for improved generation of monoclonal and polyclonal antibodies against multiple antigens, including weakly immunogenic epitopes or tiny amounts of proteins.

# A KRÓNIKUS STRESSZ HATÁSA A FRONTO-KORTIKÁLIS GABAERG NEURONOK SZÁMÁRA

**Kalanyáné Varga Zsófia Katalin**<sup>1</sup>, Csabai Dávid<sup>1</sup>, Miseta Attila<sup>2</sup>, Ove Wiborg<sup>3</sup>, Czéh Boldizsár<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup>MTA-PTE, A stressz neurobiológiája kutatócsoport, Szentágothai Kutatóközpont, Pécs

<sup>2</sup>Laboratóriumi Medicina Intézet, Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvosi Kar, Pécs

<sup>3</sup>Translational Neuropsychiatry Unit, Department of Clinical Medicine, Aarhus, University, Risskov, Dánia

Csoportunk korábbi tanulmányai már kimutatták a GABAerg neuronok számának szignifikáns csökkenését krónikus stressznek kitett patkányok hippocampusában. Újabb kutatómunkánk során arra a kérdésre kerestünk választ, hogy hasonló változások tapasztalhatóak-e az agykéreg más területein, jelen esetben a prefrontális kéregben is.

Ehhez az ún. krónikus enyhe stressz (Chronic Mild Stress = CMS) patkánymodellt használtuk, ami az egyik legjobb depresszió modell. A patkányok 9 héten keresztül minden nap random stressznek voltak alávetve, emellett pedig szukróz felvételüket mértük egy korábban állatonként felvett alapértékhez képest. Ez alapján három csoportba soroltuk be az állatokat: kontroll-, anhedóniás- és rezisztens csoportokba.

A stresszelési időszak végeztével az állatokat túlaltattuk, perfundáltuk, agyukat eltávolítottuk, majd a különböző GABAerg interneuron típusokat immunhisztokémiai módszerrel jelöltük. Jelen esetben a parvalbumint (PV)-, calbindint (CB)- illetve a kolecisztokinint (CCK) expresszáló sejteket jelöltük.

Az interneuronokat a különböző kérgi területeken (anterior cingulum, prelimbikus, infralimbikus, mediális-orbitofrontális, ventrális-orbitofrontális, laterális-orbitofrontális, dorzális-laterális-orbitofrontális) számoltuk, és a területek térfogatát is meghatároztuk. Ez alapján kiszámoltuk a vizsgált interneuronok sűrűségét. Belső kontrollként a primer motoros kéreg területén is elvégeztük ugyanezt. Külön figyelmet fordítottunk az agyféltekék esetleges eltéréseire is.

Összességében adataink ismét megerősítették a krónikus enyhe stressz hatását a GABAerg interneuronok különböző szubpopulációinak integritására, ami hatással lehet az összes kérgi funkcióra egyaránt.

Tapasztalataink azt mutatták, hogy a krónikus enyhe stressz valóban hatott az interneuronok számára és eloszlására egyaránt. Mindhárom vizsgált expressziójú interneuron családnál szignifikáns eltéréseket találtunk mindkét féltekén az infralimbikus területeken. A CB+ neuronok esetében a bal féltekén további eltérések is mutatkoztak.

Támogatók: Nemezeti Agykutatás Program (KTIA\_NAP\_13-2-2014-0019) és a Lundbeck Foundation (R83-A7631).

# A FOSZFOLIPÁZ C $\gamma$ 2 SEJTSPECIFIKUS TÖRLÉSÉNEK HATÁSAI A K/BXN SZÉRUMTRANSZFER ARTRITISZ MODELLBEN

**Kása Orsolya**<sup>1,2</sup>, Futosi Krisztina<sup>1,2</sup>, Esil Aleyd<sup>3</sup>, Jakus Zoltán<sup>1</sup>, Mócsai Attila<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Semmelweis Egyetem, Élettani Intézet, Budapest

<sup>2</sup>SE-MTA „Lendület” Gyulladásélettan Kutatócsoport, Budapest

<sup>3</sup>Department of Molecular Cell Biology and Immunology, VU University Medical Center, Amsterdam, The Netherlands

**Bevezetés:** A reumatoid artritisz egy súlyos autoimmun betegség, amely a humán populáció 1%-át érinti. A patomechanizmusa máig nem teljesen tisztázott. Kutatócsoportunk korábbi eredményei alapján a foszfolipáz C $\gamma$ 2 (PLC $\gamma$ 2) fontos szerepet játszik a betegség egyik egérmódelijének, a K/BxN szérumtranszfer artritisz effektor fázisában. Az eredmények között szerepel az is, hogy ez a hatás hemopoetikus eredetű. A reumatoid artritisz ezen állatmodelljében fontos szerepet töltenek be a különböző hemopoetikus eredetű sejtek, mint például a neutrofil granulociták, makrofágok, vérlemezkék és a hízósejtek. Kutatásunk célja volt a PLC $\gamma$ 2 szerepének vizsgálata ezekben a sejt típusokban a K/BxN szérumtranszfer artritisz modellben.

**Módszerek:** A PLC $\gamma$ 2 sejt-specifikus delécióját a Cre/Lox rendszer használatával értük el. A Vav, LysM, MRP8, Pf4 és Mcpt5 gének promótere által hajtott Cre rekombinázt tartalmazó (VavCre, LysMCre/Cre, MRP8Cre, Pf4Cre and Mcpt5Cre) transzgenikus egereket PLC $\gamma$ 2flox/flox egerekkel kereszteztük. Az utódok autoantitesteket tartalmazó, azaz artritogén, illetve kontroll szérumot kaptak intraperitoneálisan, majd 14 napon át követtük az ízületi gyulladás kialakulását klinikai pontozással és bokavastagság mérésével.

**Eredmények:** Az artritogén szérummal kezelt vad típusú egerek bokaízületei begyulladtak, viszont az ízületi gyulladásnak semmilyen látható jele nem volt az ugyanazzal a szérummal kezelt VavCrePLC $\gamma$ 2flox/flox és LysMCre/CrePLC $\gamma$ 2flox/flox állatokon. Az MRP8CrePLC $\gamma$ 2flox/flox egerek szinte teljesen védettek voltak a gyulladás kialakulásával szemben. Ezzel ellentétben a Pf4CrePLC $\gamma$ 2flox/flox és az Mcpt5CrePLC $\gamma$ 2flox/flox egereknél a vad típusúaknál megfigyelhető, súlyos ízületi gyulladás alakult ki.

**Következtetések:** Eredményeink azt mutatják, hogy a PLC $\gamma$ 2 expressziója a myeloid sejtekben - különösen a neutrofil granulocitákban - elengedhetetlen a K/BxN szérumtranszfer artritisz kialakulásához egerekben. Ezzel szemben a PLC $\gamma$ 2 hiánya a vérlemezkékben és a hízósejtekben nem károsítja a fenotípust a reumatoid artritisz ezen állatmodelljében.

# SUPER-RESOLUTION MOLECULAR IMAGING IN BRAIN CIRCUITS

**István Katona**, László Barna, Barna Dudok, Vivien Miczán, Gyula Balla,  
András Horváth, Zsófia László

*LB, BB, MV, ZIL, IK: Momentum Laboratory of Molecular Neurobiology, Institute of Experimental Medicine, Hungarian Academy of Sciences, Budapest, Hungary; AH: Faculty of Information Technology and Bionics, Pázmány Péter Catholic University, Budapest, Hungary*

Our knowledge on the molecular parameters underlying synaptic communication between specific neurons remains rather limited due to technical obstacles. In our talk, we will introduce an approach, which combines whole-cell patch-clamp electrophysiological recording, confocal microscopy and STORM superresolution imaging, thereby enabling cell-specific integrated analysis of physiological and anatomical properties with nanoscale molecular imaging at identified synapses. The experimental protocol can be carried out in a few days and uncovers the localization of synaptic proteins with excellent sensitivity and specificity in intact brain circuits. To support the correlative visualization and analysis of confocal and STORM microscopy data, we have prepared new computational analysis tools, including the freely available VividSTORM software ( <http://katonalab.hu/vividstorm2/> ). We will demonstrate how nanoscale molecular investigations by VividSTORM in association with physiological and anatomical characterization helped to reveal the pyramidal cell- and interneuron type-specific molecular architecture of endocannabinoid signaling, and uncovered robust cannabinoid receptor downregulation upon chronic treatment with THC, the psychoactive substance in cannabis products.

# A MIR-17-5P GÁTLÁSA RONTJA A VESE ISZKÉMIA-REPERFÚZIÓS KÁROSODÁS KIMENETELÉT

**Kaucsár Tamás**<sup>1</sup>, Lorenzen Johan<sup>2</sup>, Godó Mária<sup>1</sup>, Tod Pál<sup>1</sup>, Szénási Gábor<sup>1</sup>, Thum Thomas<sup>2</sup>, Hamar Péter<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Kórleltani Intézet, Semmelweis Egyetem, Budapest

<sup>2</sup>Molekuláris és Transzlációs Terápiás Stratégiák Intézet, Hannoveri Orvosi Egyetem, Hannover, Németország

**Bevezetés:** Az ischemia-reperfúzió (IR) az akut vesekárosodás (AVK) egyik leggyakoribb oka, mely egyúttal hosszú távon növeli a fibrózist és így a krónikus vesebetegség kialakulásának rizikóját. A posttranscriptionális géncsendesítést kiváltó, fehérjét nem kódoló mikroRNS-eket számos betegséggel hozták összefüggésbe. Munkacsoportunk korábban a pro-proliferatív és anti-apoptotikus miR-17-5p növekedését mutatta ki IR indukált AVK-ban. Kísérleteink célja a miR-17-5p emelkedés funkcionális vizsgálata volt.

**Módszer:** C57BL/6N egereken egyoldali IR-rel indukáltunk AVK-t. Az IR műtét előtt egy nappal miR-17-5p-t gátló (17-LNA-IR csoport, N=5), illetve nem-csendesítő, kevert (scrambled, SCR-IR csoport, N=5) szekvenciájú zárt nukleinsav (locked nucleic acid, LNA) módosított antiszensz oligonukleotiddal kezeltük (ip. inj., dózis: 10 mg/kg) az egereket. Az egerek egy csoportjában még az IR műtét során eltávolítottuk az ellenoldali vesét (non-IR) és naponta követtük az vesefunkciót (plazma urea), illetve a 3. reperfúziós napon a teljes vese homogenizátumból real-time PCR-rel megvizsgáltuk a tubulus károsodásra (KIM1 és NGAL), gyulladásra (IL6) és regenerációra (Ki67) jellemző markerek mRNS szintjét. Egy másik csoportban nem távolítottuk el az ellenoldali vesét és a 7. reperfúziós napon megvizsgáltuk a fibrózis mértékét szövettani metszeteken (Masson's trikróm), illetve fibrotikus gének expressziójával (fibronektin, FN1; kollagén, COL1a1).

**Eredmények:** Az IR indukálta miR-17-5p expresszió emelkedést (4,1x,  $p < 0,0001$ ; SCR-IR vs non-IR) 36%-kal csökkentette a specifikus LNA gátlás a 3. reperfúziós napon ( $p < 0,05$ ; 17-LNA-IR vs SCR-IR). A Ki67 mRNS szint egy nagyságrenddel emelkedett IR után a 3. napon ( $p < 0,0001$ ; SCR-IR vs non-IR), viszont a miR-17-5p gátlása 20%-kal csökkentette a Ki67 mRNS szintet ( $p < 0,05$ ; 17-LNA-IR vs SCR-IR). A plazma urea, illetve a KIM1, NGAL és IL6 mRNS szintjeit a miR-17-5p gátlás nem befolyásolta ( $p > 0,2$ ; 17-LNA-IR vs SCR-IR). A 7. reperfúziós napra kialakuló fibrózist (Masson's: 2,4x,  $p < 0,05$ ; FN1: 5,2x,  $p < 0,01$ ; COL1a1: 11,8x,  $p < 0,05$ ; SCR-IR vs non-IR) a miR-17-5p gátlás tovább fokozta (Masson's: 1,7x,  $p < 0,05$ ; FN1: 1,5x,  $p = 0,09$ ; COL1a1: 1,5x,  $p = 0,16$ ; 17-LNA-IR vs SCR-IR).

**Következtés:** A miR-17-5p gátlásának negatív hatása volt az IR-indukált AKI kimenetelére: egyrészt gátolta a vese regenerációját, másrészt súlyosbította a fibrózis kialakulását. Feltételezzük, hogy a miR-17-5p pótlása terápiás potenciállal bírhat, melynek igazolásához további kísérletek szükségesek.

# OLANZAPIN KEZELÉS HATÁSAI EGY KOMPLEX SZKIZOFRÉNIA PATKÁNYMODELLEN

**Kékesi Gabriella**, Büki Alexandra, Benedek György, Horváth Gyöngyi  
*Szegedi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Élettani Intézet, Szeged*

Az elválasztást követő szociális izoláció, a fiatalkori szubkrónikus ketamin kezelés és a szelektív szaporítás együttes alkalmazása számos, szkizofréniára jellemző tünet hoz létre patkányokban (komplex szkizofrénia modell). Vizsgálataink csökkent fájdalomérzékenységet, lokomotoros és ágaskodási aktivitást; a szenzoros kapuzás, a referencia és a térbeli memória romlását, és a hőszabályozás zavarát mutatták ki. Az antipszichotikumok elsősorban a pozitív tünetek (hallucinációk, téveszmék, dezorganizált beszéd és viselkedés) kezelésére alkalmasak. A negatív tünetek és kognitív zavarok kezelésének hatékonyabbá tétele és a mellékhatások csökkentése továbbra is kihívást jelent a gyógyszerkutatásban. Ehhez olyan preklinikai állatmodellek szükségesek, melyek megfelelő prediktív validitással is rendelkeznek, ezért az olanzapin hatékonyságát vizsgáltuk a szelektív szaporítás 26. generációjának hím egyedeiben.

**Módszer:** Négy csoportot vizsgáltuk: naiv (Wistar) és szelektíven szaporított (új alfajta szkizofrén endofenotípussal), oldószerrel illetve olanzapinnal kezelt állatok. A fájdalomérzékenység vizsgálatára a farok-elrántási (TF) tesztet, a szenzoros kapuzás vizsgálatára a prepulzus-gátlás módszerét (PPI), a kognitív funkciók mérésére pedig egy általunk kifejlesztett tesztet (Ambitus rendszer) alkalmaztunk (9-10 hetes korban). A viselkedési tesztet követően az olanzapint (retard szuszpenzió) és oldószerét intramusculáris injekció formájában, 9 nap különbséggel kétszer adtuk (11 és 12 hetes korban), majd a kezelés hatékonyságát a tesztek ismétlésével ellenőriztük (13-14 hetes korban).

**Eredmények:** Az új alfajta állataiban az akut fájdalomküszöb szignifikáns emelkedését, a szenzoros kapuzás folyamatának károsodását, valamint a kognitív funkciók szignifikáns romlását tapasztaltuk. A naiv, oldószerrel kezelt állatokban a fájdalomküszöb emelkedését és a kognitív funkciók feladatfüggő hanyatlását figyeltük meg a kor előrehaladtával, a szenzoros kapuzás viszont nem változott. Az oldószeres kezelés nem befolyásolta a fájdalomérzékenységet és a kognitív tesztek eredményét egyik csoportban sem. Az olanzapinnal kezelt naiv állatokban a fájdalomküszöb szignifikánsan nagyobb volt, mint az oldószeres csoportban, a többi paraméter viszont nem változott. A szenzoros kapuzás szignifikáns romlását tapasztaltuk az új alfajta egyedeiben, amit az olanzapin kezelés teljesen kivédett.

Komplex modellünk egyedei elsősorban a szkizofréniához köthető negatív és kognitív tüneteket mutatják, a pozitív tünetek közül rágcsálókön főként a szenzoros kapuzás károsodása vizsgálható. Az olanzapin kezelés a PPI további romlását megakadályozta, ugyanakkor a kognitív deficiten nem javított. Eredményeink modellünk prediktív validitását erősítik, ugyanakkor szorgalmazzák olyan anyagok felkutatását, melyek az antipszichotikus hatás mellett prokognitív hatással is bírnak.

**Támogatások:** OTKA (K83810), TÁMOP-4.2.2.B-15/1/KONV-2015-0006.

# A TRANZIENS RECEPTOR POTENCIÁL ANKYRIN 1 RECEPTOROK SZEREPE AZ IMIQUIMODDAL KIVÁLTOTT PSZORIÁZIS-SZERŰ EGÉR MODELLBEN

**Kemény Ágnes**<sup>1,2</sup>, Horváth Szabina<sup>3</sup>, Komlódi Rita<sup>1</sup>, Gyömörei Csaba<sup>4</sup>, Bölcskei Kata<sup>1</sup>, Pintér Erika<sup>1</sup>, Gyulai Rolland<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Pécsi Tudományegyetem, Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet

<sup>2</sup>Orvosi Biológiai Intézet

<sup>3</sup>Bőr-, Nemikórtani és Onkodermatológiai Klinika

<sup>4</sup>Pathológiai Intézet

A pikkelysömör (psoriasis) a bőr keratinocitáinak túlbujánzásával, fokozott működésével, a bőr elszarusodásával járó krónikus, immunmediált bőrgyulladás, melyben a genetikai tényezők is jelentős szereppel bírnak, és a népesség 2-4%-át érinti. A betegség jellemző tünetei az élesen körülhatárolt, viaszosan hámló, duzzadt, eritemás bőrterületek, melyek súlyosságát környezeti tényezők is befolyásolják. Az imiquimod (IMQ) egy nukleotid-szerű kismolekula, mely az immunrendszer egyes sejtjeit (plazmacitoid dendritikus sejtek, Langerhans sejtek) az endoszómák membránjában található toll-like receptor 7 és 8 receptorokon keresztül aktiválja. Az IMQ-dal kiváltott bőrgyulladás elfogadott állatkísérletes módszer a pikkelysömör vizsgálatára. A Tranziens Receptor Potenciál Ankyrin 1 receptorok (TRPA1) számos bőrben található sejten expresszálódnak (keratinociták, melanociták, perifériás idegvégződés) és aktivációjuk hozzájárulhat a gyulladásos folyamatok modulálásához. Kísérleteink célja volt meghatározni e receptor pontos szerepét az IMQ-dal kiváltott pszoriázis-szerű egér modellben.

A kísérleteket TRPA1 vad típusú illetve génhíányos (KO) állatokkal végeztük, a vonatkozó állatvédelmi és etikai törvények betartásával. Az állatok hátbőrére altatást követően (ketamin+xylazin) két finn kamrát helyeztünk fel, melyeket 20 mg 5% IMQ tartalmú krémmel (Aldara, Meda Pharma) illetve azonos mennyiségű vazelinnel (kontroll) töltöttünk meg. Ezt a kezelést 5 napon keresztül ismételtük a pszoriázis-szerű reakció kiváltására. A bőrgyulladás során kialakuló ödémát mikrométerrel mértük a kezelés előtt, illetve az öt napos kísérlet során minden nap a kezelt területeken. A duzzadás mértékét a kezdő időpontban mért érték %-ában fejeztük ki. A kezelt terület vérátáramlásának nyomon követésére LASCA (LASer Speckle Contrast Analysis - PeriCam PSI System) módszert alkalmaztunk. A kísérlet végén levett szövetmintákból hematoxin-eozin szövetetani metszeteket készítettünk a gyulladás általános szövetetani elváltozásainak megállapításához melyet patológus értékelt. A kezelt bőrszövetekben real-time PCR segítségével meghatároztuk a tumor nekrosis faktor-alfa (TNF-a), interleukin-1 béta (IL-1b), IL-23, IL-22 és IL-17 gyulladásos citokinek relatív expresszióját.

Az öt napos kísérlet harmadik napjától a kísérlet végéig fennálló 30-60%-os, jelentős fülduzzadás volt megfigyelhető mindkét egértörzsben a kontrol területhez képest. A TRPA1 receptor hiánya a duzzadást szignifikáns mértékben fokozta a harmadik és negyedik napon. A kezelt terület vérátáramlása a kísérlet 3. napjától fokozottabb volt a TRPA1 génhíányos egércsoportban, és az 5. napra szignifikáns különbséget mutatott. A kezelést követő 6, 48 és 96 óra múlva levett bőrmintákban megemelkedett az egyes gyulladásos citokinek relatív expressziója, mely a TNF-a, IL-1b és IL-22 esetében magasabb volt a TRPA1 KO állatokban. A szövetetani elváltozások jól mutatták a humán pszoriázisra jellemző tüneteket, és enyhén súlyosabbak voltak a génhíányos egércsoportban.

Kísérleteinkből arra következtetünk, hogy a TRPA1 receptorok gyulladáscsökkentő hatást közvetítenek az imiquimoddal kiváltott pszoriázis-szerű bőrgyulladás során, mivel ezen receptorok hiányában a gyulladásos tünetek romlottak.

Munkánkat támogatta: a Nemzeti Agykutató Program - KTIA\_13\_NAP-A-III/4, az OTKA-NN-114458 és a PTE ÁOK-KA-2015/11 pályázatok.

# A HOMOSZERIN LAKTON $Ca^{2+}$ BEÁRAMLÁST ÉS KONCENTRÁCIÓ-FÜGGŐ CAMP SZINT VÁLTOZÁST INDUKÁL CISZTÁS FIBRÓZISOS LÉGÚTI HÁMSEJTEKBE

Kéri Adrienn<sup>1</sup>, Trencsényiné Balázs Bernadett<sup>2</sup>, Zsembery Ákos<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Fogorvostudományi Kar, Orálbiológiai Tanszék

<sup>2</sup>Általános Orvostudományi Kar, Élettani Intézet, Semmelweis Egyetem, Budapest

**Bevezetés:** A cisztás fibrózisban (CF) szenvedő betegek halálozásának egyik legfőbb oka a *P. aeruginosa* által okozott krónikus tüdőgyulladás és annak komplikációi. A baktériumok virulencia faktorainak expresszióját az ún. „quorum sensing” (QS) szignalizáció szabályozza. A *P. aeruginosa* QS molekulaként homoszerin laktont (HSL) szintetizál, mely elősegíti a biofilm-képzést és szerepet játszhat a légúti hámsejtek működésének megváltozásában. Korábbi tanulmányokban kimutatták, hogy különféle hámsejtekben a HSL intracelluláris (IC)  $Ca^{2+}$  jelet indukál, mely a sejt-sejt közötti kapcsolatok meggyengüléséhez, illetve korai sejthalálhoz vezethet. Mindemellett a HSL autokrin és/vagy parakrin módon szabályozhatja az adenilát cikláz (AC) enzim aktivitását is. Következésképpen, célunk a HSL  $Ca^{2+}$  és cAMP szignálra gyakorolt hatásának vizsgálata volt CF légúti hámsejtekben.

**Módszerek:** A CFBE sejteket 37°C-on, 5%  $CO_2$  jelenlétében, DMEM/F12 médiumban tartottuk fenn. Az IC  $Ca^{2+}$  koncentráció változásának méréséhez és a  $Mn^{2+}$  beáramlás sebességének detektálásához a sejteket fluoreszcens festékkel (Fura-2-AM; 4  $\mu$ M) töltöttük fel, majd a fluoreszcencia intenzitásának változását inverz konfokális mikroszkóp segítségével az egyes sejtek szintjén regisztráltuk. Az IC cAMP koncentrációt Cyclic AMP XPTM Assay Kit felhasználásával kompetitív ELISA mérés alapján detektáltuk.

**Eredmények:** A CFBE-WT sejtekben, extracelluláris (EC)  $Ca^{2+}$  (2 mM) jelenlétében a HSL koncentrációfüggő (20, 100, 200  $\mu$ M) IC  $Ca^{2+}$  szint emelkedést indukált. Ezzel szemben a HSL (200  $\mu$ M) nem okozott IC  $Ca^{2+}$  jelet sem nominálisan  $Ca^{2+}$  mentes oldatban, sem a SERCA gátló, thapsigargin (200 nM) előkezelést követően. A HSL (200  $\mu$ M) indukálta  $Mn^{2+}$  beáramlás megerősítette, hogy az IC  $Ca^{2+}$  jel forrása az EC  $Ca^{2+}$  volt. A HSL (100, 200, 500  $\mu$ M) gátolta mind a forskolin önálló, mind a forskolin és IBMX együttes IC cAMP szintet növelő hatását. Ezzel szemben a HSL kisebb koncentrációban (0,1, 1  $\mu$ M) potenciózta a forskolin hatását.

**Következtetések:** A HSL koncentrációfüggő  $Ca^{2+}$  beáramlást és cAMP szint változást indukált, ami szerepet játszhat a CF légúti hámsejtek elektrolit és víztranszportjának megváltozásában. A  $Ca^{2+}$  és/vagy cAMP koncentrációk tartós változása, korai sejthalálhoz és a sejt-sejt közötti kapcsolatok károsodásához vezethet.



# CENTRÁLISAN ADOTT CHOLECYSTOKININ TERMOREGULÁCIÓS HATÁSÁNAK VIZSGÁLATA PATKÁNYBAN

**Kéringer Patrik**<sup>1</sup>, Füredi Nóra<sup>1</sup>, Khidhir Nóra<sup>1</sup>, Mikó Alexandra<sup>1</sup>, Solymár Margit<sup>1</sup>, Székely Miklós<sup>1</sup>, Gaszner Balázs<sup>2</sup>, Garami András<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Transzlációs Medicina Intézet, Termofiziológia Kutatócsoport, Pécs

<sup>2</sup>Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Anatómiai Intézet, Pécs

**Bevezetés:** A testhőmérséklet szabályozásának elemei egyre jobban ismertek, azonban bizonyos mediátorok szerepe máig tisztázatlan. Ilyen a cholecystokinin (CCK) is, amelynek centrális adásra bekövetkező maghőmérséklet-emelő hatását korábban már kimutatták. A CCK-indukálta hipertermia és az endotoxinok által kiváltott láz között több párhuzam vonható: mindkettőben szerepet játszik barna zsírszöveti termogenezis, bőrér konstrikció, továbbá megfigyelhetők a kóros viselkedésmintázatok (pl. anorexia). Tisztázatlan azonban, hogy a centrális CCK milyen molekuláris mechanizmussal fejti ki lázhoz hasonló hatását, szerepet játszik-e abban az arachidonsav kaszkád aktiválása.

**Célkitűzések:** Centrálisan adott CCK maghőmérséklet-fokozó és anorexigén hatásának, valamint ezek nemselektív ciklooxygenáz (COX) gátlóval (Algopyrin) történő kivédésének in vivo vizsgálata patkányokban. A c-Fos neuronális aktivációs marker expressziójának vizsgálata az endotoxin láz kialakulásában bizonyítottan szerepet játszó medialis preopticus area (MPO) és a nucleus preopticus medianus (MnPO) hypothalamicus régiókban.

**Módszerek:** Hím Wistar patkányok (n=6/csoport) laterális agykamrájába adott CCK és intraperitoneálisan adott Algopyrin injekció után mértük a maghőmérséklet változását termoelem segítségével, illetve éhezés-indukálta táplálékfelvételük alakulását manuálisan. In vitro kísérleteinkben indirekt immunhisztokémiai módszerrel vizsgáltuk a c-Fos expresszió változását a MPO és MnPO régiókban. Eredmények: In vivo az Algopyrin gátolta a CCK maghőmérséklet-növelő hatását, míg a CCK anorexigén hatását nem befolyásolta. Immunhisztokémiai vizsgálatunkban a CCK-indukálta c-Fos expresszáló sejtek száma alacsonyabbnak bizonyult a MPO régióban COX gátló hatására, míg a MnPO esetében mindössze tendencia mutatkozott hasonló csökkenésre.

**Következtetés:** Centrális CCK termoregulatórikus hatásai kivédhetők a COX rendszer gátlásával, ezzel bizonyítottuk a COX rendszer szerepét CCK jelátvitelében. Eredményeink terápiás jelentősége perspektivikusan a CCK jelátvitel, és ezzel a lázválasz gátlása, anélkül, hogy az arachidonsav kaszkád befolyásolása révén gasztro-intesztinális mellékhatásokat okoznánk.

**Támogatás:** OTKA PD105532, PTE-AOK-KA-2015-14.

# EFFECTS OF ZEARALENONE ON ESTROGEN- AND THYROID HORMONE RECEPTORS EXPRESSION IN PRIMARY CEREBELLAR CELL CULTURE

**Annamaria Kerti**, Gergely Jocsak, Istvan Toth, David S. Kiss, Tibor Bartha, Laszlo V. Frenyo, Attila Zsarnovszky

*Department of Physiology and Biochemistry, Szent Istvan University Faculty of Veterinary Science, Budapest, Hungary*

*Department of Animal Physiology and Animal Health, Szent Istvan University Faculty of Agricultural and Environmental Sciences, Godollo, Hungary*

*Yale School of Medicine, Comparative Medicine, New Haven, United States*

Zearalenone is a mycotoxin that is produced due to fungi-contamination (*Aspergillus* species) of grains. Zearalenone, if consumed, acts as a so-called endocrine disruptor; i.e., it modulates a wide variety of normal hormone-regulated mechanisms. The pathological consequences of zearalenone ingestion are extremely versatile and highly depend on the actual chemical structure and the affected signaling pathways. In our study, we examined the effect of zearalenone on estrogen- and thyroid hormone receptor expression on transcriptional (mRNA) and translational (protein) levels in glial containing and glia-reduced primary cerebellar cell cultures. Results were compared to non-treated controls and to samples obtained from age-matched *in situ* cerebella. Our results revealed that relevant receptor expression levels depend on individual presence of estrogen and thyroid hormones, as well as on the combined appearance of the two hormones. Zearalenone has characteristic, but distinct effects on the expression levels; that is further modulated by the glial cells that play an important role in the hormonal regulation of neuronal receptor expressions. These observations suggest that both estrogen and thyroid hormones, in adequate amounts, are required for the precise cerebellar orchestration during the normal development. Furthermore, our results also showed that interactions between endogenous and exogenous hormone-like factors (in particular: interplay between zearalenone-estrogen-thyroid hormones) influence cerebellar development in a very complex manner, and these interactions are much more complicated than it was previously thought.

# A GERIÁTRIA LEGJELENTŐSEBB KIHÍVÁSAI: AZ IDŐSKORI HYPERTONIA KEZELÉSE

**Kiss István**

*Semmelweis Egyetem, ÁOK, II. Belgyógyászati Klinika, Geriátriai Tanszéki Csoport*

Az időskorban megjelenő és ahhoz társuló betegségek közül az egyik leggyakoribb a magasvérnyomás betegség. Mind a nemzetközi, mind pedig a magyarországi epidemiológiai adatok az igazolják, hogy 75 év felett az egyének több mint 80%-a hipertonia betegségben szenved. Ez lehet más betegség szövődménye, de legtöbb esetben az atherosclerotikus folyamat következménye. Jellegzetessége elsősorban a szisztolés vérnyomásemelkedés, a jelentős variabilitás és a nagy pulzus-amplitúdó.

A mai ismereteink szerint a szisztolés és diasztolés vérnyomás csökkentésére alkalmazható bázisterápia időskorban a RAS rendszert gátló terápia, diuretikummal és kalciumantagonista hatóanyaggal kombinálva. Izolált szisztolés hipertonia esetében a kalciumantagonista alkalmazása kerül előtérbe, jelentős vazodilatátor hatása miatt, és e mellett alkalmazhatunk kombinációban diuretikumot és/vagy RAS gátlót.

Mindemellett jellegzetessége az időskori hipertoniának, hogy fokozott szimpatikus aktivitás kísérheti, melynek kezelése az alkalmazható hatóanyagok mellékhatásai miatt korlátozott. A centrális agonista hatású szerek, illetve a béta blokkolók óvatos alkalmazása jelentheti e kérdésben az antihypertenzív kombinált terápia módosítását, illetve kiegészítését.

Természetesen gondolnunk kell az ugyancsak időskorra manifesztálódó gyakori 2-es típusú diabetes mellitus megjelenésére és a lipid háztartás zavarára is. Fontos, hogy az alkalmazott vérnyomáscsökkentők metabolikusan semlegesek legyenek, ne befolyásolják a vércukor és lipid háztartást, de ne növeljék a húgysavszintet se.

A vérnyomás célértékének elérése jelenti a legfőbb kardiovaszkuláris kockázatcsökkentést. Sajnos napjainkban is csak 50%-ot közelíti a célérték elérés aránya hipertóniás betegekben. Természetesen időskorban a nagyon jelentős vérnyomáscsökkenés is komoly veszéllyel jár, mivel a 60 Hgmm alá csökkentett diasztolés vérnyomás már koszorúér keringési elégtelenséget okozhat. A legújabb szakmai irányelvekben ezért is az általánosan meghatározott 140/90 Hgmm alatti célértékhez képest, 14-0150 közötti szisztolés vérnyomásérték az ajánlott, a megfelelő keringés megtartása érdekében.

A megfelelő terápiás hatás eléréséhez még szükséges időskorban is a nem gyógyszeres terápia, elsősorban a fenntartott fizikai aktivitás, de ugyanilyen jelentősége van a jó beteg együttműködésnek is. A terápiahűség időskorban jobb mint középkorúan esetében, de nagyok a szélsőségek a pontos gyógyszeres terápia és a feledékenyek között.

Mindezen terápiás elvek betartása, a betegségprogresszió és a növekvő kockázat csökkentése együttesen jelentheti az idősekkel való foglalkozás, gyógyító és gondozói tevékenység „művészi” megvalósítását.

# A KÉNHIIDROGÉN SZEREPE ÉS JELENTŐSÉGE A VASZKULÁRIS SIMAIZOM TÓNUSÁNAK SZABÁLYOZÁSÁBAN.

**Kiss Levente**, Dongó Eleni

*Semmelweis Egyetem, Élettani Intézet*

A kénhidrogénről (H<sub>2</sub>S) alkotott korábbi kép az elmúlt években jelentősen megváltozott. Ma már nemcsak mint toxikus hatásokkal bíró gázként, hanem széleskörű fiziológiai és patofiziológiai szereppel rendelkező gázotranszmitterként és általánosan előforduló szabályozó molekulaként tekinthetünk rá. A kénhidrogén pleiotróp hatással bír, melyek között megtalálható a direkt antioxidáns hatás mellett a metalloproteinek működésének módosítása, továbbá proteinek gyors, reverzibilis szulfhidrállása, mely utóbbi a protein funkciójának modulálását hozza létre. A H<sub>2</sub>S kardiovaszkuláris működésekre kifejtett hatása különösen jelentős lehet, tekintettel a gyakori magasvérnyomás-betegségre és miokardiális infarktusra. Az érfalsimaizom tónusát számos módon befolyásolhatja (KATP csatornák nyitása, eNOS aktivitás befolyásolása, simaizom foszfodiészteráz gátlása, citokróm c oxidáz gátlása, stb.), mely hatások eredője határozza meg a végső biológiai hatást. E hatások függenek a kísérletesen alkalmazott kénhidrogén-donor vegyület típusától, annak koncentrációjától, továbbá számos egyéb körülménytől. E komplexitás okozza a kénhidrogénnel kapcsolatban megjelent tanulmányok gyakran ellentmondásos eredményeit. Az előadás célja a saját és irodalmi eredmények összefoglalása alapján egy aktuális képet adni a kénhidrogén szerepéről az érfalsimaizom tónus szabályozásában.

Támogatás: OTKA K-112964, OTKA K-115607, Bolyai Ösztöndíj BO/00470/14

# BRIEF SUMMARY OF NOVEL ASPECTS OF THE AUTOREGULATION OF CEREBRAL BLOOD FLOW

## **Koller Ákos**

*University of Physical Education, Budapest, Department of Neurosurgery and Szentagotai Res Centre, University of Pecs, Hungary and Dept. of Physiology, New York Medical College, Valhalla, NY, USA*

The cerebral vascular network is enclosed in the rigid cranium. Thus any increase in pressure and/or volume could increase intracranial pressure endangering the maintenance of appropriate blood flow to brain tissues. To prevent this however, a very effective autoregulation is present, which is an important feature of the cerebral blood flow (CBF). Many previous studies have investigated this issue and logically assumed that autoregulation is somehow coupled to changes in hemodynamic forces.

**Pressure sensitive vasomotor response:** For many years, autoregulation of CBF has been primarily explained by the pressure-induced myogenic response of cerebral vessels: the inherent property of vascular smooth muscle to dilate to a decrease and to constrict to an increase in intraluminal pressure. Thus this mechanism is supposed to maintain a relatively constant blood flow during elevation or reduction in systemic blood pressure. There are two critical stretch -dependent mechanisms (Ca<sup>2+</sup>-dependent and -independent) contributing to the myogenic constriction.

**Flow sensitive vasomotor response:** During increases in systemic pressure blood flow changes as well, making it plausible that there is a vascular mechanism which is sensitive to flow changes. Indeed, recent studies support this idea. It was shown in certain cerebral vessels, such as the middle cerebral artery a mechanism exists, which is sensitive for changes in blood flow. In contrast to peripheral arterial vessels, in the presence of constant pressure increases in flow elicit constrictions in this type of vessels. The constrictions are mediated by 20-HETE (20-hydroxieicosatetraenoic acid, a constrictor metabolite of arachidonic acid synthesized by cytochrome P450 hydroxylases) and reactive oxygen species (ROS).

**Simultaneous effects of hemodynamic forces:** On the basis of above, it is plausible that in the cerebral vascular network, during increases in systemic blood pressure when both pressure and flow changes (for example during exercise) the flow-constriction is superimposed on the pressure-constriction. This double effect can achieve a sufficient decrease in vascular diameter, which substantially increases vascular resistance contributing to the maintenance i.e. "autoregulation" of CBF.

Support: National Research, Development and Innovation (NKFI) Fund, Hungary (OTKA) K 108444.

# A FIZIKAI TRÉNING OPTIMALIZÁLJA A PATKÁNY ARTÉRIÁS EREK VASOMOTOR SZABÁLYOZÁSÁT

**Koller Ákos<sup>1</sup>**, Nádasy György<sup>3</sup>, Dörnyei Gabriella<sup>1</sup>, Szekeres Mária<sup>1,2</sup>

*Természettudományi Intézet, Sportgenetikai és Sportgerontológiai Csoport, Testnevelési Egyetem, Budapest, Morfológiai és Fiziológiai Tanszék<sup>1</sup>, Semmelweis Egyetem, ETK, SE-MTA Molekuláris Élettani Kutatócsoport<sup>2</sup>, Élettani Intézet<sup>3</sup>, Semmelweis Egyetem, ÁOK, Budapest,*

**Bevezetés:** A fizikai mozgás és edzés során a vázizom és a szívizom véráramlása jelentősen megnövekszik, és ugyanakkor az intravaszkuláris hemodinamikai erők is jelentősen megnőnek. Feltételeztük, hogy a hemodinamikai erőket érzékelő vasomotor mechanizmusok adaptálódnak, lehetővé téve ezzel a vaszkuláris ellenállás optimálisabb szabályozását.

**Módszerek:** Négy héten keresztül, hím patkányok fokozatosan növekvő intenzitású edzés programban vettek részt (futószalagon napi 60 perc futás, 1,6 km/h sebességgel a végső lépésben). A szív bal leszálló koronária ág (LAD) végső, intramurális kis artériáit és a gracilis izom arterioláit vizsgáltuk in vitro nyomás-miográf rendszerben (belső átmérő 120-150  $\mu\text{m}$ , az éren belüli nyomás 50-70 Hgmm volt). Kísérleteinkben vizsgáltuk a nyomás- és áramlás-indukált átmérő válaszok mértékét, és a vasomotor mechanizmusok signal utjait. Az érfal elaszticitását, passzív ( $\text{Ca}^{2+}$ -mentes Krebs oldatban) állapotban.

**Eredmények:** Az „edzett artériák” fala szignifikánsan vastagabb volt, mint a kontrollcsoporté. Az „edzett artériák” disztenziibilitása nőtt, az elasztikus modulusuk csökkent, az alacsony nyomás tartományokban kialakuló kisebb fali stressz hatására. Az „edzett artériák” erősebb miogén választ mutattak melyet az endogén vazokonstriktor prosztanoidok kevésbé, míg az értágító nirogén monoxid (NO) fokozottabban módosította (Szekeres et al.: Exercise training-induced biomechanical...Acta Physiol Hung). 2006. Mar;93(1):1-12). Szintén, az áramlás-indukált válasz fokozottabb volt az „edzett artériákban” mint a „kontrol erekben”, a fokozottabb NO felszabadulás miatt (Koller A,et al.: Exercise training augments flow-dependent dilation... Circ Res. 1995 Apr;76(4):544-50).

**Konklúzió:** A fizikai edzésprogram nemcsak a vázizom, ill. szívizom működésére hat, hanem az azokat ellátó vaszkuláris rendszerekre is. Ennek hatására, a nyomás-indukált, konstriktor, miogén és az áramlás-indukált, dilatációs átmérő válaszok fokozódnak, kiszélesítve ezzel a szöveti mikrocirkuláció szabályozásának tartományát (szélesebb „konstriktív és dilatációs rezerv”), ami a fizikai aktivitás során megnövekedett véráramlási igény biztosítását optimálisabbá teszi, ami egyben csökkenti a szívizomra háruló „after-load”-ot is.

**Támogatás:** Országos Tudományos Kutatási Alap (NFKI-OTKA K-108444).

**Kulcsszavak:** fizikai aktivitás, sportolás, arteriola, elaszticitás, remodeling

# AZ ASZTROCITA-MEDIÁLT NEURONÁLIS LASSÚ BEFELÉ IRÁNYULÓ ÁRAMOK JELLEMZÉSE A NUCLEUS PEDUNCULOPONTINUSBAN

**Kovács Adrienn<sup>1</sup>, Szücs P.<sup>1,2</sup>, Pál B.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Élettani Intézet, Debreceni Egyetem ÁOK, Debrecen

<sup>2</sup>MTA-DE-NAP B- Fájdalom Kontroll Kutatócsoport, Debrecen

Az asztrocita aktiváció által kiváltott neuronális lassú befelé irányuló áramok („slow inward current”, SIC) számos agyi struktúrában jelen vannak. Ezek az események lassú kinetikájuk miatt különülnek el a posztzinaptikus áramoktól. A SIC-ek az asztrocitákból felszabaduló glutamát következtében alakulnak ki, amelyek a neuronális extraszinaptikus NMDA receptorokon fejtik ki hatásukat.

A PPN neuronjain többféle neuromodulációs hatás érvényesül. Korábban megmutattuk, hogy a kannabinoid szignalizáció részben asztrocita-aktiváción keresztül fejti ki a hatását, tónusos serkentő és gátló áramokat aktiválva. A SIC-ek jelenléte és szerepe a PPN-ben azonban eddig ismeretlen volt.

A PPN neuronjainak 17%-ában mutattunk ki spontán SIC-eket ( $0.057 \pm 0.03$ /perc). Kinetikai paramétereik szembevetően különböznek a serkentő posztzinaptikus áramokétól (EPSC). Mg<sup>+</sup> mentes aCSF alkalmazásakor szignifikánsan megemelkedett a SIC-ek frekvenciája ( $0.17 \pm 0.07$ /perc), viszont az NR2B alegység specifikus ifenprodil és az általános NMDA receptor gátló D-AP5 megakadályozta a SIC-ek kialakulását. A TTX nem változtatta meg a SIC-ek frekvenciáját, a thapsigargin gátolta ezen események megjelenését. A glutamáttranszporter-gátló DL-TBOA a SIC-ek frekvenciáját nem változtatta meg, de minden esetben tónusos befelé irányuló áramot keltett. Az asztrociták optogenetikai aktivációja nagymértékben megnöveli a SIC-ek frekvenciáját ( $0.48 \pm 0.1$ /perc).

A CB1 receptor agonista WIN55,212-2 alkalmazásakor a neuronok 35%-ánál megnövekedett a SIC-ek frekvenciája, 35%-ánál csökkent, 30%-ánál nem változott. A muszkarinos agonista karbakol 66%-ban növelte, 17%-ban csökkentette, a szerotonin 33%-ban növelte, 42%-ban csökkentette, az orexin-A 37%-ban növelte, 13%-ban csökkentette a SIC-ek frekvenciáját. A fenti szerek alkalmazásakor tónusos serkentő vagy gátló áramokat is megfigyeltünk, de a SIC-eken látott hatások az esetek nagy részében azoktól függetlenek voltak.

Egymástól 50 µm-nél nem messzebb levő PPN neuronokról párhuzamosan mérve nem találtunk egyidejűleg megjelenő SIC-eket; és a neurokémiai sejtípus (kolinerg vagy GABAerg neuronok) SIC-einek frekvenciája között sem volt szignifikáns különbség. Az előzetesen felvett átlagos amplitúdójú SIC-eket jelként beadva a PPN neuronjainak, 85%-uknál figyeltünk meg rövid idejű akciós potenciál tüzelést.

A fentieket összefoglalva, a SIC-ek a PPN neuronokon is jelen vannak. Asztrocita-aktiváció okozta glutamátfelszabadulás által bekövetkező (NR2B alegységet tartalmazó) NMDA receptor aktiváció áll a háttérükben. Szemben más struktúrákkal, a SIC-ek az esetek nagy részében akcióspotenciál-tüzelést váltanak ki a neuronokon, de nem szinkronizálják a szomszédos neuronokat. Különböző neuromodulációs mechanizmusokban különbözőképpen, de mindig heterogén módon, és a serkentő vagy gátló tónusos áramok kialakulásától nagyrészt függetlenül vesznek részt; feltehetően egy önálló, asztrociták által közvetített neuromodulációs mechanizmust képezve.

# AZ ANTIAPOPTOTIKUS ERK ÉS AKT PROTEIN KINÁZ SZINTEK VÁLTOZÁSÁNAK VIZSGÁLATA HIPOXIÁS-ISZKÉMIÁS ENKEFALOPÁTIA ÚJSZÜLÖTT MALAC MODELLBEN

**Kovács Viktória**, Kecskeméti Gábor, Németh János, Varga Viktória, Remzsó Gábor, Tóth-Szűki Valéria, Domoki Ferenc  
SZTE-ÁOK Élettani Intézet

Az agyi eredetű neurotróf faktor (brain-derived neurotrophic factor, BDNF) a neurotróf növekedési faktor család tagja, amely szerepet játszik a neuronális proliferáció szabályozásában, a sejtek differenciációjában valamint a sejt túlélési folyamatait segítve védelmet nyújt a programozott sejthalállal szemben. Korábbi tanulmányokban kimutatták, hogy a BDNF védelmet biztosít a neuronok számára olyan különböző stresszállapotokban, amelyek hipoglikémia, hipoxia vagy iszkémia során érik a sejtet. A BDNF védő hatását két specifikus receptorán keresztül fejt ki (receptor tyrosine kinase B (TrkB) és p75), melyekhez kötődve olyan intracelluláris jelátviteli utakat aktivál, mint a PI-3-K és a mitogén-aktivált protein kináz (MAPK) útvonalak. A MAPK kinázok csoportjába tartozó extracelluláris szignál regulált kináz (ERK) és a PI-3-K útvonal által aktivált protein kináz-B (PKB)/Akt antiapoptotikus kinázok a glükózmetabolizmusban, apoptózis folyamatában, sejtproliferációban, transzkripció útvonalaiban szabályozásában játszanak szerepet.

Szakirodalmi adatok igazolják a BDNF faktor neuroprotektív hatását in vitro kérgi sejtekben, illetve in vivo patkány modell esetében hipoxiás- iszkémiás inzultust követően. Jelen bevezető kísérleteinkben célul tűztük ki az antiapoptotikus ERK és Akt kinázok foszforilációjának vizsgálatát perinatális aszfixián átesett újszülött malac modellünkben szubakut (24h, 48h) túlélést követően.

Kísérleteinket altatott, mesterségesen lélegeztetett, hím újszülött malacokon végeztük. Az aszfixiát speciális hipoxiás-hiperkapniás (6% O<sub>2</sub>, 20% CO<sub>2</sub>) gázkeverék 20 perces lélegeztetésével idéztük elő. A vitális paramétereket folyamatosan monitoroztuk. A kísérletet követően az állatok agyát hideg fiziológiás sóoldattal perfundáltuk, majd a különböző agyi régiókból vett mintákat fagyasztottuk, ezt követően teljes fehérje izolálást végeztünk. Ezek után a frontális cortex illetve a nucleus caudatus régiókból Western-blot analízissel meghatároztuk a foszforilált, illetve a teljes ERK és Akt kináz szinteket, az eredményeket a foszforilált/totál kináz arányok változásának tükrében értékeltük.

Előzetes eredményeink alapján elmondható, hogy a foszforilált Akt antiapoptotikus kináz mennyisége az általunk vizsgált régiókban már a natív állatok esetében is emelkedett értéket mutatott és ez a magas érték 24- illetve 48 órás utánkötéssel is állandónak mutatkozott. Az ERK MAPK esetében a frontális régióban a natív állatokhoz viszonyítva az aszfixián átesett csoportokban a foszforilált fehérje szintjének emelkedését tapasztaltuk, amely 48 órás túlélést követően sem csökkent.

A további vizsgálatok hozzájárulnak a perinatális aszfixiát követően kialakuló hipoxiás-iszkémiás encefalopátia hátterében zajló molekuláris szintű folyamatok pontosabb megértéséhez.

Támogatók: Nemzeti Agykutató Program KTIA\_13\_NAP-A-I/13, OTKA-K100851



# **SOCIAL VISUAL ENGAGEMENT IN RHESUS MONKEYS – A HIGHLY VALUABLE TRANSLATIONAL NHP MODEL FOR SOCIAL DEFICITS**

**Zsofia Kovacs-Balint**<sup>1</sup>, Eric Feczko<sup>1,2,3</sup>, Brittany Howell<sup>1,2,3</sup>, Eric Earl<sup>4</sup>, Longchuan Li<sup>5</sup>, Jacqueline Steele<sup>1</sup>, Martin Styner<sup>6</sup>, Lisa Parr<sup>1,2</sup>, Jocelyne Bachevalier<sup>1</sup>, Damien Fair<sup>4</sup>, Mar Sanchez<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup>*Yerkes Natl. Primate Res. Ctr., Emory Univ., Atlanta, GA*

<sup>2</sup>*Dept. Psychiatry & Behav. Sci., Emory Univ., Atlanta, GA*

<sup>3</sup>*Ctr. for Behav. Neurosci., Atlanta, GA*

<sup>4</sup>*Dept. Behav. Neurosci., Oregon Hlth. & Sci. Univ., Portland, OR*

<sup>5</sup>*Dept. Pediatrics, Emory University, Atlanta, GA*

<sup>6</sup>*Dept. Psychiatry, Univ. of North Carolina, Chapel Hill, NC*

Primates, both humans and nonhuman species, form strong social bonds that help provide shared resources (e.g. food) and protection, increasing the individual's chances to survive and Darwinian fitness. Non-human primate (NHP) species exhibit complex social behaviors comparable to humans'. This, together with their neuroanatomical, biological and genetic similarities to our species make them great model organisms to study social deficits common across several human neurodevelopmental and psychiatric disorders, such as Autism Spectrum Disorder (ASD), Schizophrenia, ADHD, social phobia and social anxiety disorder. Social deficits impair daily functioning of patients by hindering their ability to establish social interactions, which may lead to social withdrawal and isolation.

Adulthood social deficits are predominantly rooted in early childhood. Therefore, understanding the etiology of alterations in processing and responding to social stimuli (e.g. visual) requires to first map the typical development of these skills and underlying neurocircuitry in infants. Increased knowledge of the critical early periods of development will help understand the neurobiological mechanisms leading to social deficits. Due to limitations of early, prospective and longitudinal studies in human infants, the use of animal models are critical. The aim of the present study was therefore to characterize the normative developmental trajectories of brain networks that support changes in social visual engagement in infant rhesus monkeys (*Macaca Mulatta*). For this, we used longitudinal neuroimaging MRI techniques to examine neurodevelopmental changes in the visual object and motion pathways, the dorsal attention pathway and prefrontal-amygdala circuits involved in socioemotional regulation.

Using repeated eye-tracking and non-invasive neuroimaging MRI methods (structural MRI, resting-state functional MRI and diffusion tensor imaging (DTI)), we collected data from 12 male rhesus monkeys from 2-24 weeks of age. Our findings revealed nonlinear developmental changes in both social visual engagement, and structural/functional measures along the neural networks examined, which show strikingly similar developmental trajectories to visual engagement measures in human infants.

The normative data gained in the present project has promising impact for developing NHP models of ASD-related social deficits to identify the causes and neural bases of human developmental disorders with atypical social skills in early infancy, such as ASD, Williams syndrome, anxiety disorders, etc. The results can be further used similarly to the way pediatricians chart developmental trajectories of individuals against normative growth charts, to identify "social" outliers for the development and validation of genetic animal models of ASD-related deficits and pharmacotherapies. In the future, these can also become useful tools for early diagnosis and treatment of social disorders in human infants.

# **SUBOPTIMAL MITOCHONDRIAL FUNCTION IN PSYCHIATRIC ILLNESSES**

**Tamás Kozicz**

*Dept. of Anatomy Radboud University Nijmegen Medical Center*

Stress triggers changes in the brain to maintain/restore homeostasis (allostasis). Allostasis can be considered as a simple energy model that joins the energetic costs of challenges of the environment into a continuum. Hence, balance between cost of adaptation to stress and available energy, viz. mitochondrial function, is crucial for mental health. This together with our results revealing significant individual differences in mitochondrial function both in mice and humans postulate that individual differences in mitochondrial function moderate the impact of stress on mental health. More specifically, in this talk I will present data that exposure to stress leads to alterations in depression-like behaviours and discuss recent evidence that highlights brain energy metabolism, particularly mitochondrial function, as a relevant mechanism mediating the impact of stress on brain structure and function and consequently depression-like behaviour. Resolving the relationship between mitochondrial function and the impact of stress on mental health at an individual level has a unique utility in better understanding psychiatric illnesses.

# PROLACTIN-RELEASING PEPTIDE, A NEW NEUROMODULATOR IN SLEEP-WAKE REGULATION

**Könczöl Katalin**<sup>1</sup>, Pap Rege Sugárka<sup>2</sup>, Ádori Csaba<sup>3,4</sup>, Kitka Tamás<sup>3</sup>, Vas Szilvia<sup>3,5</sup>, Ocskay Klementina<sup>1</sup>, Durst Máté<sup>1</sup>, Bagdy György<sup>3,5</sup>, Palkovits Miklós<sup>1,2</sup>, Tóth E. Zsuzsanna<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Department of Anatomy, Histology and Embryology, Semmelweis University, Budapest, Hungary*

<sup>2</sup>*Human Brain Tissue Bank and Laboratory, Semmelweis University, Budapest, Hungary*

<sup>3</sup>*Department of Pharmacodynamics, Semmelweis University, Budapest, Hungary*

<sup>4</sup>*Department of Neuroscience, Karolinska Institutet, Stockholm, Sweden*

<sup>5</sup>*Neuropsychopharmacology and Neurochemistry Research Group, Hungarian Academy of Science, Semmelweis University, Budapest, Hungary*

The sufficient amount and quality of sleep is essential for healthy life. For example, poor quality sleep can lead to development of metabolic disorders or even certain type of cancers. Not surprisingly, central integration of the homeostatic functions implicates that neuropeptides involved in the regulation of energy homeostasis also participate in the regulation of circadian rhythms.

Prolactin-releasing peptide (PrRP) acts as an anorexigen, but it seems to be involved in sleep regulation too; however its exact effect is controversial. PrRP is expressed in the ventrolateral medulla (VLM), the nucleus of the solitary tract (NTS) and in the dorsomedial nucleus of the hypothalamus. PrRP-positive fibers densely innervate the dorsolateral hypothalamus, where melanin-concentrating hormone (MCH) - positive cells are located, that express Fos protein in correlation with the number of REM bouts. Therefore, we assumed that PrRP may act on sleep-wake regulation by influencing the activity of MCH-positive cells.

After 72h rapid eye movement (REM) sleep deprivation the expression of PrRP was elevated in the hypothalamus and the VLM, but not in the NTS. The expression level in the hypothalamus was normalized by sleep rebound, but not in the VLM, where the PrRP was elevated in the stress-control groups too. Immunohistochemistry revealed that more than 25% of MCH neurons formed close contacts with PrRP-positive terminals of both medullary and hypothalamic origin. PrRP receptors, GPR10 and NPFF-2R, were also expressed in the area by separate cell populations. According to data, PrRP signals may be transmitted via synaptic contacts, and also by volume transmission. PrRP administered to the lateral ventricle after 72h REM sleep deprivation reduced the number of rebound activated (Fos-positive) MCH cells, and did not influence the activity of non-MCH-positive neurons.

The results suggest that PrRP reduces REM sleep at least partly by suppressing sleep-promoting MCH neurons in the hypothalamus, thus helps handle forced wake.

# DIFFERENCE IN THE SEIZURE DRIVEN NEURONAL ACTIVITY IN ZEBRIN II POSITIVE AND ZEBRIN II NEGATIVE CEREBELLAR CORTICAL AREAS

**Krisztinné Péva Beáta**, Mihály András

*Szegedi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Kar Anatómiai, Szövet- és Fejlődéstani Intézet*

The cerebellar cortex is built of a relatively uniform cytoarchitecture and internal connections. Behind this uniformity intrinsic differences were revealed by the electrophysiological and immunohistochemical studies. Certain molecular markers, such as zebrin II display different expression patterns in subgroups of Purkinje cells (PC).

We examined the temporal activation pattern of the cortical neurons after 4-aminopyridine induced seizures, using c-Fos protein, as the marker of the neuronal activity. The cells were investigated in all cerebellar cortical layers, and a comparison was made between the zebrin II positive (Z+) and the negative (Z-) bands of the vermal lobules and the hemispherium.

The main results of our experiments:

- the density of c-Fos immunoreactive (IR) cells is significantly higher in the Z(+) bands at every post-injection time in the granular and in the molecular layers (ML);
- in the granular layer (GL) of the vermis the maximum of the density of c-Fos IR cells appears at 3h after the drug administration, in the Z(-) bands the maximum is observed at 4h;
- in the hemispherium the temporal alternation in the density of c- Fos IR cells in the GL progresses parallel in the Z(+) and Z(-) bands except the crus II;
- the c-Fos of labelled cell numbers in the GL were similar in the lobulus simplex and the crus I; and in the paramedian lobule and the copula pyramidis;
- the alterations in the c- Fos expression of the inhibitory cells in the ML were similar in the Z(+) and Z(-) stripes; except the vermal anterior zone and the copula pyramidis;
- in the PC layer the c- Fos IR cell nuclei may belong to PC and to Bergmann glial cells.

The different temporal activation pattern in the vermal lobules following generalized seizures may be the consequence of the different origin of incoming mossy fibers (MF). Furthermore, the role of the cortico-ponto-cerebellar loop is suggested in the Z(+) bands, resulting in a more robust activation of the GL under the Z(+) PC.

We think, that in tonic-clonic seizures the ascending segment of the granulos cell axons carries the major part of the excitation, thus the powerful neuronal activity in the GL causes the inhibition of PC by interneurons.

The repetitive stimulation of the climbing fibers leads to glutamate spillover in the ML resulting in the stimulation of the inhibitory interneurons. This mechanism is also enhanced in the Z(+) zones by the closed cerebello-mesencephalo-olivary loop.

The trend of the activation pattern follows more the zonal division, than the functional partition. This observation raises the possibility that the information processing in the functionally homologous parts of the cerebellum may differ.

# A NOD-LIKE RECEPTOROK SZABÁLYOZÁSA ÉS AZ INFLAMMASZÓMÁK AKTIVÁCIÓJA AGYI ENDOTÉLSEJTEKBEN

**Krizbai István**, Nyúl-Tóth Ádám, Kozma Mihály, Molnár Judit, Haskó János, Fazakas Csilla, Farkas E. Attila, Wilhelm Imola, Nagyőrszi Péter

*MTA Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Biofizikai Intézet, Szeged*

A vér-agy gát morfológiai alapját jelentő agyi endotélsejtek határfelületet képeznek a központi idegrendszer és az immunrendszer között, funkcionálisan integrálva őket. Korábbi kísérleteinkben kimutattuk, hogy az agyi endotélsejtek expresszálnak a természetes immunitásban szerepet játszó Toll-szerű receptorokat, amelyek oxidatív stressz és gyulladás során aktiválódhatnak, és a junkciók sérülését válthatják ki.

A jelen munka során azt vizsgáltuk, hogy milyen más receptorok állnak az agyi endotélsejtek rendelkezésére a patogén-asszociált molekuláris mintázatok és az endogén stressz-szignálok érzékelésére. A NOD-like receptorok (NLR-ek) expresszióját megvizsgálva a NOD1, NOD2, NLRC4, NLRC5, NLRP1, NLRP3, NLRP5, NLRP9, NLRP10, NLRP12, NLRA és az NLRX expresszióját mutattuk ki agyi endotélsejtekben. A gyulladásos citokinek (IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  és IL-1 $\beta$ ) fokozták ezen receptorok expresszióját.

Egyes NLR-ek inflammaszómák alkotói lehetnek. Az inflammaszómák olyan multimolekuláris platformok, amelyek kaszpáz-1/5 aktiválás révén interleukinek (elsősorban IL-1 $\beta$ ) hasítását és aktiválását eredményezik. Az LPS-sel kiváltott priming (az inflammaszóma komponensek mRNS szintű növekedése), illetve az MDP-aktiváció fokozta az inflammaszóma komponensek (NOD2, NLRP3 és kaszpáz-1), illetve az IL-1 $\beta$  expresszióját. Ugyanakkor LPS/MDP hatására megnőtt az IL-1 $\beta$  szekréciója kaszpáz- és ERK1/2-függő módon.

Eredményeink alapján az agyi endotélsejtekben aktiválódhatnak az inflammaszómák, ami arra utal, hogy a vér-agy gátnak nagyobb szerepe van a természetes immunválaszban, mint ahogy korábban gondoltuk. Az inflammaszóma aktiváció számos központi idegrendszeri megbetegedésben játszhat szerepet (gyulladásos folyamatok, neurodegeneratív kórképek, demencia), így a jövőben terápiás eljárások célpontját képezheti.

# STRUKTURÁLIS ÉS ELEKTROMOS REMODELING VIZSGÁLATA NYÚL SPORTSZÍV MODELLBEN

**Kui Péter**<sup>1</sup>, Takács Hedvig<sup>2</sup>, Morvay Nikolett<sup>1</sup>, Leprán István<sup>1</sup>, Tizslavicz László<sup>3</sup>, Nagy Norbert<sup>1</sup>, Ördög Balázs<sup>1</sup>, Farkas András<sup>2</sup>, Forster Tamás<sup>2</sup>, Varró András<sup>1</sup>, Farkas Attila<sup>2</sup>

<sup>1</sup>SZTE ÁOK Farmakológiai és Farmakoterápiai intézet

<sup>2</sup>SZTE ÁOK II.sz. Belgyógyászati Klinika és Kardiológiai központ

<sup>3</sup>SZTE ÁOK Patológiai intézet

**Bevezetés:** Sportolói hirtelen szívhalál oka nem minden esetben tisztázott. Feltételezésünk szerint az ismert strukturális elváltozások mellett, funkcionális okok (pl. a repolarizációs tartalék csökkenése) is vezethetnek életveszélyes kamrai ritmuszavarok kialakulásához. Jelen munkánkban a hosszú távú fizikai terhelés hatását vizsgáltuk a szívizom elektromos tevékenységére nyúl sportszív modellünkben.

**Módszerek:** Munkánkban Új-Zélandi fehér nyulakat használtunk, melyeket randomizáltan egy „pihenő” és egy „futó” csoportba soroltunk (n=7). A futó csoport állatait 12 héten keresztül futópadon edzettük. Ketamin szedáció mellett szívultrahang és nyugalmi EKG vizsgálatokat végeztünk. Ezt követően a nyúlszíveket az ismert proaritmiás hatású dofetilid (50 nM) oldattal Langendorff szerint perfundáltuk. Randomizált és vakpróbás módszerrel aritmia és EKG analízist végeztünk. Kötőszövetes átalakulás mértékét RT-PCR módszerrel vizsgáltuk.

**Eredmények:** A 12. héten elvégzett szívultrahang-vizsgálat során a bal kamrai diasztolés belső átmérő (LVIDd) szignifikánsan nagyobb volt a futó nyulakban a pihenőkhöz képest ( $17,4 \pm 0,3$  vs.  $14,7 \pm 0,8$  mm,  $p < 0,05$ ), emellett a nyugalmi szívfrekvencia kisebb volt a futó csoportban ( $198 \pm 4$  vs.  $253 \pm 8$ ,  $p < 0,05$ ). Az in vivo PQ, QT, RR és T peak-Tendszakaszok, valamint az RR és T peak-Tendszakaszok variabilitási paraméterei szignifikánsan nagyobbak voltak a futó csoportban. A dofetilid nagyobb mértékben nyújtotta a QTc szakaszt a futó csoportban in vitro körülmények között, azonban proaritmia gyakoriságban nem volt különbség a csoportok között. Fibrózis biomarkerek közül a Kollagén III, MMP-2 és TIMP-1 expressziója szignifikánsan megnőtt a futó nyulak szívizmaiban.

**Megbeszélés:** A megnövekedett LVIDd és csökkent szívfrekvencia az állóképességi terhelés hatására létrejövő sportszív kialakulására utalnak. Az RR szakasz megnövekedett variabilitási paraméterei a fokozott paraszimpatikus idegrendszeri hatást jelezhetik. A megnyúlt repolarizációs paraméterek a sportszív érzékenységére utalhatnak, azonban a proaritmia incidenciája nem volt nagyobb a sportszívekben. A modell további vizsgálata mindenképp szükséges.

**Támogatók:** OTKA (PD 105882), Bolyai ösztöndíj (Dr. Farkas Attila)

# TRPA1 RECEPTOR IS UPREGULATED IN HUMAN ORAL LICHEN PLANUS AND FURTHER ELEVATED BY COMORBID HYPERTENSION

**József Kun**<sup>1,4,5</sup>, Anikó Perkecz<sup>1</sup>, Lorenz Knee<sup>2</sup>, György Sétáló Jr.<sup>3</sup>, Erika Pintér<sup>1,4</sup>, Ágnes Bán<sup>2</sup>  
*Departments of*

<sup>1</sup>*Pharmacology and Pharmacotherapy;*

<sup>2</sup>*Dentistry, Oral and Maxillofacial Surgery;*

<sup>3</sup>*Medical Biology; University of Pécs Medical School;*

<sup>4</sup>*Molecular Pharmacology Group, Szentágothai Research Center, University of Pecs;*

<sup>5</sup>*MTA-PTE NAP B Chronic Pain Research Group, University of Pécs; Pécs, Hungary*

Oral lichen planus (OLP) is a chronic inflammatory disease of unknown etiology. It affects the oral mucous membranes with antigen-specific and non-specific mechanisms (mast cell degranulation, matrix metalloproteinase activation). Transient Receptor Potential Ankyrin 1 (TRPA1) is a non-selective cation channel activated by noxious stimuli such as oxidative stress products evoking pain and release of proinflammatory mediators from sensory nerve endings culminating in neurogenic inflammation. Extraneuronal TRPA1s e.g. on cells of the immune system possess yet unknown functions.

We aimed to study the buccal mRNA expression (qPCR) and protein localization (immunohistochemistry) of TRPA1 receptors in healthy human subjects (n=9) and patients with OLP (n=43) and OLP-resembling diseases (n=12). We further detected transcripts of key OLP mediators.

We measured a 27.7 and 25.5-fold TRPA1 mRNA increase in oral mucosa samples of OLP and OLP-like patients compared to healthy controls. Hypertensive OLP patients showed a 2.4-fold elevation in TRPA1 transcripts compared to their counterparts which was reversed 1.6-fold by ACE inhibitor intake. TRPA1 mRNA was moderately coexpressed with transcripts of TNF $\alpha$  and mediators of non-specific OLP mechanisms rather than IFN $\gamma$ . Keratinocytes and macrophages but not T-cells expressed TRPA1.

We propose a link between hypertension and OLP pathomechanism involving the pro-oxidative angiotensin II and the oxidant receptor TRPA1 that may regulate TNF $\alpha$  release and a cross-talk with sensory neuronal terminals generating inflammation and pain. Inhibition of TRPA1 receptors could be a novel therapeutic strategy against OLP.

**Acknowledgements:** The research was supported by the Hungarian Brain Research Program (KTIA\_NAP\_13-1-2013-0001; NAP B KTIA\_NAP\_13-2014-0022 MTA-PTE NAP B Pain Research Group, identification number: 888819), and the OTKA-NN 114458 Grant. The present scientific contribution is dedicated to the 650th anniversary of the foundation of the University of Pécs, Hungary.

# VÉGTAJMOZGÁSOK KINEMATIKAI ÉS IZOM-AKTÍVITÁSI JELLEMZŐINEK VARIABILITÁSA

**Laczkó József**

*Pécsi Tudományegyetem, Matematikai és Informatikai Intézet,  
Információtechnológia és Biorobotika Tanszék*

**Bevezetés:** Mozgási feladatok helyes végrehajtásához jól koordinált motoros és szenzoros folyamatokra és szenzori - motoros transzformációkra van szükség. Egy végtag-mozgási feladatot, pl. egy tárgy elérését a kezünkkel a 3 dimenziós fizikai térben végtelen sokféleképp megoldhatunk, mert több testrészt, ízület és izom vesz részt a mozgásban mint amennyire feltétlen szükség van a feladat végrehajtásához. Ez igaz mindennap ismételt elvégzett mozgásokra, pl. a járásra de sportmozgásokra, kerékpározásra, úszásra is. Ha sokszor végrehajtjuk ugyanazt a mozgást, akkor az egyes megoldások különböznek egymástól. Az ízületekben a szomszédos testrészek hajlásszögei különféleképp változnak és az izomaktivitás minták is különböznek a mozgás egymás utáni végrehajtásakor. Ismételt végrehajtott mozgások során mért mozgásminták különbözőségét számszerűen jellemezhetjük a mozgás varianciájával. Minél kisebb a variancia, minél inkább hasonlítanak egymáshoz az ismételt végrehajtott mozgások, annál stabilabbnak tekintjük a mozgás szabályozását. Érdekes kérdés, hogy külső környezeti hatások, külső erők hogyan befolyásolják a mozgás szabályozását és a mozgásmintákat, vagy hogy a gyakorlás vagy idegrendszeri károsodások milyen hatással vannak a mozgás változosságára és stabilitására.

**Módszer:** Ha az egész kar mozgását tekintjük, akkor azt jellemezhetjük az ízületekben mért hajlásszög-változásokkal. Mozgásanalízáló berendezésekkel ma óriási adathalmazokat gyűjthetünk amelyeket sokféle matematikai, számítástechnikai módszerrel dolgozunk fel. Sok izom aktivitását is mérhetjük (elektromyogram) egyszerre, párhuzamosan. A mozgásokat ezáltal olyan sok-dimenziós terekben írjuk le amelyek a vizsgált ízületi hajlásszögek vagy izmok számával megadott, ezeket „ízületi tereknek” illetve „izom-tereknek” nevezzük. Tárgyakat mozgó karmozgásokat és kerékpározó mozgásokat vizsgáltunk és elemeztük, hogy külső erők milyen hatással vannak a mozgás varianciájára és így a mozgás szabályozás stabilitására az ízületi hajlásszögváltozások és az izomaktivitások szintjén, tehát az „ízületi terekben” és „izom terekben”, valamint a külső, 3 dimenziós térben, vagy 2 dimenziós síkban, amelyben a mozgást végrehajtjuk.

**Eredmények:** Karmozgások esetén a kézben tartott tárgy tömege befolyásolja a mozgás varianciáját. Ez a hatás legnagyobb az izomaktivitások szintjén, kisebb az ízületi terekben és legkisebb a kéz pályáját tekintve a fizikai térben. Karral végzett kerékpározó mozgásoknál azt mutatjuk meg, hogy ha a kerékpár hajtókarjának ellenállása nő akkor az ízületi hajlásszögváltozások varianciája nem nő de az izomaktivitások varianciája igen. Két karral végzett (a két kezet összérintő) karmozgásoknál mutattuk meg, hogy a gyakorlás hatására csökken a mozgás variabilitása, nő a stabilitása.

**Következtetés:** A mozgás varianciájának vizsgálata, számszerűen jellemzi a mozgás-szabályozás stabilitását és külső fizikai valamint, idegrendszeri hatásoktól való függését. Az elméleti eredmények a bemutatott mozgás-szabályozási kutatások alkalmazhatók mozgás-rendellenességek vizsgálatában és mozgásképeségüket részben elvesztett emberek orvosi rehabilitációjában, edzési és terápiás módszerekben is.



# PD-1 MOLEKULA IMMUNREGULÁCIÓJA TERHES EGÉRBEN

**Lajkó Adrienn<sup>1,2</sup>, Meggyes Mátyás<sup>1,2</sup>, Szántó Júlia<sup>1</sup>, Mikó Éva<sup>1,2</sup>, Szereday László<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>Pécsi Tudományegyetem Klinikai Központ Orvosi Mikrobiológiai és Immunitástani Intézet

<sup>2</sup>Szentágotthai János Kutatóközpont, Pécs

Kutatócsoportunk fő vizsgálati molekulája a PD-1 (Program death-1), amely igen fontos szerepet játszik a perifériás tolerancia kialakulásában, immunfolyamatokban, virális fertőzés során és rákos megbetegedésekben. Legfőbb funkciója, hogy gátolja a T sejt aktivációt, aminek következtében visszaszorítja az autoimmunitást és fokozza a szervezetünk toleranciaképességét. PD-1, egy sejt felszíni receptor, ami képes két különböző ligandhoz kapcsolódni, nevezetesen a PD-L1-hez és PD-L2-höz. Kísérleteink során egy fontos tulajdonságát használtuk fel a vizsgálni kívánt molekulánknak, miszerint a PD-L1 liganddal való kölcsönhatása csökkenti a Th-1-es immunitást és a T sejtek aktiválódását.

Célul tűztük ki, hogy feltérképezzük a PD-1 molekula kifejeződését 14,5 napos terhes egerekben, valamint, hogy megvizsgáljuk a gátló szerepét TIM-3 molekula jelenlétében, anyai immuntolerancia kialakulásakor.

Kutatásainkhoz 2 hetes terhes BALB-c egereket használtunk. Cervikális diszlokáció után eltávolítottuk az egerek lépét, illetve a placentából nyert deciduát. A kapott szövetekből mononukleáris sejteket izoláltunk ficoll gradiens és szűrők segítségével. Végül fluorkrómmal konjugált antitesteket használva jelöltük meg a sejteket, majd áramlási citométeren analizáltuk a mintáinkat. Elemzések során összehasonlítottuk a PD-1 molekula expresszióját különböző sejt populációk függvényében.

Eredményeink rámutattak, hogy a PD-1 molekula kifejeződése növekszik az NK,  $\gamma/\delta$  és NKT sejteken a decidua esetében. Valamint különbséget tapasztaltunk a periféria és a decidua TIM-3/PD-1 pozitív sejteknél is, mivel egy szignifikáns csökkenést kaptunk a deciduális NKT és  $\gamma/\delta$  T sejteken a léppel szemben. Többek között még a PD-1 sejtek CD107a expresszióját is megmértük, s ebben az esetben egy szignifikáns csökkenés volt tapasztalható a perifériához képest.

Következtetésként elmondhatjuk, hogy eredményeink egy igen komplex szöveti és sejt szintű immunreguláló mechanizmust mutatnak, ahol a PD-1 molekula fontos szerepet tölthet be az anyai immuntolerancia kialakulásában.

# THE ROLE OF AMYGDALOID OXYTOCIN RECEPTORS IN THE MODULATION OF REINFORCEMENT AND ANXIETY

**László Kristóf<sup>1</sup>**, Zagoracz Olga<sup>1</sup>, Kovács Anita<sup>1</sup>, Ollmann Tamás<sup>1</sup>, Péczely László<sup>1</sup>, Kertes Erika<sup>1</sup>, Karádi Zoltán<sup>1,2</sup>, Lénárd László<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>*Institute of Physiology, University of Pécs, Medical School, Pécs, Hungary*

<sup>2</sup>*Molecular Endocrinology and Neurophysiology Research Group, University of Pécs, Szentágotthai Research Center, Pécs, Hungary*

The neuropeptide oxytocin (OT) is known to modulate wide variety of behavioral processes like cognition, social and non-social behaviour. The central nucleus of the amygdala (CeA), part of the limbic system, plays an important role in learning, memory, anxiety and reinforcing mechanisms. The rat CeA was shown to be rich in OT-receptors (OTR). The aim of our study was to examine the possible effects of OT and OTR antagonist administered into the CeA 1) on reinforcement tested by means of the conditioned place preference (CPP) test and 2) on anxiety using the elevated plus maze (EPM) test.

Adult male Wistar rats were microinjected bilaterally with 10 ng OT or 100 ng OT (Sigma: O6379, injected in volume of 0.4 µl) or 10 ng OTR antagonist (Sigma: L-2440) alone, or OTR antagonist 15 min prior to 10 ng OT treatment or vehicle solution into the CeA.

In the CPP test, rats receiving 10 ng OT spent significantly more time in the treatment quadrant during the test session, while 100 ng OT treatment produced no effect. Pretreatment with the non-peptide OTR antagonist blocked the effects of OT. The antagonist in itself did not influence the place preference. It has been revealed in the elevated plus maze test that 10 ng OT significantly increased the time spent in the open arm. OTR antagonist pretreatment blocked this effect.

The present study demonstrates that OT in the rat CeA elicits place preference in the CPP paradigm and it has anxiolytic effects in the EPM test. OTRs play a role in the OT induced positive reinforcing and anxiolytic effects since the OTR antagonist blocked these actions. Further experiments are required to show the exact mechanisms through which these behavioral effects are exerted.

Supported by: PTE-AOK-KA-2015-15.

# AZ INZULINSZERŰ NÖVEKEDÉSI FAKTOR-I (IGF-I) SZEREPE A PROLAKTIN SZEKRECIÓ SZABÁLYOZÁSÁBAN

**Lékó András**<sup>1</sup>, Cservenák Melinda<sup>1,2</sup>, Öllös Hanna<sup>2</sup>, Hanics János<sup>3</sup>,  
Alpár Alán<sup>3,4</sup>, Dobolyi Árpád<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Neuromorfológiai Laboratórium, Anatómiai, Szövet- és Fejlődéstani Intézet, Semmelweis Egyetem, Budapest

<sup>2</sup>MTA-ELTE NAP B Molekuláris és Rendszer Neurobiológiai Laboratórium, Biológiai Intézet, Magyar Tudományos Akadémia és Eötvös Lóránd Tudományegyetem, Budapest

<sup>3</sup>MTA-SE NAP B Kísérletes Neuroanatómiai és Fejlődésbiológiai Kutatócsoport, Magyar Tudományos Akadémia, Budapest

<sup>4</sup>Anatómiai, Szövet- és Fejlődéstani Intézet, Semmelweis Egyetem, Budapest

Az Inzulinszerű-növekedési faktor I (IGF-I) főleg a májban termelődik és a növekedési hormon (GH) rendszerben tölt be fontos szerepet. Képes átjutni a vér-agy, illetve vér-liquor gáton, valamint a központi idegrendszerben is expresszáldik. Többféle neuroendokrin működést befolyásol, hatása van a gonadotropin szekreációra, illetve a hipotalamusz magnocelluláris neuroszekretoros neuronjaira. Az egyik legfontosabb reprodukciós neuroendokrin funkcióra, a prolaktin (PRL) szekreációra való központi idegrendszeri hatása azonban mindeddig nem ismert.

Ezen hatást kívántuk megvizsgálni, ezért intracerebroventriculárisan (icv.) adagoltunk IGF-I-et patkány anyáknak ozmotikus minipumpa segítségével a szülés utáni második naptól kezdve 12 napon keresztül. A szülés utáni 14. napon vena jugularis kanülön keresztül vettünk le több alkalommal vért, hogy megmérjük a szoptatás indukálta szérumszintet: először a kölykök 4 órás szeparációja előtt; másodszer közvetlenül a kölykök visszaadása előtt; majd 5, 15, 30, 60 perccel a visszaadás után. Az IGF-I-el kezelt anyáknak szignifikánsan alacsonyabb PRL szinteket mértünk, mint a kontroll (fiziológiás sóoldatot kapott) anyáknak. A háttérben álló folyamatok részletesebb megértése érdekében megvizsgáltuk az IGF-I mediobasalis hypothalamus primer sejt kultúrára kifejtett hatását *in vitro*. Az IGF-I-el 4 napon át kezelt kultúrák esetében a tirozin-hidroxiláz enzim (TH) expressziójának emelkedését figyeltük meg a kontroll kultúrákhoz képest. Endogén IGF-I jelenlétét is sikerült kimutatnunk a mediobasalis hypothalamusban immunhisztokémia segítségével, azonban immunreaktivitás erősségében nem volt különbség laktáló anyák és olyan anyák között, amelyeknek kölykeit egyből a szülés után elválasztottuk (deprivált anyák). Jelentős emelkedést tapasztaltunk azonban az Inzulinszerű növekedési faktor kötőfehérje 3 (IGFBP-3) expressziójában laktáló anyák hypothalamusában, amely az IGF-I 7 kötőfehérjéje (IGFBP 1-7) közül a legfontosabb extracelluláris kötőfehérje. Az IGFBP-3 eloszlása a hypothalamusban még nem volt ismert, ezért *in situ* hibridizációs hisztokémiát (ISHH) alkalmaztunk a leírásához és jelentős mRNS expressziót találtunk az arcuatus magban. ISHH és immunhisztokémia kombinálásával kolokalizációt találtunk az IGFBP-3 és TH pozitív neuronok között. Ezen adatok arra utalnak, hogy az IGFBP-3 szerepet játszhat az extracelluláris IGF-I szint szabályozásában a laktációval összefüggésben.

Kimutattuk tehát, hogy az exogén IGF-I csökkenti a szérumszintet szoptató patkány anyáknak. Az IGF-I ezen hatását valószínűleg az arcuatus mag dopamin neuronjaiban, a TH expressziójának fokozásával fejti ki. Ezenkívül az arcuatus magban endogén IGF-I jelenlétét mutattuk ki, amelynek extracelluláris szintje a laktáció során a TH pozitív sejtekben megnövekedett mennyiségű IGFBP-3-al csökkenthető lehet. Eredményeink tehát feltárták a PRL szekreáció új endogén szabályozási lehetőségét.

# A TREK-1 ÉS TREK-2 HÁTTÉR KÁLIUMCSATORNA ALEGYSÉGEK MŰKÖDŐKÉPES HETERODIMERT KÉPEZNEK

**Lengyel Miklós**, Czirják Gábor, Enyedi Péter

*Semmelweis Egyetem, Élettani Intézet, Budapest*

**Bevezetés:** A K<sub>2</sub>P alcsaládba tartozó, háttér káliumcsatorna alegységek általában homodimerként működőképesek. Az azonos alcsaládba tartozó, közeli rokon TREK-1 és TREK-2 alegységek együttes kifejeződése natív sejtekben felveti a lehetőséget, hogy ezen alegységek heterodimerré is összeállhatnak. A heterodimerizáció növeli a háttér káliumáramok változatosságát, ami a nyugalmi membránpotenciál és ingerlékenység finomabb szabályozására ad lehetőséget.

**Módszerek:** A mutáns TREK-1 és TREK-2 csatornákat PCR alapú mutagenézissel hoztuk létre. A heterodimer csatorna modellezésére PCR alapú klónozással előállítottunk egy TREK-2/TREK-1 konkatamer csatornát. A tandemben N-terminálisan elhelyezkedő TREK-2 alegységből elhagytuk a stop-, a C-termiális TREK-1 alegységből pedig a start kodont. A konstrukciókat *Xenopus laevis* petesejtekben fejeztük ki, a csatornák áramát egész sejtekben és kitépelt membrán foltokban mértük.

**Eredmények:** A TREK-1, TREK-2 és a tandem csatorna árama farmakológiai eszközökkel (extracelluláris pH csökkentése, RR) elkülöníthetők egymástól. A TREK-1 és TREK-2 alegységek együttes kifejeződése esetén létrejövő áram pH és RR érzékenysége heterodimer képződésre utal. A tandem csatorna vezetőképessége alapján szintén elkülöníthető a homodimerektől. A két alegység koexpressziója a heterodimerre jellemző konduktanciájú csatornákat is eredményezett.

Az extracelluláris pH csökkenés, a RR, valamint a szelektív TREK-1 gátló, endogén antidepresszáns sortilin-eredetű neuropeptid spadin hatását kitépelt membránfoltokban, outside-out felállásban vizsgáltuk. A pH változás és a RR hatását a TREK csatornákra megerősítettük az egyedi csatornák szintjén. A TREK-1-et gátolta a spadin, míg a TREK-2-re nem volt hatással. A tandem csatornát a spadin szintén gátolta. Így spadin és RR egymás utáni alkalmazásával elkülöníthető a tandem csatorna a homodimerektől. TREK-1 és TREK-2 együttes kifejeződése esetén találtunk olyan csatornákat, amelyek spadin- és RR-érzékenysége megfelelt a tandem csatornának.

**Következtetés:** A TREK-1 és TREK-2 alegységek együttes kifejeződésekor működőképes heterodimer keletkezik *Xenopus* petesejtekben. A heterodimer közepes vezetőképességű, extracelluláris savanyodás és spadin által gátolt csatorna. Feltételezzük, hogy a csatorna natív szövetekben szerepet játszik az extracelluláris pH változások érzékelésében, valamint a spadin antidepresszáns hatásának létrehozásában. A heterodimer csatorna natív szövetben való kimutatására irányuló vizsgálataink folyamatban vannak

TREK:TWIK-related K<sup>+</sup> channel

RR: Ruténium vörös

# KRÓNIKUS QUERCETIN TÁPLÁLÉK KIEGÉSZÍTÉS KÉSLELTETI A KORONÁRIA KISEREK KOROSODÁSSAL JÁRÓ HÁLÓZATI ÁTÉPÜLÉSÉT

**Lónyi Flóra**, Monori-Kiss Anna, Pásti Gréta, Monos Emil, Nádasy György L.

*Élettani Intézet, Semmelweis Egyetem, Budapest*

**Bevezetés:** Munkacsoportunk korábbi kísérletes munkái igazolták a flavonoid quercetin akut vazodilatátor hatását a koronária arteriolákon, valamint a tartós quercetin szupplementáció hatását ezen kiserek biomechanikai és farmakológiai válaszkészségét érintő remodelingjére. Jelen munkánkban a két hónapos quercetin szupplementáció hatásait vizsgáljuk a koronária arteriolák hálózati tulajdonságaira patkány modellben.

**Módszerek:** 180 g-os hím Wistar patkányok egy része (n=9) 30 mg/ttkg quercetint kapott per os nyolc hétig (Q csoport) a másik része (n=10) pedig kontrollként szolgált (K csoport). A kezelés végén kipreparáltuk a bal leszálló koronária artériát a 3-5. rendű elágazásokig. In vitro, 50-70 Hgmm perfúziós nyomás mellett nagy felbontású képeket készítettünk, melyeket kvantitatív analízisnek vetettünk alá.

**Eredmények:** A 400-1100 µm-nél nagyobb átmérőjű szegmensek hossza megrövidült a kezelés hatására (p=0,01). A Q csoportban több 2-300 µm érátérőjű szakaszt regisztráltunk, míg a K csoportban megjelentek extrém nagy átmérőjű artériák (>600 µm, p<0,01). Korábbi eredményeinkkel összhangban az érfal vastagodását észleltük a Q csoportban 500 µm alatti átmérőknél (p<0,01). A szegmentális tortuozitás csökkent a kezelés hatására (11,0±0,1% vs. 9,4±0,1%, p<0,01) és a szöglettorések száma is visszaszorult (3,5±0,6 vs. 1,0±0,5 db, p<0,01). Az elágazási szögek a K csoportban gyakrabban vettek fel hemodinamikailag előnytelen (45°-nál kisebb, vagy 105°-nál nagyobb) értéket, mint a Q csoportban (23% vs. 9%, p<0,05). A leányágak aszimmetria indexe a kezelés hatására csökkent (2,3±0,2 vs. 1,7±0,1, p=0,03). Mindkét csoportban az elemzett elágazások követték a Murray szabályt. A hálózat szerveződési hibáit jelző hálózati tortuozitás a quercetin kezelés hatására csökkent (11,5±0,2% vs. 9,7±0,1%, p<0,01).

**Következtetés:** Krónikus quercetin kezelés hatására a koronária hálózatok hemodinamikailag előnytelen elemeinek száma visszaszorult. Feltételezzük, hogy a quercetin kezelés lassítja az életkor, vagy/és a hemodinamikai stressz indukálta előnytelen átépülési folyamatokat, így képes megőrizni a filogenetikailag kialakult optimális közeli állapotot. A korábban tapasztalt biomechanikai és farmakológiai remodeling, valamint a hálózati struktúra átépülése a miokardium jobb vérellátását szolgálhatja.

(OTKA 32019, 42670, Magyar Hipertónia Társaság, Magyar Vese Alapítvány támogatásával.)

# AZ ENDOGÉN PACAP SZEREPE LPS-INDUKÁLTA GYULLADÁSOS FOLYAMATBAN

**Lőkös Emese**<sup>1</sup>, Váczy Alexandra<sup>1</sup>, Reglődi Dóra<sup>1</sup>, Kővári Petra<sup>1</sup>, Kovács Krisztina<sup>2</sup>,  
Kocsis Béla<sup>3</sup>, Tamás Andrea<sup>1</sup>, Atlasz Tamás<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup>Anatómiai Intézet, MTA-PTE PACAP „Lendület” Kutatócsoport, Pécsi Tudományegyetem, Pécs

<sup>2</sup>Biokémiai és Orvosi Kémiai Intézet, Pécsi Tudományegyetem, Pécs

<sup>3</sup>Orvosi Mikrobiológiai és Immunitástani Intézet, Pécsi Tudományegyetem, Pécs

<sup>4</sup>Sporttudományi és Testnevelési Intézet, Sportbiológia Tanszék, Pécsi Tudományegyetem, Pécs

A hipofízis adenilát-cikláz aktiváló polipeptid (PACAP) antiinflammatorikus hatásáról számos tanulmány készült. Korábbi adataink alapján feltételezzük, hogy a PACAP KO egerek endotoxin-indukálta fertőzés hatására nagyobb fokú gyulladással reagálnak, mint vad típusú társaik. Kísérletünk célja, hogy összehasonlítsuk a PACAP KO és vad típusú egerek retináinak i.p. LPS (6 mg/kg) kezelés hatására expresszáldó citokinek eltérését, valamint a folyamat alatt kialakuló esetleges funkcionális (elektroretinográfia) változásait. Az elektroretinográfia vizsgálatainkat, valamint a citokin array analízisünket az LPS fertőzéstől számított 24h elteltével hajtottuk végre. Eredményeink alapján azt tapasztaltuk, hogy kontroll körülmények között a vad típusú, illetve a PACAP KO egerek retinájában expresszáldó citokinek tekintetében nincs különbség. Azonban akut gyulladás hatására a fertőzést követően több fehérje esetén volt megfigyelhető expressziós eltérés a két kezelt csoport között. Az LPS kezelt PACAP KO egerekben a G-CSF, az IL-1 $\alpha$ , az IP-10, a JE, a KC és a MIP-1 $\alpha$  szintje szignifikánsan emelkedett. Az elektroretinográfia vizsgálatnál az LPS kezelt KO állatokban gyulladás hatására jelentős változás volt megfigyelhető a hullámkomponensek tekintetében. Vizsgálataink alapján elmondhatjuk, hogy az endogén PACAP fontos védő szerepet játszhat a retinális akut gyulladási folyamatokban.

Támogatók: OTKAK104984, KTIA\_13\_NAP-A-III/5, MTA-PTE Lendület Program, Bolyai János Kutatási Ösztöndíj, PTE ÁOK Kutatási Grant, Astellas Pályázat

# CEREBROVASCULAR BETA-DYSTROGLYCAN IN VERTEBRATES: ITS IMMUNONEGATIVITY IN FROGS AND ADVANCED TELEOSTS IS SECONDARY AND ATTRIBUTED TO EPITOPE INACCESSIBILITY

Lőrincz Dávid<sup>1,2</sup>, Jancsik Veronika<sup>2</sup>, Somiya Hiroaki<sup>3</sup>, Oszwald Erzsébet<sup>1</sup>, Sebők Olivér<sup>1,2</sup>, Kálmán Mihály<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Semmelweis Egyetem, Anatómiai, Szövet- és Fejlődéstani Intézet, Budapest*

<sup>2</sup>*SzIE; Állatorvos-tudományi Kar, Budapest* <sup>3</sup>*Chubu University, Kasugai, Japán*

Dystroglycan has pivotal function in the gliovascular connections. Its transmembrane beta subunit forms a complex of receptors and ion channels and connects them to the cytoskeleton. Its alpha subunit anchors this complex to the basal lamina. In the mammalian and avian brains the beta-dystroglycan immunopositivity (bDG+) delineates the vessels, although dystroglycan is localized in the vascular astroglial end-feet. Our former investigations proved the cerebrovascular bDG+ in Chondrichthyes (Kálmán and Ari, 2010, 6th European Congress of Comparative Neuroanatomy, Valencia, Spain). Further studies failed to detect bDG+ along the cerebral vessels in teleost fishes (less advanced ones: e.g. catfish, *Ameiurus nebulosus*, goldfish, *Carassius auratus*; and most advanced ones: e.g. cichlid perch *Amatitlania nigrofasciata*) as well as in frogs, e.g. *Pelophylax ridibundus* (formerly *R. esculenta*) (Sebők and Kálmán, 2010, 7th Europ. Congr. of Comp. Neuroanatomy, Budapest). Our recent investigations has extended on urodeles: *Ambystoma mexicanum*, *Pteruodeles waltly* and reptiles (turtle, *Trachemys scripta*, lizards, e.g. *Eublepharis macularis* and snakes, e.g. *Python regius*). Some ancient-type fishes were also examined: a lungfish (*Protopterus annectens*, Dipnoi), an early representative of the tetrapoda clad; bicirrh (*Polypterus senegalensis*, Cladistia), one of the closest extant relatives of the stock-actinopterygians; sterlet (*Acipenser ruthenus*, Chondrostei) and butterfly fish (*Pantodon buchholzi* Osteoglossiformes), one of the most ancient types of Teleostei. Animals were obtained from breeders, anaesthetized, then transcidentally perfused with buffered 4% paraformaldehyde. Serial transversal sections were cut by vibratome from agarose embedded brains, and immunohistochemical reactions were performed with anti-bDG (monoclonal, Novocastra), according to both immunoperoxidase and immunofluorescent protocols. As positive and negative controls rat and primer-serum free medium were applied. In each species bDG+ delineated the vessels. Pre-embedding immunoelectronmicroscopy on *Heterodontus japonicus* shark brains demonstrated that bDG is localized in the perivascular glial end-feet in Elasmobranchii despite the divergent construction of their blood-brain barrier. It refers to that bDG- is an apomorphic, secondary phenomenon emerged separately in anurans and in teleosts. Western blot probes however, demonstrated the bDG even in the brains of frogs and teleosts. It may have two explanations: a) Western blot detected vessel-independent bDG distributed evenly in the brain e.g. around synapses; b) the negative result is to be attributed to a special conformation and/or localization which make epitops unaccessible.

# KRÓNIKUS PROGESZTOGÉN TERHELÉS INDUKÁLTA MOLEKULÁRIS, SZÖVETANI ÉS SZOMATIKUS INDEX VÁLTOZÁSOK AZ ŐSHONOS BÚZASZEMŰ KESZEGEN (RUTILUS RUTILUS)

**Maász Gábor<sup>1</sup>**, Zrínyi Zita<sup>1</sup>, Takács Péter<sup>2</sup>, Lovas Sándor<sup>1</sup>, Fodor István<sup>1</sup>, Kiss Tibor<sup>3</sup>, Pirger Zsolt<sup>1</sup>

<sup>1</sup>NAP\_B Adaptív Neuroetológia Kutatócsoport,

<sup>3</sup>Kémiai Ökológiai és Neurobiológiai Kutatócsoport, Kísérletes Állattani Osztály,

<sup>2</sup>Hidrozoológiai Osztály MTA-ÖK Balatoni Limnológiai Intézet, Tihany, Magyarország

Progesztogének, mint a progeszteron és szintetikus analógjai (progesztinek) széles körben használtak, mint fogamzásgátló hatóanyagok. Felhasználás után, a hatóanyagok változatlan formában jutnak át a szennyvíztelepeken és biológiailag aktív formában érik el a vízfolyásokat és tavakat. Korábbi vizsgálatainkban, a 0.23-13.67 ng/L progesztogén (drospirenon, levonorgesztrel, gesztoden and progeszterone) koncentráció tartományt azonosítottunk a Balaton és Zala vízgyűjtő területén. Ezt a természetben előforduló terhelést modellezve, progesztogén keverék hatását vizsgáltuk molekuláris, szövettani és szomatikus indexek szintjén az őshonos, pontyfélék családjába tartozó búzaszemű keszegen, *Rutilus rutilus*. A progesztogének és a PARK7/DJ-1 chaperon fehérje számos közös támadáspontú molekulával rendelkezik (NRF2, PSF, LDLR), ezért a köztük lévő lehetséges kapcsolatot is vizsgáltuk.

A kísérleti állatokon 42 napig tartó 10, 100 and 500 ng/L koncentrációjú progesztogén kezelést hajtottunk végre. A kezelés hatásosságának megerősítését vitellogenin „szendvics” ELISA mérésel igazoltuk, amely egy általánosan használt biomarker. A PARK7/DJ-1 fehérje mennyiségi meghatározását és a térbeli eloszlásának feltérképezését „szendvics” ELISA és immunhisztokémiai vizsgálatokkal végeztük el agy és máj szöveten. Továbbá, vizsgáltunk molekuláris változásokat: a) klinikai kémiai paraméterek, mint a koleszterin, alacsony denzitású lipoprotein (LDL), magas denzitású lipoprotein (HDL) és triglicerid, valamint b) agy homogenizátumon 26 marker fehérjén.

Annak ellenére, hogy relatív rövid expozíciós időt alkalmaztunk (42 nap), szignifikáns változásokat figyeltünk meg a test-szomatikus indexekben. A máj- és a vese-szomatikus indexek szignifikánsan növekedtek, míg a gonado-szomatikus index szignifikánsan csökkent a kontrollcsoporthoz képest a kezelések hatására. A vitellogenin vizsgálatok során megfigyeltük kezelésünk hatását, azonban csak az 500 ng/L kezelt csoportban volt szignifikáns a változás. Az alacsonyabb kezelési szinteknél nem figyeltünk meg szignifikáns változást, ezért nem bizonyult megfelelő biomarkernek progesztogén szennyezés jelzésére. Igazoltuk, hogy a PARK7/DJ-1 fehérje érzékenyebb biomarker, mint a vitellogenin, ezért hatásosabb indikátornak tekinthető progesztogén szennyezés esetén. A szérum LDL és koleszterin szintek csökkentek a kezelések hatására, amely háttérben valószínűsítjük, hogy PARK7/DJ-1 fehérje által stimulált LDLR expresszió növekedés áll. Mely hatás következménye a fokozott LDL visszavétel a szérumból, ezáltal szérum LDL szint csökkenés.

Összességében, munkánk hozzájárul a kevés elérhető adathoz, amely a progesztogének kombinált hatását vizsgálja vízi ökoszisztémán, különös tekintettel arra, hogy a világszerte releváns koncentráció tartományt alkalmaztuk.

A projekt a Nemzeti Agykutatási Program (KTIA\_NAP\_13-2-2014-0006) finanszírozásával valósult meg.



# D-VITAMIN ÉS COX-2 GÁTLÓ KEZELÉS JAVÍTTJA A HIPERANDROGÉN ÁLLAPOT KÖVETKEZTÉBEN CSÖKKENT ÉRFUNKCIÓT POLICISZTÁS OVÁRIUM SZINDRÓMA MODELLEN

**Magyar Péter**<sup>1</sup>, Szekeres Mária<sup>2,3</sup>, Süli Anita<sup>4</sup>, Soltész-Katona Eszter<sup>5</sup>, Nádasy György<sup>5</sup>, Hadjadj Leila<sup>6</sup>, Várbíró Szabolcs<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Radiológiai Klinika, Semmelweis Egyetem, ÁOK

<sup>2</sup>SE-MTA Molekuláris Élettani Kutatócsoport

<sup>3</sup>Morfológiai és Fiziológiai Tanszék, Semmelweis Egyetem, ETK

<sup>4</sup>2.sz. Szülészeti és Nőgyógyászati Klinika

<sup>5</sup>Élettani Intézet

<sup>6</sup>KKK - Humán Élettani Intézet, Semmelweis Egyetem, ÁOK, Budapest

**Bevezetés:** A policisztás ovárium szindróma (PCOS) gyakori, a nők kb. 10%-át érintő hiperandrogén állapot, mely gyakran jár inzulin rezisztenciával, megváltozott metabolikus állapottal, D-vitamin hiánnyal. A fokozott szív-érrendszeri kockázat hátterét vizsgálva - hipertóniás célszervként - az arteria renalisok funkcióját teszteltük hiperandrogén állapotban, illetve D-vitamin hiány és pótlás esetén.

**Kutatási módszerek:** a hiperandrogén állapotot 8 hetes tesztoszteron (T) kezeléssel hoztuk létre Wistar nőstény patkányokon. 4 kísérleti csoportban (N=7, D-vitamin-kezelt, D-vitamin+T-vel kezelt, D-vitamin mentes táppal táplált, valamint D-vitamin mentes táppal és T-vel kezelt) az a. renalisokat izoláltuk, majd miográfiás rendszeren kontrakciós (angiotenzin II-AngII, fenilefrin-Phe) és relaxációs (acetilkolin-Ach, inzulin) érválaszokat vettünk fel. A dózis-hatás görbéket ciklooxygenáz (COX-2) gátlószer (NS398) adása mellett megismételtük.

**Eredmények:** T kezelés hatására az AngII-indukált vazokonstriktió fokozódott, amelyet D-vitamin adása mérsékelte. A PCOS modellben az Ach-indukálta vazorelaxáció is fokozódott a D-vitamin hatására. PCOS-ben az inzulin-függő vazodilatáció csökkent, ezt a hatást vissza lehetett fordítani D-vitamin pótlással. A hiperandrogén állapot hatására megemelkedett Phe-kontrakciót, mérséklődött Ach- és inzulin-relaxációt a COX-2-gátló kezelés helyreállította.

**Következtetések:** A hiperandrogén állapot hatására az a. renalison kialakuló fokozott kontrakciós és csökkent Ach-függő relaxációs készség hajlamosít hipertónia kialakulására. COX-2-gátló kezelés hatására mérséklődő kontrakciós érválasz a konstriktor prosztanoidok fokozott szerepére utal PCOS-ben. A D-vitamin kezelés hatására az erek funkcionális működése javult, csökkent a konstriktor prosztanoidok moduláló szerepe, valamint nőtt az inzulin érzékenység. Eredményeink alapján D-vitamin és COX-gátló adjuváns kezelés kedvező hatását feltételezzük PCOS betegekben a hipertónia kialakulásának megelőzésében.

**Támogatás:** OTKA 116954, Magyar Hipertónia Társaság kutatástámogatási kerete.

# NOVEL ENDOKANNABINOIDOK HATÁSAINAK VIZSGÁLATA HUMÁN Szebocitákon

**Markovics Arnold<sup>1</sup>**, Takács Erika<sup>1</sup>, Mihály Johanna<sup>1</sup>, Balogh Norbert<sup>1</sup>, Szántó Magdolna<sup>1</sup>, Szöllősi Attila Gábor<sup>1</sup>, Zouboulis C. Christos<sup>2</sup>, Oláh Attila<sup>1</sup>, Bíró Tamás<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>DE-MTA „Lendület” Sejtélettani Kutatócsoport, Debreceni Egyetem, ÁOK, Élettani és

<sup>3</sup>Immunológiai Intézetek, Debrecen, Magyarország

<sup>2</sup>Departments of Dermatology, Venereology, Allergology, and Immunology, Dessau Medical Center, Dessau, Németország

**Bevezetés:** Munkacsoportunk korábbi eredményei alapján ismert, hogy a „klasszikus” endokannabinoid (eCB) anandamid (AEA) és 2-arachidonoil-glicerol (2-AG) fontos autokrin/parakrin úton ható pozitív regulátorai a faggyúmirigyek lipidtermelésének. Tekintettel arra, hogy előzetes eredményeink szerint az AEA és 2-AG mellett más eCB-ok (palmitoil-etanolamin [PEA] és oleoil-etanolamin [OEA]) is termelődnek a szebocitákban, jelen kísérleteink során arra a kérdésre kerestük a választ, hogy ezek az AEA-tól és a 2-AG-tól szerkezetileg különböző, ún. „novel” eCB-ok miként befolyásolják a szebociták alapvető biológiai folyamatait.

**Módszerek:** A humán, immortalizált SZ95 szebociták életképességét MTT-assay-vel vizsgáltuk, míg az esetleges apoptotikus és nekrotikus sejthalál folyamatokat a mitokondriális depolarizációt, illetve sejtmembrán-dezintegrációt kimutató kombinált, fluoreszcens DiI1(5)-SYTOX Green festéssel követtük nyomon. A lipidtermelés vizsgálatára fluoreszcens Nile Red jelölést végeztünk.

**Eredmények:** Kísérleteink kezdetén széles koncentrációtartományban (10 nM - 50  $\mu$ M) vizsgálódva megállapítottuk, hogy 24-48 órás kezelése során egyik anyag sem csökkentette szignifikánsan az életképességet. A következőkben a szebociták legalapvetőbb biológiai folyamatát, a lipidszintézist tanulmányozva azt tapasztaltuk, hogy 50  $\mu$ M-os koncentrációban mind a PEA, mind az OEA szignifikánsan fokozta a faggyúlipidek termelését, ami alapján felmerült, hogy a „novel” eCB-ok az AEA-hoz és a 2-AG-hoz hasonlóan a szebociták fokozott lipidtermeléssel és apoptózissal jellemezhető terminális differenciációját segíthetik elő. Ezzel a hipotézissel teljes összhangban az esetleges korai sejthalál folyamatokat vizsgáló kísérleteinkben azt tapasztaltuk, hogy mind a PEA, mind az OEA magas (10-50  $\mu$ M) koncentrációi dóziszfüggő módon csökkentették a mitokondriális membránpotenciált, azaz korai apoptotikus folyamatokat indítottak el.

**Következtetés:** Eredményeink alapján a „novel” eCB-ok szerepet játszhatnak a faggyútermelés szabályozásában, így további, részletes vizsgálatuk ígéretes, új lehetőségekre mutathat rá a bőrszárazsággal járó kórképek kezelésében.

**Támogatók:** „Lendület” LP2011-003/2015

# HOGYAN MONDJAM EL NEKED?

## **Márton András**

*DLA színész, rendező, tréner*

Az előadásom azoknak szól, akik hivatásuk szerint tudásukat másokkal osztják meg. Csak akkor lehet hatásos egy egyetemi előadás, szakmai megbeszélés, vagy személyes meggyőzés, ha a beszélő tisztában van a nyilvános szereplés néhány alapvető elemével. A mondanivaló természetes és emlékezetes előadása mindenki számára elérhető, ha egy kicsit képzi magát ebben a mesterségben.

Egy órában szeretnék megismertetni Önökkel egy módszert, amely talán élvezetessé fogja változtatni a sokszor unalmas robotként megélt tanítási, vitatkozási rutinjukat. Munkatársaimmal egy hét elemből álló rendszerré fejlesztettük azokat a tapasztalatokat, amelyeket az évek során ezen a területen összegyűjtöttünk. Ennek elsajátításával sokszor sikerült már a szerepléstől rettegő embert szenvedélyes előadóvá segíteni és beszédmániás, túlmozgásos közszereplőt gazdaságosan használni túláradó energiáit.

Tréningjeim során azt vettem észre, hogyha valaki a hét elem akármelyikét megszereti és sikerrel alkalmazza, a többi hat szinte automatikusan belopózik eszközei közé. Remélem sikerül elhívni Önöket egy élvezetes kalandra, amely önmaguk fejlesztéséről, szakmai- és magánéletük hatékonyabbá tételéről szól. Rövid előadásom inkább csak megmutatja az utat, merre érdemes elindulni a hatékonyabb önkifejezésért.

# A PLAZMAMEMBRÁN PIP3 SZINTJÉNEK MÉRÉSÉRE KIFEJLESZTETT BRET BIOSZENZOROK VIZSGÁLATA EMLŐS SEJTEKBE

**Matuska Rita**, Gulyás Gergő, Hunyady László, Várnai Péter

*Semmelweis Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Élettani Intézet, Budapest*

A foszfoinozitidek a foszfatidilinozitolok foszforilált származékai. Szerkezetük gerincét egy glicerol molekula képezi, melyhez két apoláris zsírsavlánc és egy inozitol gyűrűvel kiegészített poláros foszfát csoport kötődik. Fontos szerepet játszanak különböző intracelluláris sejtjelátviteli, lipid transzportáló, illetve sejt migrációs folyamatokban. Az inozitol gyűrű 3-as, 4-es, illetve 5-ös hidroxil csoportjait különböző kinázok, illetve foszfatázok foszforilálhatják, valamint defoszforilálhatják. Foszforilált állapotuk alapján tudjuk őket csoportosítani. Kutatócsoportunk az elmúlt időszakban több bioszenzort is kifejlesztett, melyek a BRET módszer alkalmazásával lehetővé tették a foszfatidil inozitol 4-foszfát (PI4P) és foszfatidil inozitol 4,5-biszfoszfát (PIP2) plazmamembrán szintjének dinamikus változásának követését emlős sejtvonalakban.

Jelen munkánk során célunk a foszfatidil inozitol-3,4,5-triszfoszfát (PIP3) kimutatására alkalmas bioszenzorok fejlesztése és tesztelése volt. Ehhez különféle PIP3 specifikus lipidkötő doméneket alkalmaztunk, melyeket a luciferáz nevezetű biolumineszcens fehérjéhez kapcsolunk. Abban az esetben, ha ezeket a fúziós fehérjéket olyan sejtekben expresszáljuk, amelyek a plazmamembránhoz irányított sárga fluoreszcens fehérjét is tartalmaznak, akkor feltételezhetjük, hogy a kialakuló és mérhető energiáttranszfer a plazmamembrán PIP3 szintjével lesz arányos. Kísérleteinket HEK-293T és COS-7 sejtekben végeztük, amelyekben a PIP3 szint változást EGF adásával hoztuk létre.

Méréseink során azt tapasztaltuk, hogy bár a szenzorok mindegyike egy-egy PIP3-t specifikusan kötő domént tartalmazott, a kapott változások mértéke, kinetikája, illetve a jel-zaj arány egyrészt függött a vizsgált sejttypustól, másrészt maguktól a lipid kötő doménektől. Megállapítottuk, hogy ennek háttérében az áll, hogy a HEK sejtekben elsősorban az Akt fehérje PH doménja, de kisebb mértékben a GRP1 PH domén már bazálisan is jelentős membrán lokalizációt mutat, és ebből adódóan kisebb az EGF ingerre bekövetkező változás, míg ez a jelenség COS sejtekben, illetve a Btk és a TAPP1 PH domén esetében egyik sejttypusban sem jellemző. Ugyancsak megállapítottuk, hogy a GRP1 PH domén szenzor esetében a kis jel-zaj arány a csökkent luciferáz intenzitásnak tulajdonítható, amelyet a nukleáris lokalizáció csökkentésével, azaz egy export szignál beépítésével sikerült kivédnünk.

Méréseinkkel egyrészt igazoltuk azt a korábbi elképzelést, miszerint a PH domének membrán lokalizációjában a lipidkötés mellett más tényezők is szerepelnek, ugyanakkor bizonyítottuk, hogy bioszenzoraink alkalmasak a plazmamembrán PIP3 szintjének megbízható követésére is.

# SPONTANEOUS SPREADING DEPOLARIZATION AUGMENTS TISSUE ACIDOSIS IN THE ISCHEMIC RAT BRAIN

**Ákos Menyhárt**, Dániel Zölei-Szénási, Tamás Puskás, Orsolya M. Tóth, Borbála Szepes, Péter Hertelendy, Ferenc Bari, Eszter Farkas

*Department of Medical Physics and Informatics, Faculty of Medicine, University of Szeged, Szeged, Hungary*

Ischemia-related spreading depolarizations (SDs) are part of the pathophysiology of cerebrovascular diseases and predict worse outcome. SDs may exacerbate ischemic injury via related atypical hemodynamic responses, but their consequences on tissue pH changes are not yet understood. The regulation of pH changes of neurons is crucial in both physiological and ischemic conditions, because acid loading makes them susceptible for injury. Therefore we set out to compare intracellular pH changes associated with SDs propagating across the intact and the ischemic cortex of rats, acquired by electrophysiology involving pH sensitive microelectrodes.

Two cranial windows were prepared on the parietal bone of isoflurane-anesthetized young (8-10-week-old, n=10) and old (18-20-month-old, n=9) rats. After a baseline period of 50 min, transient ischemia was achieved by 60 min of bilateral common carotid artery occlusion, followed by 50 min reperfusion. SDs were elicited in the caudal cranial window by KCl at 15 min intervals prior, during, and after ischemia. Tissue pH and DC potential were acquired through a glass capillary microelectrode, and local CBF was measured with laser Doppler flowmetry in the rostral craniotomy.

In both young and old groups, ischemia caused an acidic shift of 0.2 units, while reperfusion induced an alkalotic shift of 0.1 unit with respect to baseline. In the young group, ischemia significantly deepened the SD-related acidosis ( $6.65 \pm 0.12$  vs.  $6.91 \pm 0.09$  unit, ischemia vs. baseline), and elongated its duration ( $3.55 \pm 0.108$  vs.  $1.47 \pm 0.27$  min, ischemia vs. baseline). The SD-related pH variation during reperfusion was similar to baseline. In the old group, the SD-related acidosis was milder, especially during ischemia, indicated by a smaller peak ( $6.81 \pm 0.11$  vs.  $6.65 \pm 0.12$  units, old vs. young.), and shorter duration ( $2.39 \pm 0.036$  vs.  $3.55 \pm 0.108$  min, old vs. young).

Marked tissue acidosis correlates with the extent of brain injury, and has been traditionally considered as a damaging component of cerebral ischemia. On the other hand, mild acidosis appears to be neuroprotective by delaying SDs and limiting ischemic injury. We propose that the SD-associated, prominent, transient acidosis superimposed on ischemic acidosis worsens tissue survival, thereby rendering SDs malignant in cerebral ischemia. In contrast, the less pronounced pH changes with SDs in the non-ischemic cortex are suggested not to be harmful. Finally, aging may alter SD-related tissue acidosis due to changes in glial volume and extracellular matrix.

# DEVELOPMENT OF A BRAIN-SELECTIVE ESTROGEN THERAPY FOR THE TREATMENT OF MENO- AND ANDROPAUSAL SYMPTOMS

**István Merchenthaler**

*Department of Epidemiology & Public Health and Department of Anatomy and Neurobiology,  
University of Maryland School of Medicine*

Estrogen deprivation has a profound effect on the brain in both sexes. Although estrogen is considered primarily as the female hormone, some of the actions of testosterone in males are also mediated via estrogen following the aromatization of testosterone to estrogen. One of the best demonstrations of how hormone deprivation affects brain function is the peri-menopausal hot flushes due to sudden decline in estrogen levels. Hot flushes are the most common and characteristic symptoms associated with the female climacterics and they negatively affect the quality of life. They represent the most prevalent neurological symptom for which women seek remediation. Other symptoms include depression/anxiety, cognitive decline, and sleep disorders. Although estrogens alleviate these typical climacteric symptoms, many women do not want to take them owing to unwanted side-effects impacting, for example, the uterus, breast and blood. In men suffering from prostate cancer and castrated, the sudden drop in testosterone and subsequent estrogen levels also cause hot flushes and the other symptoms characteristic for the menopause all of which can be prevented by estrogens but estrogen causes gynecomastia and therefore the compliance to the therapy is weak. Therefore, there is a need for developing safer estrogen therapies to control peri-menopausal/menopausal and andropausal symptoms, particularly hot flushes as they are the most devastating symptoms of the hypo-estrogenic condition.  $10\beta,17\beta$ -dihydroxyestra-1,4-dien-3-one (DHED), a novel brain-targeting bioprecursor prodrug of the main human estrogen,  $17\beta$ -estradiol (E2), is converted to E2 only in brain by a brain-selective reductase. This prodrug possesses favorable physicochemical properties for blood-brain barrier transport compared to those of E2 and, importantly, it also has excellent bioavailability after the clinically preferred oral administration. Therefore, utilizing DHED as an E2-bioprecursor may be a viable approach for delivering E2 selectively into the brain for the potential treatment of hot flushes and other hypoestrogenic symptoms. Here we show that DHED-derived E2 indeed, alleviates hot flushes in female rat models of thermoregulatory dysfunction of the brain. Similarly to clinically relevant estrogens, oral administration of DHED reduces tail skin temperature (TST) rise representing hot flushes in the morphine-dependent ovariectomized rat model and restores ovariectomy-induced loss of diurnal rhythm in TST without causing detrimental peripheral hormonal exposure, such as uterus and pituitary stimulations, and the proliferation of MCF-7a breast cancer cell xenografts. In a mouse model, DHED also reduces depression (forced swim test). Our promising preclinical assessments warrant further considerations of DHED for the development of a brain-selective  $17\beta$ -estradiol therapy to relieve menopausal and andropausal symptoms without harmful or undesirable side-effects.

# ENZYMATIC DIGESTION OF EXTRACELLULAR MACROMOLECULES IS PERMISSIVE FOR DENDRITIC GROWTH AND BRANCHING IN THE SPINAL DORSAL HORN

**Mészár, Zoltán<sup>2,3</sup>**, Dóra, Fanni<sup>1</sup>, Hadjikyriakou, Eleni<sup>1</sup>, Varga, Rita<sup>3</sup>, Antal, Miklós<sup>2,3</sup>, Szűcs, Péter<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*MTA-DE-NAP B-Pain Control Research Group University of Debrecen, Department of Physiology, Debrecen, Hungary*

<sup>2</sup>*MTA-DE Neuroscience Research Group, Debrecen, Hungary*

<sup>3</sup>*Department of Anatomy, Histology and Embryology, University of Debrecen, Debrecen, Hungary*

Proper dendritic growth and branching is essential for correct circuit assembly and function. Dendrites of the neurons determine their synaptic input- and membrane characteristics. Spinal superficial dorsal horn (SDH) neurons are largely heterogeneous based on their morphofunctional properties even though they derive from a single progenitor population. It is possible therefore that coordinated dendritic growth is mostly determined by environmental over intrinsic factors in late born SDH neurons. Such extrinsic environmental factors include extracellular matrix (ECM) macromolecules, like chondroitin-sulphate and hyaluronan. Immunohistochemistry revealed that these ECM molecules were increased in the dorsal horn at the same time when SDH neurons terminated their migration and initiated their dendritic differentiation. In order to clarify the function of ECM macromolecules in dendritic development we investigated the effect of chondroitinase ABC, AC and hyaluronidase treatment on embryonic GFP labelled organotypic spinal cord tissue cultures. The GFP labelling was challenged the late born population of Ptf1a progenitors by in utero electroporation of mice embryos at embryonic day 12 (E12). The cultured slices were kept in enzymatic treated and enzyme free conditions. GFP labelled cells were reconstructed by the Neurolucida software and a morphometric analysis of the newly formed processes was performed. Sholl analysis revealed that all types of enzymatic treatment caused dramatic increase in branchpoint numbers, length and the total dendritic surface. Total dendritic length increased with 124% in samples treated with a combination of chondroitinase AC and hyaluronidase, while branching was more facilitated when treated with either chondroitinase ABC or hyaluronidase alone. Our data suggest that the extracellular macromolecules hyaluronan and chondroitin-sulphate proteoglycans acting alone or together with other molecules are non-permissive for dendritic development and that as environmental factors they contribute to proper differentiation of SDH neurons. At the same time, enzymatic manipulation of the levels of ECM macromolecules may also be a potential strategy in promoting neuronal regeneration after spinal cord injury.

This research was supported by the Hungarian Scientific Research Fund (OTKA PD 108467), the Hungarian Brain Research Program (KTIA\_NAP\_13-1-2013-0001 (ZM) and KTIA\_NAP\_13-2-2014-0005 (PSz) ) grants of the Hungarian Government, the János Bolyai Research Scholarship of the Hungarian Academy of Sciences (PSz) and the Hungarian Academy of Sciences (MTA-TKI 242; MTA-JSPS bilateral mobility grant) Further support was provided by TÁMOP 4.2.4.A/2-11-1-2012-0001 „National Excellence Program”. The project was subsidized by the European Union and co-financed by the European Social Fund.

# LOKÁLIS ÉS PERIFÉRIÁS POLI(ADP-RIBÓZ)POLIMERÁZ AKTIVÁCIÓ KRÓNIKUS SZÍVELÉGTELENSÉGBEN

**Mezei Zsuzsanna**<sup>1</sup>, Horváth Eszter Mária<sup>1</sup>, Radovits Tamás<sup>2</sup>, Bárány Tamás<sup>1,2</sup>, Jakab Géza<sup>1</sup>, Mátyási Marcell<sup>1</sup>, Merkely Béla<sup>2</sup>, Benkő Rita<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Semmelweis Egyetem Élettani Intézet*

<sup>2</sup>*Városmajori Szív- és Érgyógyászati Klinika*

**Bevezetés:** A szívelégtelesség patomechanizmusában az oxidatív-nitratív stressz (ONS) jelentős szereppel bír. Célunk annak vizsgálata, hogy krónikus szívelégtelességben a szívben, illetve a keringő mononukleáris sejtekben az ONS következtében kialakuló tirozin nitráció illetve poli(ADP-ribóz) polimeráz (PARP) aktiváció mértéke összefüggést mutat-e egymással, illetve a betegségekre jellemző klinikai paraméterekkel. Korábbi kutatásaink igazolták, hogy a bal kamra elülső falában detektálható nitrotirozin szint és poli(ADP-riboz)iláció (PAR) összefügg a klinikai képpel explantált szívekben. A továbbiakban a bal kamra hátsó falára is kiterjesztettük vizsgálatainkat.

**Módszerek:** Immunhisztokémiai módszerrel vizsgáltuk a tirozin nitráció (NT) (anti-nitrotirozin antitest) és a PARP aktiváció (anti-poli(ADP-ribóz) antitest) mértékét szívtranszplantáció során gyűjtött, NYHA III-IV stádiumú krónikus szívelégtelen betegből származó szívek bal kamra posterior falában, és a betegek véréből gradiens-centrifugálással izolált keringő leukocita mintákban (N=25). A pozitív sejterületek arányát a teljes sejterülethez képest ImageJ szoftver segítségével határoztuk meg. A kapott adatok összefüggéseit egymással, illetve egyes klinikai paraméterekkel (kor, C-reaktív protein (CRP), prokalcitonin (PCT), ejekciós frakció (EF), pulzusszám, vércukorszint, kreatinin) lineáris regressziós módszerrel vizsgáltuk. A nem normál eloszlású adatokat logaritmikusan transzformáltuk.

**Eredmények:** A bal kamra hátsó falának PAR pozitivitása az endokardiális és epikardiális oldalon 10,0 [6,7; 20,1]%, illetve 8,0 [2,4; 16,9]%-nak adódott, az endokardiális oldal szignifikánsan pozitívabb ( $p < 0,05$ ). A keringő leukociták NT és PAR festődése 5,2 [1,2; 3,3]% és 2,1 [1,2; 3,3]% volt, közöttük összefüggést nem találunk. Az epikardiális PARP aktiváció szignifikáns pozitív összefüggést mutatott a pulzusszámmal ( $B = 0,03 \pm 0,01 \log\%$ ;  $r^2 = 0,27$ ;  $p < 0,05$ ). A bal kamra hátsó fali tirozin nitráció statisztikailag nem különbözött az endo- és epikardiális felszíneken (12,09 [5,38; 29,75]% és 7,83 [3,23; 14,85]%). Az epikardiális nitrotirozin festődés pozitív korrelációt mutat a vércukor szintekkel ( $B = 0,213 \pm 0,06$ ;  $r^2 = 0,45$ ;  $p < 0,01$ ). A keringő leukocitákban detektált nitratív stressz pozitívan korrelált a PCT-vel ( $B = 3 \pm 1,1 \log\%$ ;  $r^2 = 0,33$ ;  $p < 0,05$ ), a sejtek PARP aktivitása pedig a CRP-vel ( $B = 0,008 \pm 0,003$ ;  $r^2 = 0,26$ ;  $p < 0,05$ ).

**Következtetések:** Amíg a nitratív stressz a bal kamra hátsó falában független a periférián mért tirozin nitrációtól, de szoros összefüggést mutat a szénhidrát-háztartással, addig a szubendokardiális PARP aktivitás a szív terhelésével változik. A periférián detektálható nitrotirozin és PAR szintek a szervezetben jelen lévő szubakut gyulladásra reflektálhatnak.



# THE EFFECT OF ACUTE HYPEROXYGENATION ON VASCULAR RELAXATION MECHANISMS TO ACh IN SPRAGUE-DAWLEY RATS

Mihaljević, Z.<sup>1</sup>, Ćosić, A.<sup>1</sup>, Novak, S., Kibel, A.<sup>1,2</sup>, Stupin, A.<sup>1</sup>, Jukić, I.<sup>1</sup>, Mihalj, M.<sup>1</sup>, Drenjančević, I.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Physiology and Immunology, Faculty of Medicine, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Croatia.

<sup>2</sup>Clinical Hospital Center Osijek, Croatia

Corresponding author: Ines Drenjancevic

Key words: rat, hyperbaric oxygen therapy, vascular reactivity, oxidative stress

**Introduction:** Results of our previous studies suggest that acute exposure to hyperbaric oxygen (HBO<sub>2</sub>) increases oxidative stress parameters (1). It is known that oxidative stress impairs vascular relaxation mechanisms in high dietary salt intake or hypertension. On the other hand, chronic, intermittent HBO<sub>2</sub> exposure has beneficiary effect on vascular relaxation in diabetic animals (2). The synthesis of metabolites of arachidonic acid (AA) may be changed due to oxygen partial pressure alteration. Aim of this study was to examine the acute, single HBO<sub>2</sub> exposure effects on the vascular reactivity to acetylcholine (ACh) in healthy male Sprague-Dawley rats.

**Methods:** Fifty healthy Sprague-Dawley 9-12 weeks old rats were divided in two groups (25 rats per group) - control group and A-HBOT (acute HBO<sub>2</sub> in a single 120 minutes session of 100% O<sub>2</sub> at 2.0 bars with additionally 15 minutes for gradual compression and decompression). Response to ACh was studied in norepinephrine precontracted aortic rings (Isolated Organ Bath (Experimetria LTD) with or without L-NAME (NOS inhibitor), indomethacine (non-selective COX inhibitor, INDO), SOD mimetic TEMPOL or MS-PPOH (selective inhibitor of CYP450-epoxygenase that catalyses EETs production). Spectrophotometric method TBARS (Thiobarbituric Acid Reactive Substances) was used for measuring products of lipid peroxidation as a direct indicator of oxidative stress in arterial blood serum samples.

**Results:** Acute exposure of healthy animals to HBO<sub>2</sub> leads to the significantly impaired vasorelaxation response to ACh compared to control group. TEMPOL (10<sup>-5</sup>M) in vitro leads to recovery of vasorelaxation in response to ACh in A-HBOT group. In tested groups of rats, ACh induced vasorelaxation was mediated mainly by NO, with the contribution of CYP450 vasodilator metabolites in A-HBOT group respectively. Measuring of oxidative stress parameters (TBARS) showed significantly increased oxidative stress in A-HBOT group compared to control.

**Discussion:** These results are in concordance with our previous study related to hyperbaric oxygenation. Increased oxidative stress in acute hyperbaric oxygen exposure and oxygen partial pressure changes were showed by Drenjancevic et.al 2013.

**Conclusion:** Oxidative stress is increased in acute exposure to HBO<sub>2</sub>, which is probably the cause of dilation impairment. Hyperbaric oxygenation may lead to relaxation mechanism alteration mainly by activating CYP450 epoxygenation reactions and synthesis of EETs.

# GYULLADÁSOS MODELLEK OPTIMALIZÁLÁSA HUMÁN KERATINOCITÁKON

Mihály Johanna<sup>1</sup>, Angyal Ágnes<sup>1</sup>, Sárvári Anitta Kinga<sup>1</sup>, Shahrzad Alimohammadi<sup>1</sup>,  
Tubak Vilmos<sup>2</sup>, Oláh Attila<sup>1</sup>, Bíró Tamás<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>DE-MTA „Lendület” Sejtélettani Kutatócsoport, Élettani és <sup>3</sup>Immunológiai Intézetek, Debreceni Egyetem

<sup>2</sup>Creative Labor Kft., Szeged

**Bevezetés:** Gyulladásos citokin és kemokin termelésük révén az epidermális keratinociták jelentős szerepet játszanak a bőr immunológiai folyamatainak szabályozásában, ezért kísérleteink során a hámsejtek gyulladásos folyamatainak minél szélesebb körű vizsgálatára alkalmas komplementer in vitro modellrendszerek optimalizálását tűztük ki célul.

**Módszerek:** Az immortalizált humán epidermális keratinociták (HaCaT, HPV-KER) életképességét MTT-assay-vel vizsgáltuk. A biológiai választ válogatott gyulladásos citokinek expressziójának (RT-qPCR) és felszabadulásának (ELISA) vizsgálatával követtük nyomon 3, 6, 12 és 24 órás kezelések során.

**Eredmények:** Kísérleteink eredményeként a következő gyulladásos modelleket optimalizáltuk (a sejtek életképessége egyik esetben sem csökkent):

1. „Nem-specifikus irritáció” modell: 1  $\mu$ M SDS kezelés (24h; HaCaT). Vizsgálati végpontok: IL-6 és IL-8 (RT-qPCR), illetve IL-8 (ELISA).
2. Kontakt allergia modell: 1  $\mu$ M NiCl<sub>2</sub> kezelés (6h; HPV-KER). Vizsgálati végpontok: IL-6 és IL-8 (RT-qPCR), illetve IL-6 (ELISA).
3. Kémiai irritáció modell: 300  $\mu$ M carvacrol (6h; HPV-KER). Vizsgálati végpontok: IL-1 $\alpha$ , TNF- $\alpha$ , IL-6 és IL-8 (RT-qPCR), valamint IL-6 és IL-8 (ELISA).
4. Proteáz aktivációhoz kapcsolt gyulladás: 10  $\mu$ M SLIGRL kezelés (3-6h; HaCaT). Vizsgálati végpontok: IL-6 és IL-8 (RT-qPCR és ELISA).
5. UVB-indukált gyulladás: 6 órás inkubálás 40 mJ/cm<sup>2</sup> dózisú UVB-besugárzást követően. Vizsgálati végpontok: IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-6 és IL-8 (RT-qPCR), valamint IL-6 és IL-8 (ELISA).
6. „Patogén-indukált” gyulladás: 20  $\mu$ g/ml poly-(I:C) kezelés (3h; HaCaT). Vizsgálati végpontok: IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 és IL-8 (RT-qPCR), valamint IL-6 és IL-8 (ELISA).
7. „Atopias dermatitis-szerű” gyulladás: SEB (100 ng/ml) és TSLP (30 ng/ml) kombinációs kezelés (48-72h; HPV-KER). Vizsgálati végpontok: IL-1 $\alpha$ , TNF- $\alpha$ , IL-6 és IL-8 (RT-qPCR), valamint IL-8 (ELISA).

**Következtetés:** Az optimalizált modellek megbízható eszközt jelenthetnek új típusú gyulladásgátló molekulák hatékonyságának szűrő jellegű in vitro tesztelésére, és ígéretes gyógyszerjelöltek azonosítására.

**Támogatók:** „Lendület” LP2011-003/2015

Rövidítések:

ELISA: enzyme-linked immunosorbent assay

IL: interleukin

RT-qPCR: valós idejű kvantitatív polimeráz lánreakció

SEB: Staphylococcus entrotoxin B

SDS: nátrium dodecil szulfát

SLIGRL: seryl-leucyl-isoleucyl-glycyl—arginyl-leucinamid

# PROSZTAGLANDINOK MEDIÁLJÁK-E AZ ALARIN LÁZSZERŰ HŐSZABÁLYOZÁSI HATÁSÁT?

**Mikó Alexandra**<sup>1</sup>, Klespitz Péter<sup>1</sup>, Sohonyay Fanni Mirella<sup>1</sup>, Füredi Nóra<sup>1</sup>, Susanne Brunner<sup>2</sup>, Barbara Kofler<sup>2</sup>, Balaskó Márta<sup>1</sup>, Pétervári Erika<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Pécsi Tudományegyetem, ÁOK, Transzlációs Medicina Intézet, Pécs

<sup>2</sup>Laura Bassi Centre of Expertise - THERAPEP, Research Program for Receptor Biochemistry and Tumor Metabolism, Department of Pediatrics, Paracelsus Medical University, Salzburg, Austria

**Bevezetés:** A galanin peptidcsaládba tartozó, 2006-ban felfedezett peptid, az alarin jelenlétét kimutatták a szervezet energiaháztartását szabályozó központi idegrendszeri struktúrákban. Korábbi állatkísérleteink során kiderült, hogy a peptid csökkenti táplálékfelvételt, emellett növeli az anyagcserét, csökkenti a hőleadást, ezáltal szabályozott, koordinált módon növeli a testhőmérsékletet, de ennek mechanizmusa még nem ismert. Jelen kísérleteinkben az alarin által kiváltott lázszerű hipertermia kialakulásában a láz és a gyulladáshoz vezető folyamatok hátterében ismert prosztaglandin mediátorok lehetséges szerepét vizsgáltuk.

**Módszerek:** Felnőtt hím Wistar patkányok jobb laterális agykamrájába injektált alarin (1 nmol) hőszabályozási hatását a prosztaglandinokat termelő ciklooxygenáz (COX) enzim mindkét típusát gátló indomethacin (2 mg/kg) és a gyulladásban fontos COX2 típusát szelektíven gátló meloxicam (1; 2 mg/kg) intraperitoneális injekcióját követően elemeztük. Az oxigénfogyasztást (amelyből az anyagcserére következtethetünk) kontrollált hőmérsékletű (25 °C) anyagcserekamrában indirekt kaloriméterrel (Oxymax), a hőleadást jelző farokbőr-hőmérsékletet és a maghőmérsékletet Benchtop termométer és termoelemek segítségével mértük.

**Eredmények:** Az alarin-injekció növelte az oxigénfogyasztást, ami a farokbőrben kimutatott vazokonstriktív hatással együtt a maghőmérséklet lassú, lázszerű emelkedését eredményezte. Ezt szignifikánsan csökkentette mindkét COX-gátló alkalmazása.

**Következtetés:** Eredményeink szerint az alarin hipermetabolikus és koordinált, lázszerű hipertermiás hatása - legalábbis részben - a klasszikus láz- és fájdalomcsillapító gyógyszerek által gátolt COX enzim hatására termelt prosztaglandinoknak köszönhető. Mindezek alapján felvetődik az alarin lehetséges szerepe gyulladáshoz vezető állapotokat kísérő, lázzal és étvágytalansággal járó úgynevezett „sickness behavior” kialakulásában, és ezért a későbbi gyógyszerfejlesztések támadáspontjául szolgálhat.

# KÉT HÓNAPOS QUERCETIN SZUPPLEMENTÁCIÓ MÉRSÉKELI A KORONÁRIA ARTERIOLÁK HÁLÓZATI TULAJDONSÁGAINAK HIPERTÓNIA INDUKÁLTA KÓROS ÁTÉPÜLÉSÉT

**Monori-Kiss Anna**<sup>1</sup>, Lónyi Flóra<sup>1</sup>, Nádasy György L.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Semmelweis Egyetem, Klinikai Kísérleti Kutató Intézet, Budapest*

<sup>2</sup>*Semmelweis egyetem, Élettani Intézet, Budapest*

**Bevezetés:** Korábbi kísérletes munkáinkban a flavonoid quercetin hatásait vizsgáltuk patkány koronária arteriolákon. Az akut vazodilatáció igazolása után a krónikus szupplementáció indukálta biomechanikai és farmakológiai remodelinget és hálózati átépülést írtuk le. Jelen munkánkban két hónapos quercetin szupplementáció hatásait vizsgáljuk a koronária kiserek hálózati tulajdonságaira kísérletes patkány hipertónia modellben.

**Módszerek:** 180 g-os hím Wistar patkányokat két csoportba osztottunk. Az egyik csoport (HQ, n=8) a kezelés 8 hete alatt az ivóvízbe szuszpendált quercetin kezelést kapott (30 mg/ttkg), míg a másik csoport (HK, n=8) ivóvizet kapott. 28 nappal később ozmotikus minipumpát ültettünk a hát bőre alá, amely angiotenzin II-t adagolt 28 napig 200 ng/perc/ttkg dózisban mindkét csoportban. Az összesen nyolc hét kezelési idő után az a. carotis kanülálásával vérnyomást mértünk, majd videomikroszkópos feltárással képeket készítettünk a kiperparált és perfundált koronária hálózatról, melyeket off-line analizáltunk.

**Eredmények:** A quercetin kezelés csökkentette a patkányok vérnyomását (HK:  $161 \pm 7 / 122 \pm 6$  Hgmm, HQ:  $137 \pm 10 / 110 \pm 10$  Hgmm), de csak kismértékben csökkentette az apex-orificium távolságot (HK:  $16,5 \pm 0,4$  mm, HQ:  $15,8 \pm 0,4$  mm, ns.) és a 100 g testtömegre normalizált szívtömeget (HK:  $0,29 \pm 0,03$  g, HQ:  $0,27 \pm 0,02$  g, ns.). A szegmentális tortuozitás a quercetin kezelés hatására jelentősen csökkent (HK:  $1,3 \pm 0,2\%$ , HQ:  $0,4 \pm 0,06\%$ ,  $p < 0,01$ ). Megfigyeltük a falvastagság kismértékű növekedését 200 1m feletti belső átmérőknél a quercetinnel kezelt csoportban ( $p < 0,01$ ). A hálózatok kezdeti területén (0-5 mm folyási távolság) a HK csoportban extrém nagy átmérők jelentek meg (600-800 1m), míg a HQ csoportban a perifériás területeken több rezisztenciaeret (100-300 1m) regisztráltunk ( $p < 0,01$ ). A többszörös és komplex elágazások száma a HQ csoportban csökkent ( $3,2 \pm 0,5$  vs.  $2,3 \pm 0,6$ , ns.). A hálózat rendezettségét jelző hálózati tortuozitás a quercetin szupplementáció hatására csökkent (HK:  $14 \pm 1\%$ , HQ:  $10 \pm 0,01\%$ ,  $p = 0,01$ ). A hálózati anomáliák (melyek a hipertóniás hálózatokra jellemzőek, mint a szöglettörések, párhuzamos lefutás, „visszacsapó” ágak, keresztezett kicserélési terület, vagy a megcsavarodó elágazások) száma a HQ csoportban jelentősen csökkent (HK:  $6,8 \pm 0,7$  db, HQ:  $3,6 \pm 0,7$  db,  $p < 0,01$ ).

**Következtetés:** A kísérletes hipertónia mindkét csoportban jelentősen torzította a koronária arteriolák hálózati struktúráját. A kialakult hipertóniás elváltozások egybevágóan laboratóriumunk korábbi megfigyeléseivel. A quercetin szupplementáció mérsékeli a hipertónia indukálta előnytelen érhálózati remodeling folyamatokat.

(OTKA 32019, 42670, Magyar Hipertónia Társaság, Magyar Vese Alapítvány támogatásával.)

# PERINEURONAL NETS AS NEUROPROTECTIVE STRUCTURE IN OXIDATIVE STRESS

**Markus Morawski**

Paul Flechsig Institute of Brain Research, Faculty of Medicine, Universität Leipzig, Leipzig

Perineuronal nets (PNs) are a specialized form of extracellular matrix, surrounding different types of neurons. PNs mainly consist of chondroitin sulphate proteoglycans connected to hyaluronan, stabilised by link protein and cross-linked via tenascin-R. Due to their polyanionic character, caused by the highly charged chondroitin sulphate glycosaminoglycan and hyaluronan components, PNs may act as “anionic shield” representing a mechanism protecting cells against deleterious effects of “toxic” anionic species generated in their environment by metabolic or oxidative stress. They are able to scavenge and bind redox-active ions and thus reduce the local oxidative potential. Oxidative stress is a key factor in the development and progression of neurodegenerative diseases like Alzheimer`s and Parkinson`s disease. Iron is believed to contribute to oxidative stress in Alzheimer brains by catalysing the generation of free radicals. This concept is supported by different recent observations on neuroprotective properties of PN-associated chondroitin sulphate proteoglycans. We investigated whether net-enwrapped neurons are less vulnerable against iron-induced oxidative processes. The analysis showed a significant lower degeneration rate of net-ensheathed neurons in comparison to neurons without PNs.

# HOL TART A HUMÁN VÉNÁS VARIKOZITÁS ÁLLATKÍSÉRLETES MODELLJÉNEK FEJLESZTÉSE?

**Nádasy György L<sup>1</sup>**, Dörnyei Gabriella<sup>4</sup>, Hetthéssy Judit R<sup>2</sup>, Patai Bettina<sup>1</sup>, Monos Emil<sup>3</sup>

<sup>1</sup>ÁOK Élettani Intézet,

<sup>2</sup>Orthopaediai Klinika,

<sup>3</sup>Klinikai Kísérleti Kutató- és Humán Élettani Intézet,

<sup>4</sup>Egészségtudományi Kar Morfológiai és Fiziológiai Tanszék,  
Semmelweis Egyetem Budapest

A lakosság közel egynegyedét érintő alsó végtagi vénás varikozitás betegségnek még mindig nincs elfogadható állatkísérletes modellje, ami nehezíti a pathomechanizmus feltárását, és a szerencsésen egyre bővülő terápiás eszköztár objektív tesztelését. A Monos féle ferde csőketreces tartás (Am J Physiol 1989;256:H1185-H119) mindezidáig az egyetlen viabilis módszer kísérleti állatokban az alsó végtagi vénák gravitációs terhelésének tartós fokozására. Patkányokban e módszerrel a kb. 4-5 Hgmm-es saphena vénanyomás közel megduplázható. Számos olyan vénás hálózati, érfalmechanikai, szövettani és sejtfiziológiai változást sikerült ezzel azonosítanunk, amelyek a varikozitás betegség pathomechanizmusában is szerepet játszhatnak. A vena saphena főágára a vena femoralis profundába való beszájadzása előtt több hétre felhelyezett szűkítő klip ugyancsak megduplázta a vénás nyomást, míg az áramlást a főágban kb. a harmadára-ötödére redukálta. In vivo érfestéses videomikroszkópiás vizsgálatok, valamint plasztik feltöltéses öntvényeken végzett megfigyelések azt mutatták, hogy az áramlás retrográd módon egy újonnan kialakuló kisvénás kollaterális hálózatra terelődött át és így kerülte meg a szűkület helyét. A kialakuló kollaterális hálózat morfológiai megjelenése a humán alsó végtagi varikozitás betegség korai fázisában megjelenő retikuláris-, seprő- illetve pókvénákéra emlékeztetett.

Bennük a főágból visszafelé tartó reflux áramlás egyértelműen bizonyítható volt. A szűkítő klip és a ferde csőketreces tartás kombinálásával kitűnt, hogy az újonnan képződött kollaterális vénás hálózatban gyakran jelennek meg lokális tágulatok, illetve tortuózus lefutású szakaszok, melyek már egyértelműen a varikozus állapot modelljeinek tekinthetők. Újabb kísérlet sorozatunkban patkány vena saphena beszájadzása előtti billentyűjének sebészeti kiirtására dolgoztunk ki technikát, e kísérleteink kezdeti eredményeiről is be kívánunk számolni. Vizsgálataink eredményei azt mutatják, hogy a vénafalnak jelentős tartalékai vannak az esetleges magasabb nyomás elviselésére. Ezzel szemben, a változó áramlási viszonyok között épp átépülésben lévő vénafal a párhuzamosan jelentkező magas nyomással szemben kevésbé ellenálló, és ilyenkor számíthatunk irreverzibilis, vagy közel irreverzibilis lokális vénás dilációk, tortuozítások megjelenésére.

(Az OTKA TO32019, TO 42670, Magyar Vese alapítvány és a Semmelweis Egyetem ÁOK támogatásával)

# A FOGÍNY MIKROCIRKULÁCIÓJÁNAK VÁLTOZÁSA FOGMOSÁS ÉS VAZOAKTÍV REFLEXEK HATÁSÁRA

**Nagy Izabella,** Komarek Edit, Pethő Orsolya, Fazekas Réka, Molnár Eszter,  
Vág János, Lohinai Zsolt  
*Semmelweis Egyetem*

**Bevezetés:** A laser speckle contrast imaging (LSCI) egy új, noninvazív, ismételtmérésre is kiválóan alkalmas, a véráramlást két dimenzióban vizsgáló módszer.

**Célkitűzés:** A fogíny és a szájnyálkahártya különböző részein bekövetkező mikrocirkulációs változások detektálása, egyszerű tesztek kidolgozása, és ezek segítségével klinikai tesztek létrehozása az egészséges és kóros eltérések vizsgálatára.

**Módszerek:** Vizsgálati alanyaink 18-40 év közötti, egészséges, nem dohányzó, nem várandós, alkoholt rendszeresen nem fogyasztó férfiak és nők voltak. A megérkezés, és a 15 perces nyugalmi periódus után meghatározott időközönként, az élettani tesztek során rendszeresen mértük a vérnyomást a felkaron. Az alanyok mindeközben vákuum párnában rögzített fejjel, mozdulatlanul feküdtek a fogorvosi székben egy 26 0C-osra termosztált kezelőben. A 33 és 32 fogak közti papilla, valamint a feszes íny és elmozduló nyálkahártya területén monitoroztuk a véráramlás változását szisztémás (a maximális kéz-szorítóerő 30%-ának fenntartása 3 percig) és lokális (vörös válasz kiváltása drótáthúzással az adott ínyszakaszon) reflexek, valamint fogmosás (apiko-koronális irányú söprés tiszter, médium fogkefével) után LSCI segítségével. Adatainkat mixed model statisztikai módszerrel értékeltük ki.

**Eredmények:** A kézszorítás teszt során átlagosan 35 Hgmm-es szisztémás vérnyomás emelkedést tapasztaltunk. A véráramlás a gingivában nem változott, míg az elmozduló nyálkahártyában igen. Abban az esetben viszont, amikor az ínyt dróttal vagy fogkefével stimuláltuk a véráramlás jelentősen nőtt a gingivában.

**Következtetések:** Az, hogy a szisztémás vérnyomás emelkedés ellenére sem változott a véráramlás, a gingiva autoregulációjára utal. Méréseink szempontjából előnyös lehet, hogy a vizsgálat közben szisztémás okokból bekövetkező kisebb vérnyomás változások nem befolyásolják a lokális vérkeringést, ezért vélhetően nem okoznak mérési hibát. A lokális mechanikus stimuláció véráramlás fokozó hatása védekező válasz, és előnyös lehet az íny egészségének fenntartása szempontjából, például a mindennapos szájhygiénés tevékenységek során is.

# A DOPAMINERG NEUROTRANSMISSZIÓ IN VIVO VOLTAMMETRIÁS VIZSGÁLATA PATKÁNY AGYBAN

**Nagy Lili Veronika<sup>1</sup>**, Bali Zsolt Kristóf<sup>1</sup>, Budai Dénes<sup>2</sup>, Hernádi István<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Translational Neuroscience Research Group, and Szentagotai Res. Center, and Department of Experimental Neurobiology, Faculty of Sciences, University of Pécs, Hungary*

<sup>2</sup>*Kation Scientific Ltd., Minneapolis, MN, USA*

A neurotranszmitterek hatásmechanizmusának ismerete fontos kiindulópont az összetettebb agyi folyamatok megértésében, így az egyes neurodegeneratív betegségekkel kapcsolatos működések kezelésében is létfontosságú. A dopamin (DA) a katekolaminok közé sorolható neurotranszmitter, és fontos szerepet tölt be a magatartásszabályozásban, meghatározza a motoros funkciókat, a kognitív folyamatokat és hat az endokrin rendszerre is. A voltammetria, elektroanalitikai eljárások közé sorolható technika, amely igen jó tér- és időbeli felbontóképességgel jellemezhető és a szelektivitás terén is érzékenynek tekinthető módszer. Segítségével in vivo körülmények között vizsgálható a DA felszabadulás kinetikája. A DA detektálásának alapja a molekula redoxi változásának hatására kialakuló elektronmozgás okozta áramerősség mérése. A kísérletek során célunk egy olyan kísérleti elrendezés kialakítása volt, amely különböző vegyületek dopamin felszabadulásra és dopamin visszavételre gyakorolt hatásának vizsgálatát teszi lehetővé. A validálásra alkalmas vegyület megtalálása után, egyéb vegyületek hatásának vizsgálatát is célul tűztük ki, melyek hatással lehetnek dopaminerg neurotranszmissziójára (PHA-543613-  $\alpha 7$  receptor agonista, sibutramine-monoamin-visszavétel gátló). Az általunk alkalmazott voltammetriás mérőrendszer egy munkaelektrodból (egycsatornás szénszálas üvegelektrod (100nm hegy)) és egy referencia elektrodból (Ag/AgCl-elektrod) állt. Az endogén dopamin felszabadításához rozsdamentes acél bipoláris elektrodot (MS303-2-B, PlasticsOne, Roanoke, VA, USA) használtunk a mérések során. A DA-szint változásának detektálását aldatott patkányban végeztük. A ventrális tegmentális területet körülbelül három percenként ingereltük elektromosan a stimuláló elektrod segítségével, ennek hatására a nucleus accumbensben nagy mértékű, tranziens dopamin felszabadulást detektálhattunk a bevezetett szénszálas mikroelektrod segítségével. A kontroll felvételek után  $\alpha 7$  receptor agonista PHA-543613 vagy monoamin-visszavétel gátló sibutramine beadása történt intraperitoneálisan, majd vizsgáltuk az egyes vegyületek hatását a dopamin-felszabadulás mértékére. A mérések validálásához nomifensine-t (DA visszavétel gátló) adtuk be intraperitoneálisan. A pontos DA-koncentráció értékeket az elektrod utólagos kalibrálásával határoztuk meg, melyet in vitro áramlási rendszerben végeztünk. A továbbiakban szövettani metszetek segítségével nyertünk bővebb információt az elektrodotok pontos helyzetéről. A nomifensine hatására nagy mértékben és gyorsan növekedett a dopamin-csúcs. Ezzel szemben a PHA-543613 és sibutramine beadása után nem tapasztaltunk jelentősebb változást a DA-csúcs nagyságában.

Összefoglalva: kísérleteink során sikerült egy olyan elektroanalitikai eljárást beállítani, amellyel újonnan előállított gyógyszerhatású vegyületek DA rendszerre gyakorolt hatása vizsgálható kvantitatívan ismert referens anyagok mellett.



# **AUTOMATIZÁLT KONFOKÁLIS ÉS FLUORESZCENS MIKROSKÓPIAI MEGOLDÁSOK A BIO-SCIENCE KFT-TŐL**

**Nagy Nándor**

*Bio-Science Kft.*

A High Content Screening robusztus és részletgazdag megoldás sejtes/szöveti/teljes szervezeti imaging alapú analízisre. Ez a megközelítés a morfometriai analízis, publikálható képek és több paraméteres vizsgálatok lehetőségeit is magában foglalja. A Molecular Devices ImageXpress Micro Confocal rendszere spinning disk konfokális és widefield fluoreszcens (opcionálisan brightfield és fáziskontraszt) képalkotásának köszönhetően a területen elérhető legrészletesebb felvételek automatikus analízisére képes, élősejtes/gyors kinetikai vizsgálatokhoz szükséges opcionális környezeti kontrollal és automatizált folyadékkezeléssel. Beépített applikációs moduljai pedig a csupán pár paraméter megadásával megoldható teljes analízist biztosítják, például spheroid, sebgyógyulás, neurotoxicitás, vezikulumképződés vizsgálatait esetén.

# **„SIMPLE WESTERN“-BLOT AUTOMATIZÁLT KAPILLÁRIS ALAPÚ FEHÉRJEANALITIKAI VIZSGÁLATOK: KVANTITATÍV KEMILUMINESZCENS TÖLTÉS ÉS TÖMEG SZERINTI ANALÍZIS**

**Nagy Nándor**

*Bio-Science Kft.*

A hagyományos Western blot a fehérjeanalízis alapvető eszköze, azonban munkaigénye és sok lépése miatt egy reprodukálható és megbízható blottolás a laboratóriumi munka egyik legnagyobb kihívása. Ennek automatizált megoldását kínálja a Protein Simple, amely Simple Western termékcsaládjával akár 96 minta egy futáson belüli, termosztált kapillárisokban végrehajtott, igen kis mintaigényű (400nl/minta) tömeg és/vagy töltés szerinti elválasztását teszi lehetővé. Egyedülálló technológiánknak köszönhetően egy robusztus, kvantitatív és reprodukálható analízist kínálunk Önöknek!

# A $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ KICSERÉLŐ FREKVENCIASZABÁLYZÁSBAN BETÖLTÖTT SZEREPÉNEK VIZSGÁLATA SPONTÁN PITVARI ÉS PURKINJE-ROST AKCIÓS POTENCIÁLOKON

Nagy Norbert<sup>1</sup>, Prorok János<sup>2</sup>, Kohajda Zsófia<sup>1</sup>, Tóth András<sup>1,2</sup>, Virág László<sup>1,2</sup>, Jost Norbert<sup>1</sup>, Jouko Levijoki<sup>3</sup>, Piero Pollesello<sup>3</sup>, Tuula Koskelainen<sup>3</sup>, Leena Otsomaa<sup>3</sup>, Papp J. Gyula<sup>1,2</sup>, Varró András<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>MTA-SZTE Keringéscsökkentőfarmakológiai Kutatócsoport, Szeged

<sup>2</sup>SZTE ÁOK Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet, Szeged

<sup>3</sup>Orion Pharma, Espoo, Finnország

**Bevezetés:** A szívizom pacemaker sejtjei speciális elektrofiziológiai tulajdonságaik révén spontán akciós potenciál generálásra képesek. Régóta ismert, hogy a pacemaker sejtekben található, hiperpolarizációra aktiválódó ún. „funny” áram központi szerepet tölt be a ritmusgenerálásban. Az utóbbi évtizedben azonban feltételezték, hogy az intracelluláris  $\text{Ca}^{2+}$  ciklus és a membránpotenciál között kapcsolatot teremtő,  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  kicserélő (NCX) szintén részt vehet a frekvenciaszabályzásban. Célkitűzésünk tehát az NCX szerepének vizsgálata volt, a szinusz csomó és a Purkinje-rost ingerképzési frekvenciájában, egy új, szelektív gátlószer, az ORM-10962 segítségével.

**Módszerek:** Az akciós potenciál méréseket nyúl jobb pitvari, Purkinje-rost, és kutya Purkinje-rost preparátumokon végeztük, konvencionális mikroelektród technikával, 37°C-on. Az ionáram méréseket a patch-clamp technika egészsejtes konfigurációjával végeztük, izolált kutya bal kamrai szívizomsejteken.

**Eredmények:** Mivel 1  $\mu\text{M}$  ORM-10962 nem befolyásolta az izolált szinusz csomó sejtekben mért „funny” áramot ( $-0,92 \pm 0,3$  vs  $-0,98 \pm 0,31$  pA/pF,  $n=5$ ), alkalmas eszköznek bizonyult a frekvenciaszabályzás vizsgálatára. 1  $\mu\text{M}$  ORM-10962 szignifikánsan növelte a kutya Purkinje spontán akciós potenciálok ciklushosszát ( $2094,7 \pm 399$  ms vs  $3358,7 \pm 607$  ms;  $n=8/8$  szív;  $p<0,05$ ). Nyúl Purkinje preparátumon a szelektív NCX gátlás szintén szignifikáns ciklushossz megnyúlást okozott ( $554,5 \pm 42,4$  ms vs  $795,8 \pm 96,6$  ms,  $n=5$ ,  $p<0,05$ ). Hasonló változást tapasztalunk nyúl pitvari spontán akciós potenciálok esetében is 1  $\mu\text{M}$  ORM-10962 alkalmazása után ( $407,6 \pm 49$  ms vs  $461,5 \pm 67$  ms  $p<0,05$ ,  $n=8/8$  szív). Ez utóbbi esetben az NCX gátlást követően 8,9 $\pm$ 3,4 %-os ciklushossz megnyúlás volt tapasztalható, azonban ha a frekvenciát előzetesen 3  $\mu\text{M}$  Ivabradinnal csökkentettük, az ORM-indukált ciklushossz megnyúlás szignifikánsan megnőtt (21,2 $\pm$ 4,7 %,  $n=5$ ,  $p<0,05$ ).

**Konklúzió:** 1  $\mu\text{M}$  ORM-10962 minden vizsgált preparátumon kis mértékben, de szignifikánsan csökkentette az ingerképzés frekvenciáját. Mivel korábbi munkánkban kimutattuk, hogy 1  $\mu\text{M}$  ORM-10962 közel 100%-os gátlás hoz létre az NCX áramon, a csekély bradikardizáló hatás azt sejteti, hogy az NCX áram részt vesz a spontán diasztolés depolarizáció kialakulásában, de feltehetőleg a szerepe korlátozott, inkább a finombeállításra irányul.

# PERSZULFIDKÉPZŐDÉS FEHÉRJÉK CISZTEIN AMINOSAV KOMPONENSEIN. A KÉNHYDROGÉN VEZÉRELTE JELÁTVITELI FOLYAMATOK EGY JAVASOLT MODELLJE

**Péter Nagy**

*Országos Onkológiai Intézet, Molekuláris Immunológia és Toxikológia Osztály*

Persulfidation of regulatory and functional protein Cys residues is an emerging concept in antioxidant defense and redox regulation of cellular signaling. Our research is focused on the elucidation of the molecular pathways of persulfide formation and reduction in a cellular context.

Recently we developed a protein persulfide detection protocol (ProPerDP), which is the first method that can detect protein persulfidation in intact cellular systems.

With regard to the formation of protein persulfides we demonstrated that inorganic polysulfides can induce persulfide formation on protein Cys residues with major impact on protein function. We showed that some activated disulfide species react favorably with sulfide to give persulfide derivatives and/or inorganic polysulfides. We provided evidence that true equilibria drive the speciation along the disulfide - persulfide - inorganic polysulfide axis. The thermodynamic and kinetic properties of these reactions are highly dependent on the chemical nature of the disulfide and persulfide moieties and these equilibria can be largely shifted either to the right or to the left.

In order for persulfidation to have a protecting or signaling function, the regeneration of functional and regulatory Cys residues from their persulfide derivatives also needs to be regulated inside the cell. We recently showed that persulfide reduction is orchestrated by the thioredoxin and glutathione systems. Thioredoxin reductase 1 (TrxR) on its own can use NADPH to reduce persulfide and polysulfide species, but the inclusion of thioredoxin 1 or the relatively newly discovered thioredoxin related protein of 14 kDa further accelerated the process. Glutathione can also be utilized by the glutaredoxin/glutathione reductase (GR)/NADPH system to facilitate sulfane sulfur reduction. Using our unique mouse model system, where hepatocytes in the liver lack either GR or TrxR and GR, we obtained evidence that the thioredoxin and glutathione reducing machineries work hand-in-hand to maintain protein persulfide homeostasis in vivo.

Acknowledgement: PN is a János Bolyai Research Scholar of the Hungarian Academy of Sciences and funded by FP7-PEOPLE-2010-RG (PIRG08-GA-2010-277006) and The Hungarian Science Foundation (K 109843).

# TERMÉSZETES IMMUNITÁS: HÍD A VELESZÜLETETT ÉS A SZERZETT IMMUNRENDSZER KÖZÖTT.

**Németh Péter**

*Pécsi Tudományegyetem, Klinikai Központ, Immunológiai és Biotechnológiai Intézet*

A hagyományos szemlélet az immunrendszert veleszületett és szerzett immunitásra osztotta. Mind elméleti, mind gyakorlati szempontokból napjainkra célszerűvé vált a természetes immunrendszer („natural immune system”) elkülönítése. A természetes autoantitestek és a természetes immunrendszer sejtjes elemei által kialakított hálózat fontos szerepet tölt be a kórokozók elleni antigén specifikus, azonnali védekezésben. Limfociták, immunglobulinok, B sejt és T sejt receptorok vesznek részt ebben az immunválaszban, ugyanakkor az antigén felismerése inkább a veleszületett immunválaszra jellemző, un. „mintázat felismerés”, alacsony affinitású és széles spektrumú. A természetes ellenanyagokat termelő B limfociták már az embrionális életben elkülönülnek, a savós hártályakon található és az általuk termelt ellenanyagok genetikailag konzervatív struktúrákat ismernek fel, mind a kórokozók, mind a saját struktúrákon. A kórokozók neutralizálása és az immunrendszer veleszületett és adaptív elemeinek aktiválása mellett a saját, konzervatív struktúrák védelme a funkciójuk. A természetes immunrendszer kialakulásának folyamata is jól nyomon követhető az egyes evolúciós stádiumokban. Intézetünkben régóta folynak szisztematikus kutatások a természetes és a patológiás autoantitestek epitóp-specifikitásának térképezésével.

# ÉLETTANI KOMPENZÁCIÓ KÓRÉLETTANI MECHANIZMUSSAL: CSÖKKENT INTRAPULMONÁLIS SÖNTFRAKCIÓ I-ES TÍPUSÚ DIABETES MELLITUSBAN

**Névery Kitti**, Balogh Ádám László, Tari Zsófia, Fodor H. Gergely, Peták Ferenc, Babik Barna  
SZTE ÁOK Aneszteziológiai és Intenzív Terápiás Intézet, Szeged  
SZTE ÁOK Orvosi Fizikai és Orvosi Informatikai Intézet, Szeged

**Bevezetés:** A pulmonális sönt a teljes keringési perctérfogat azon része, amely nem vesz részt a gázcsereben. A hipoxiás pulmonális vazokonstrikció a tüdő artériás rendszerére jellemző lokális szabályzómechanizmus, melynek célja a keringés rosszul ventilált régiókból való átirányítása, azaz a sönt csökkentése. Az 1-es típusú cukorbetegségben (T1DM) tartósan fennálló anyagcserezavar a nagyvérkör mellett a pulmonális kapilláris-rendszert is érintheti. A vaszkuláris remodelling fokozott vazokonstrikciós hajlamot eredményez. Célunk annak vizsgálata volt, hogy a T1DM befolyásolja-e az pulmonális artériás rendszer funkcióját tükröző pulmonális söntfrakciót.

**Módszerek:** Húsz elektív szívűműtetre kerülő, altatott, lélegeztetett, T1DM beteg mellé életkor, testsúly és testmagasság alapján becsült részvételi valószínűség (propensity score) szerinti párosítással azonos elemszámú normális cukorháztartású (CTRL) és 2-es típusú diabéteszben szenvedő (T2DM) betegcsoportokat képeztünk. Artériás és centrális vénás vérgázmintát vettünk, melyekből kiszámítottuk a pulmonális kapilláris vér oxigéntartalmát, valamint a Berggren-képlet alapján meghatároztuk az pulmonális söntfrakciót. Az oxigenizáció megítéléséhez regisztráltuk az artériás oxigéntenzió és a belégzett gáz oxigénkoncentrációjának arányát (Horowitz-hányados, HQ).

Összehasonlítottuk a három csoport átlagos söntfrakcióját és HQ-értékét.

**Eredmények:** A betegcsoportok életkora, testtömege és testmagassága között nem volt szignifikáns különbség. A T1DM csoport söntfrakciója ( $9,8 \pm 4,0$  [SD]%) szignifikánsan alacsonyabb volt mind a T2DM ( $13,6 \pm 5,1$ %), mind a CTRL csoporténál ( $13,4 \pm 6,3$ %,  $p < 0,05$ ). Utóbbi két csoport között nem volt szignifikáns különbség. A HQ értékei nem különböztek.

**Következtetés:** Eredményeink arra utalnak, hogy 1-es típusú cukorbetegekben a söntkeringés mértékét csökkentő hipoxiás pulmonális vazokonstrikció nagyobb mértékű, mint normoglikémiás vagy 2-es típusú cukorbeteg egyéneknél, melynek hátterében a diabétesz nagyvérköri manifesztációjára emlékeztető vaszkuláris remodelling állhat. Bár az említett kompenzatorikus mechanizmus fokozódása a tartós hiperglikémiában leírt csökkent diffúziós kapacitást figyelembe véve a gázcsere szempontjából előnyös, a pulmonális vazokonstrikció a jobb kamrai utóterhelés emelkedéséhez is vezet. A komplex, élettani és kórélettani elemeket tartalmazó kompenzáció eredményeként az artériás oxigenizáció T1DM betegeinkben nem romlott.

# BACKGROUND ACTIVITY AND VISUAL RESPONSIVENESS OF CAUDATE NUCLEUS NEURONS IN HALOTHANE ANESTHETISED AND IN AWAKE, BEHAVING CATS

**Diána Nyujtó**, Balázs Barkóczy, Balázs Bodosi, Tamás Nagypál, Xénia Katona, Rozalinda Pose, György Benedek, Attila Nagy

*Department of Physiology, Faculty of Medicine, University of Szeged, Szeged, Hungary*

This study focuses on an important question, whether the brain activities recorded from anesthetised, paralyzed animals are comparable to those recorded from awake, behaving animal models. To test it we have compared the activity of the caudate nucleus (CN) neurons in two halothane anesthetised, paralyzed and in two behaving cats.

Multiscale, multielectrode recordings were performed from the CN during static (random dot pattern) and dynamic (visual noise or optic flow) visual stimulation. During the recording sessions for the anesthetised, paralyzed cats the anesthesia was maintained by a gaseous mixture of air and halothane (1.0%). In behaving experiments the animals were trained for a visual fixation paradigm.

Based on their electrophysiological properties the recorded CN neurons were separated into three different classes, i.e. phasically active (PANs), high firing (HFNs) and tonically active (TANs) neurons.

Although halothane anaesthesia could significantly decrease the background activity of any types of CN neurons, the most noteworthy suppression was found in PANs. Here the background activities were very low, consistently under 1 spike/second. Furthermore the gross and the net firing rates during both static and dynamic visual stimulations revealed higher activity and stronger visual responses in awake, behaving cats.

Our results demonstrated that halothane gas anesthesia could significantly suppress not only the background activity but also the visual responsiveness in the feline CN. Moreover our results revealed that the analysis of PANs (most probably these are the medium spiny projection CN neurons) is almost impossible in the anesthetized models because of their extremely low activity. Based on the above presented results we argue - despite of the difficulties of the training of the animals - for the benefits of working with behaving animals in visual electrophysiological experiments.

This research was supported by the Hungarian Brain Research Program Grant KTIA\_13\_NAP-A-I/15 and OTKA grant 83810.

# TERÜLETI HETEROGENITÁSOK A VÉR-AGY GÁT MOLEKULÁRIS FELÉPÍTÉSÉBEN

**Nyúl-Tóth Ádám**<sup>1</sup>, Suci Maria<sup>2</sup>, Molnár Judit<sup>1</sup>, Fazakas Csilla<sup>1</sup>, Haskó János<sup>1</sup>, Herman Hildegard<sup>2</sup>, Farkas E. Attila<sup>1</sup>, Kaszaki József<sup>3</sup>, Kozma Mihály<sup>1</sup>, Molnár Kinga<sup>1</sup>, Hermenean Anca<sup>2</sup>, Wilhelm Imola<sup>1</sup>, Krizbai István A.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>*MTA Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Biofizika Intézet, Szeged*

<sup>2</sup>*Institute of Life Sciences, Vasile Goldis Western University of Arad, Arad, Romania*

<sup>3</sup>*Szegedi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Sebészeti Műtéttani Intézet, Szeged*

A vér-agy gát az egyik fő határfelület, amely szabályozza a periféria és a központi idegrendszer közötti anyagáramlást. Anatómiai alapját az agyi endotélsejtek képezik, amelyek folyamatos szoros kapcsolatokat hoznak létre egymással. Az endotélsejtek közeli kölcsönhatásban állnak az agyi pericitákkal valamint az asztrocita végtagokkal. A központi idegrendszer egyes részei különböző funkciót látnak el, ezek eltérő kórképeket mutathatnak, melyekben a vér-agy gát is aktívan részt vesz. Ugyanakkor a vér-agy gát egyes agyterületek közötti, sejtszintű és molekuláris különbségei kevésbé ismertek.

Jelen munkánk során *in silico*, *in vitro* és *ex vivo* módszerekkel hasonlítottuk össze a vér-agy gát asszociált gének és fehérjék expresszióját a szürkeállományban és a fehérállományban. *In silico* adatbázis (Allen Brain Atlas) elemzés, qPCR, western blot és immunofluorescens vizsgálataink szerint is erősebben expresszálódik a GFAP a fehérállománybeli asztrocitákban, mint a kortextben. Továbbá humán expressziós adatbázis alapján a junkcionális fehérjék (claudin-5, occludin, alfa- és béta-catenin) magasabb expressziós értékeket mutatnak a fehérállományban mint a kortikális szürkeállományban. Ezt megerősíti, hogy mind mRNS, mind fehérje szintű vizsgálatainkban magasabb junkcionális fehérje expressziót mutattak a fehérállományból izolált endotélsejtek a szürkeállományból izoláltaknál. Ezzel párhuzamosan a fehérállományból izolált endotélsejtek transzendo-teliális elektromos rezisztencia mérés alapján erősebb gát tulajdonságokat mutattak a kortextből izoláltaknál.

Ezek az eltérések fontos szerepet játszhatnak olyan központi idegrendszeri betegségekben mint az Alzheimer-kór vagy a multiplex szklerózis, amelyek különböző agyterületeken alakulnak ki.



# A REAKCIÓIDŐT BEFOLYÁSOLÓ TÉNYEZŐK VIZSGÁLATA CANTAB RENDSZEREN KÉSLELTETETT MINTA-FELISMERÉSI FELADATBAN EMBERBEN ÉS FŐEMLŐSBEN

**Oláh Vilmos,** Trunk Attila, Kiefer Evelin, Hernádi István

A kognitív hanyatlás az egyik legjelentősebb humán-egészségügyi probléma világszerte. A kognitív funkciók csökkenésével járó megbetegedések (pl.: Alzheimer-kór) kezelése azonban jelenleg még nem megoldott. A farmakológiai kezeléshez ma még nincs elérhető és megfelelő hatékonysággal rendelkező gyógyszer, így a demencia tüneteit enyhítő szerek kutatása a gyógyszerfejlesztés meghatározó területévé vált. A betegség korai szűrésében alkalmazott késleltetett minta felismerési feladat (DMTS) egyedülálló módon méri a kognitív funkciókat verbális elemek nélkül. A feladat lényege, hogy adott próbán belül előzetesen prezentált stimulust adott idő elteltével egy több stimulusból (egy azonos + egy vagy több eltérő) álló szettből kell kiválasztani. Számos klinikai vizsgálat bizonyítja, hogy a demens betegek korai stádiumban is hatékonyan szűrhetők a DMTS teszttel. Emellett, a nem humán főemlősökön (NHP) alkalmazott DMTS paradigma és farmakológiai kezelések eredményei szinte teljesen megegyeznek az emberben kapottakkal. Vizsgálatainkban CANTAB (Cambridge Neuropsychological Test Automated Battery) műszert és a rendszerre fejlesztett DMTS tesztet alkalmaztuk, mind a humán mind pedig a NHP vizsgálatok esetében. Kísérleteink során a DMTS paradigmában konfigurálható eltérő nehézségi fokozatok reakcióidőre gyakorolt hatását vizsgáltuk egészséges humán és egészséges kezeletlen rhesus makákók esetében. Hipotézisünk szerint a bemutatási és a felismerési fázis között eltelt idő (az információ tárolásának ideje) növekedésével romló reakcióidőt érhetünk el, továbbá a felismerési fázisban a szett méretének növelése esetében szintén romló reakcióidővel számolhatunk. Eredményeink alapján a várakozási idő és a zavaró (eltérő) ingerek számának növelésével egyaránt növekvő reakcióidőt tudunk előidézni, mind egészséges humán, mind pedig egészséges kezeletlen rhesus makákók esetében. Az eredmények alapján a nehézségi fokozat kísérleti ülésen belül random módon történő váltogatása esetén, a nehezítés természetesen rontó hatása érvényesült a reakcióidő tekintetében. Ezek alapján a tesztek alkalmasak lehetnek a kognitív teljesítményt javító hatóanyagok farmakológiai rontó ágens nélkül történő tesztelésére.

# TNF- $\alpha$ ÉS AZ IL-1 $\beta$ EXPRESSZIÓ VÁLTOZÁSA AZ ÁLLOMÁNYI VÉRZÉST KÖVETŐ AKUT ÉS SZUBAKUT IDŐSZAKBAN SERTÉS MODELLBEN

**Oláh Orsolya**<sup>1,2</sup>, Domoki Ferenc<sup>1</sup>, Papalois Apostolos<sup>3</sup>, Voumvourakis Konstantinos<sup>4</sup>, Tizslavicz László<sup>2</sup>, Liapi Charis<sup>5</sup>, Bimpis Alexios<sup>5</sup>

<sup>1</sup>SZTE ÁOK Élettani Intézet, Szeged

<sup>2</sup>SZTE ÁOK Pathológiai Intézet, Szeged

<sup>3</sup>ELPEN Kísérletes- és Kutatóintézet, Athén, Görögország

<sup>4</sup>Athéni Nemzeti Kapodisztrián Egyetem, 2-es Neurológiai Intézet, Athén, Görögország

<sup>5</sup>Athéni Nemzeti Kapodisztrián Egyetem, Gyógyszerészeti Intézet, Athén, Görögország

Az állományi vérzés gyakori, magas morbiditással és mortalitással járó kórkép, mely az agyi érkatasztrófán át- esett betegek 10-15%-át érinti. A vérzés károsító hatása bifázisos; így a kezdeti szakaszban a vér gyors felhal- mozódása lokális nyomásfokozódáshoz, a központi idegrendszer struktúrájának felbomlásához vezet. Az állományi vérzés második, késői szakaszában a kialakuló helyi hypermetabolizmus, oxidatív stressz, neuroinf- lammáció, excitotoxicitás, és véragy gátsérülés lehet felelős a további idegsejtkárosodásért.

Az állományi vérzés károsító hatásának patomechanizmusa nem teljesen ismert. Azonban az olyan gyulladós citokinek, mint a neuronok, aktivált mikroglia és asztrociták által termelt TNF- $\alpha$  és az IL-1 $\beta$  számos útvonalon keresztül (akut fázis fehérvérjék, gyulladós ödéma, matrix metalloproteinázok hatására létrejövő neuropil-dest- rukció) befolyásolhatják a betegség végső kimenetelét

Szerepük jobb megértése érdekében kísérleteinkben meghatároztuk az említett gyulladós mediátorok korai (4 és 24h) expressziójának mértékét egyoldali állományi vérzést követően a vérzésnek megfelelő oldalon, illetve az ellenkező ép oldalon, felnőtt sertés modellben.

A kísérleteket hím, lapály-fajta sertéseken végeztük (n=20, 135-150 napos, 30-35 kg). Az altatott, lélegeztetett sertések jobb parietalis lebenyén át, a dura matertől mintegy 20 mm mélységbe Swan-Ganz katétert helyez- tünk, melyen keresztül 3 ml autológ vért juttattunk a basalis ganglionok területére, ezzel a technikával mo- dellezve az állományi vérzést. A beavatkozást követően a katétert eltávolítottuk, majd szövettani mintavétel történt a kísérleti csoportoknak megfelelően 4 illetve 24 óra elteltével. A szövettani vizsgálat során szöveti mikrochip technikával paraffinba ágyazott blokkokat készítettünk, és TNF- $\alpha$  valamint IL-1 $\beta$  immunohisztoké- miát végeztünk.

Az állományi vérzés az érintett oldali basalis ganglionokban jelentős károsodást hozott létre. A vérzés környe- zetében szignifikáns emelkedés látható mind a TNF- $\alpha$  mind az IL-1 $\beta$  szintjében 4 órát követően, amely 24 órával az inzultus után az ellenoldali expresszió szintjére mérséklődött.

Megfigyeléseink szerint mindkét gyulladós mediátor szintje szignifikánsan emelkedik a vérzést követő né- hány órában, ami a szövet fokozott sérülékenységére utal az akut időszakban. Ebből arra következtetünk, hogy a potenciálisan neuroprotektív terápiák alkalmazására ebben a korai fázisban van lehetőség. A TNF- $\alpha$  és az IL- 1 $\beta$  pontos szerepe és hatása az állományi vérzés patomechanizmusában további vizsgálatokat igényel, melyek eredménye potenciális terápiás stratégiák kidolgozása lehet.

Támogatás: OTKA K100851.

# A VENTRALIS PALLIDUM NEUROTENZINRECEPTORAINAK SZEREPE A SZORONGÁS SZABÁLYOZÁSÁBAN

**Ollmann Tamás<sup>1</sup>**, Péczely László<sup>1</sup>, László Kristóf<sup>1</sup>, Kállai Veronika<sup>1</sup>, Kovács Anita<sup>1</sup>, Gálosi Rita<sup>1</sup>, Kertes Erika<sup>1</sup>, Zagoracz Olga<sup>1</sup>, Karádi Zoltán<sup>1,2</sup>, Lénárd László<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Élettani Intézet

<sup>2</sup>Pécsi Tudományegyetem, Szentágotthai János Kutatóközpont, Molekuláris Neuroendokrinológiai Kutatócsoport

**Bevezetés:** A ventralis pallidum (VP) a bazális előagy területén található struktúra, ahol a neurotensin (NT) neurotranszmitter, illetve neuromodulátor funkciót tölt be. A NT receptorai közül a VP-ban főleg NTS1-receptorokat azonosítottak. A VP NT-erg beidegzését a nucleus accumbensből kiinduló, ún. ventralis striatopallidalis pályán kapja, továbbá reciprok kapcsolatban áll a ventralis tegmentalis areával is, ahonnan dopaminerg affrens rostokat kap. A NT hatásait más agyterületeken gyakran dopaminreceptorokkal interakcióban fejti ki.

**Célkitűzés:** Jelen vizsgálataink célja a VP NTS1-receptorainak szorongásban betöltött szerepének vizsgálata volt, valamint annak a kiderítése, hogy a VP D2 dopaminreceptorainak gátlása hogyan módosítja a NT hatását.

**Anyag és módszer:** Hím Wistar-patkányok VP-ába sztereotaxikus technikával vezető kanülöket implantáltunk, majd 1 héttel később emelt keresztpalló tesztet végeztünk. Az első kísérletben 100 ng vagy 250 ng NT-t injektáltunk bilaterálisan a VP-ba 0,4 11l térfogatban. A második kísérletben 35 ng NTS1-receptor-antagonista SR 48692-t alkalmaztunk önmagában vagy 15 perccel a 100 ng NT-nel történő kezelés előtt. Az interakció vizsgálatához 4 11g D2 dopaminreceptor-antagonista sulpiridet, vagy sulpiriddel történő előkezelést követően 100 ng NT-t kaptak az állatok. A kontrollcsoport állatai mindhárom kísérletben csak vivőanyagot kaptak.

**Eredmények:** A NT 100 ng-os dózisa anxiolitikus hatásúnak bizonyult, míg a 250 ng NT nem befolyásolta a szorongást. A NTS1-receptor-antagonista, valamint a sulpirid előkezelés egyaránt kivédte a NT szorongásoldó hatását, habár önmagukban nem befolyásolták a szorongást.

**Következtetés:** Eredményeink alapján a NT a VP-ban anxiolitikus hatású. Ez a hatás specifikusan NTS1-receptorokon keresztül valósul meg, mivel specifikus antagonistával kivédhető. A NT anxiolitikus hatásában a D2 dopaminreceptorok is szerepet játszanak.

A kísérleteket a PTE ÁOK KA 2013/34039/1, valamint a PTE ÁOK KA-2015-15 támogatta.

# KISSPEPTIN HATÁSA A KRÓNIKUS ALKOHOL KEZELT PATKÁNYOK VÉRLEMEZKE FUNKCIÓJÁRA

Ónodi Ádám<sup>1</sup>, Szikszai Bence<sup>1</sup>, Váczi Sándor<sup>1</sup>, Csabafi Krisztina<sup>1</sup>, Szabó Gyula<sup>1</sup>, Földesi Imre<sup>2</sup>, Ónody Rita<sup>2</sup>, Mezei Zsófia<sup>1</sup>

<sup>1</sup>SZTE ÁOK Kóréletani Intézet, Szeged

<sup>2</sup>SZTE ÁOK Laboratóriumi Medicina Intézet, Szeged

**Bevezetés:** Az aktivált vérlemezkeknek szerepe van a krónikus immungyulladásnak tekinthető érlemezésében, melynek kockázati tényezője a krónikus alkoholfogyasztás. A neuroendokrin, kardiovaszkuláris és hemostatikus hatással rendelkező kisszeptin, a KiSS-1 gén terméke, mely krónikus alkoholexpozíció hatására expresszálódik. Kísérletünkben megvizsgáltuk, hogy a krónikus intermittáló, ill. folyamatos alkoholfogyasztás befolyásolja-e a vérlemezke aggregációt, módosítja-e a kisszeptin-13 (KP-13) és/vagy antagonistájának (RF-9) aggregációra kifejtett hatását, valamint a vérlemezke ciklooxygenáz (COX) mennyiségét.

**Módszerek:** Wistar -Kyoto hím patkányokból (n=18) három csoportot hoztunk létre: vizet; vizet vagy 20%-os alkoholt; valamint csak 20%-os alkoholt 36 héten keresztül szabadon fogyasztók. Meghatároztuk vérlemezkek aggregációs készségét ADP, arachidonsav (AA), vagy kollagén induktor hatására, Multiplate aggregométerrel, 10-7 mol/L KP-13 és/vagy RF-9 jelenlétében vagy anélkül. Tanulmányoztuk az aggregáció sebességét (AU/min) és maximumát (AU), valamint az aggregációs görbe alatti terület nagyságát (U) is. COX1 és COX2 mennyiségét SunRed ELISA kettő segítségével. Statisztikai értékelést ANOVA-t követően Tukey post hoc teszttel végeztünk.

**Eredmények:** A folyamatos alkohol fogyasztás mindhárom induktor esetén fokozta az aggregáció mértékét (ADP-17%-kal; AA-43%-kal; kollagén-22%-kal). Vízet fogyasztó patkányoknál az ADP indukálta aggregációt mind a KP-13 (18 %-kal), mind az RF-9 (33 %-kal) fokozta a kontrollhoz képest, kombinált kezelés alkalmával a hatás még kifejezettebb lett (44%-kal emelkedett). E hatások alkoholt folyamatosan fogyasztó patkányok esetén szintén kimutathatók voltak, csak kisebb mértékben. A peptidok egyik állatcsoportban sem befolyásolták a kollagén indukálta aggregációt. 10-7 mol/L KP-13 a COX1 mennyiségét növelte, mind a vizet (32%-kal), mind a folyamatosan alkoholt (41%-kal) fogyasztó állatok esetén.

**Megbeszélés:** Induktorok közötti különbséget magyarázhatja az életkor miatti vérlemezke membránkárosodás. A peptidhatásban szerepe lehet a ciklooxygenáznak. Eredményeink alapján mind az általunk vizsgált peptidok, mind a krónikus alkoholfogyasztás vérlemezke aktivációt, és ezáltal érkárosodást idézhetnek elő.

**Támogatók:** Nemzeti Agykutató Program-KTIA\_13\_NAP-A-III/8, Roche Kft.

# A HYPOPHYSIS ADENILÁT CIKLÁZ AKTIVÁLÓ POLIPEPTID (PACAP) HATÁSA A SEJTTÚLÉLÉSRE HUMÁN BÉLSEJTEKEN

**Opper Balázs<sup>1</sup>**, Czétány Péter<sup>1</sup>, Reglődi Dóra<sup>1</sup>, Illés Anita<sup>1,2</sup>, Boronkai Árpád<sup>3</sup>, Fábián Eszter<sup>1</sup>, Tóth Gábor<sup>4</sup>, Horváth Gabriella<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Anatómiai Intézet,

<sup>2</sup>I. sz. Belgyógyászati Klinika,

<sup>3</sup>Onkoterápiás Intézet, Általános Orvostudományi Kar, Pécsi Tudományegyetem,

<sup>4</sup>Orvosi Vegytani Intézet, Szegedi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar

A hypophysis adenilát cikláz aktiváló polipeptid (PACAP) elsőként birka hypothalamusból izolált neuropeptid. Nagy mennyiségben megtalálható a központi és perifériás idegrendszerben, de jelenléte különböző nem-neuronális szövetekben is kimutatható. Sejtvédő hatása számos kísérleti modellben igazolódott, azonban kevés információ áll rendelkezésünkre a PACAP bélsejteken kifejtett hatásaira vonatkozóan.

Kísérleteink során tanulmányoztuk a neuropeptid hatását a sejttúlélésre és a sejtek hosszú távú túlélését jellemző kolóniaképző képességére. Kezdetben hidrogén-peroxid által kiváltott oxidatív stressznek és kobalt(II)-klorid indukált in vitro hypoxiának, illetve irradiationak kitétt INT-407 típusú bélsejteken vizsgáltuk a PACAP1-38 sejttúlélésre kifejtett hatását kolorimetrikus MTT teszt alkalmazásával. Emellett klonogén assay segítségével elemeztük a PACAP hatását az irradiationak kitétt bélsejtek kolóniaképző képességére. A hatás hátterében álló mechanizmusok feltérképezésére Western blot vizsgálatot végeztünk.

Vizsgálataink alapján az exogén alkalmazott PACAP-kezelés szignifikáns mértékben csökkentette az oxidatív stressz sejttúlélést csökkentő hatását, viszont nem befolyásolta az in vitro hypoxia által okozott változásokat. Az irradiationak kitétt sejtek vizsgálatakor sem találtunk különbséget a kontroll és a PACAP-kezelt sejtek túlélésében, viszont a sejtek klonogenitásának vizsgálatakor egy kolóniaképző képességet csökkentő hatást figyeltünk meg különböző sugárdózisok (0,5 Gy, 1 Gy, 2 Gy, 3 Gy, 4 Gy) esetén. Ezt támasztja alá Western blot vizsgálataink eredménye is: a PACAP-kezelt csoportban csökkent a foszforilált ERK expressziója a csak irradiationak kitétt sejtek mintáihoz képest.

Eredményeinket összegezve, a PACAP bélsejteken eltérő hatással rendelkezik különböző noxák esetében. További terveink között szerepel a fenti hatások molekuláris hátterének mélyebb vizsgálata, illetve egyéb, eltérő hatásmechanizmusú károsítás alkalmazása mellett vizsgálni a neuropeptid hatását.

Támogatás: OTKA K104984, Bolyai ösztöndíj, PTE AOK KA-2016-03

# A MIRP2 MENEKÍTŐ HATÁSA HOSSZÚ QT SZINDRÓMA 5-ÖS TÍPUSÁBAN

**Ördög Balázs**, Hartai Teodóra, Déri Szilvia, Virág László, Varró András

*Szegedi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet*

A hosszú QT szindróma klinikai képe az EKG QT intervallumának megnyúlásával, a QT intervallum időbeli variabilitásának és térbeli diszperziójának növekedésével, valamint az életet veszélyeztető kamrai ritmuszavarok és a hirtelen szívhalál megnövekedett incidenciájával jellemezhető. A hosszú QT szindróma 5-ös típusát (LQT5) a minK fehérjét kódoló KCNE1 génben bekövetkező funkcióvesztéses mutációk okozzák. A minK a késői egyenirányító kálium áram lassú kompenzációjáért (IKs) felelős ioncsatornák fontos szabályozó alegysége.

Heterológ expressziós rendszerben kifejezve az LQT5 egyik domináns negatív hatású kóroki mutációját hordozó minK allél (G52R-minK) gátolja az IKspórusformáló alegységéből (KvLQT1) és a vad típusú minK (WT-minK) fehérjéből álló ioncsatornákat és jelentős áramdenzitás csökkenést okoz. Meglepő módon azonban az LQT5 transzgenikus nyúl modelljében, amely a G52R-minK variáns szívspecifikus túltermelésén alapul, nem tapasztaltunk IKsdenzitásbeli eltérést az LQT5 és kontroll állatokból izolált szívizomsejtekben. Felmerül a kérdés, vajon milyen tényezők befolyásolják az LQT5 fenotípus kifejeződését in vivo?

Ismert, hogy a minK-kel rokon MiRP fehérjék is kifejeződnek szívizomsejtekben és képesek modulálni az IKs csatornák működését. Jelen tanulmányunkban a MiRP2 fehérje hatását vizsgáltuk a G52R-minK allél jelenlétében kialakuló LQT5 fenotípus manifesztációjára.

Heterológ expressziós rendszerben fejeztük ki a KvLQT1 pórusformáló, valamint a WT-minK, G52R-minK és a MiRP2 szabályozó alegységek különböző kombinációit. A kifejeződő áramot patch clamp technikával karakterizáltuk.

A +20 mV-os depolarizáló pulzust követően -40 mV-on mért farokáram denzitások a KvLQT1-et és WT-minK-et kifejező sejtekben volt a legmagasabb (44 pA/pF, n = 21), a domináns negatív hatású G52R-minK variáns jelenlétében a farokáram denzitások jelentős mértékben csökkentek (9 pA/pF, n = 21). A MiRP2 kifejezése a KvLQT1/WT-minK kombinációval szintén csökkentette az áramdenzitásokat (22 pA/pF, n = 20). Meglepő módon azonban, a MiRP2 együttes kifejezése a heterozigóta LQT5 genotípusnak megfelelő KvLQT1/WT-minK/G52R-minK kombinációval teljes mértékben kiküszöbölte a mutáns G52R-minK alegység gátló hatását és a csak vad típusú, KvLQT1/WT-minK/MiRP2 fehérjékből álló csatornához hasonló áramdenzitásokat eredményezett (29 pA/pF, n = 28).

A MiRP2 tehát az IKsmodelljéül szolgáló, KvLQT1/WT-minK alegységekből álló csatornákra nézve gátló hatású. Ugyanakkor a MiRP2 teljes mértékben menekíti a G52R-minK variáns jelenlétében az LQT5 fenotípust in vitro körülmények között. Mindez felveti annak a lehetőségét, hogy a MiRP2 részt vesz az IKs csatornák szabályozásában és módosítja a tünetek manifesztációját LQT5 betegekben.

# ÁLLANDÓSÁG ÉS VÁLTOZÁS AZ ÚJ GENERÁCIÓK TUDOMÁNY-KOMMUNIKÁCIÓJÁBAN

**Pais Ella Regina**

*PTE MK*

Az oktatás és kutatás területén jelentkező problémák közül az utóbbi években kiemelt jelentőséget nyert a tudomány-kommunikáció és a teljesítménymotiváció témaköre a Z generáció körében.

Az elmúlt időszakban a generációs problémák hátterének, okainak, kezelésének feltárása mellett nyomon követtük a teljesítménymotiváció változását. A kibontakozó személyiségvonásbeli tendenciák nem megnyugtatók. A belső kontroll attitűd erősödött ugyan, de a fatalizmus mértékének növekedése arra utal, hogy a hagyományos oktatási módszerek nem jelenthetnek hatékony hajtóerőt a felsőoktatásban. A hallgatók probléma szituációkban sem önmagukban, sem a környezetükben élőkben nem bíznak, instrukcióikat nem fogadják el motiválhatóságuk gyakran problémás, így a tudomány –kommunikációs teljesítményük is változik. Ahhoz, hogy ez utóbbi területen eredményesebbek lehessünk, új utakat kell járni az oktató - hallgató párosnak.

# A SZÉRUM IRISIN-SZINT PREDIKTORAINAK VIZSGÁLATA LÉGÚTI GYULLADÁSOS BETEGEK KÖRÉBEN

**Pák Krisztián<sup>1</sup>**, Tajti Gábor<sup>2,3</sup>, Szentpéteri Anita<sup>4</sup>, Papp Csaba<sup>3</sup>, Mikáczó Angéla<sup>2</sup>, Szilasi Mária<sup>2</sup>, Seres Ildikó<sup>4</sup>, Gesztelyi Rudolf<sup>1</sup>, Zsuga Judit<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Debreceni Egyetem, GYTK, Gyógyszerhatástani Tanszék

<sup>2</sup>Debreceni Egyetem, KK, Tüdőgyógyászati Klinika

<sup>3</sup>Debreceni Egyetem, NK, Egészségügyi Menedzsment és Minőségirányítási Tanszék

<sup>4</sup>Debreceni Egyetem, KK, Belgyógyászati Klinika

Az irisin az FNDC5 (fibronektin III domént tartalmazó transzmembrán fehérje 5) proteolízisével keletkező miokin, melynek koncentrációja fizikai aktivitás hatására nő a vérben. Felvetették, hogy az izomszövet-irisin-zsír-szövet tengely elégtelen működése hozzájárulhat az elhízás és az ezzel összefüggő metabolikus betegségek (inzulin rezisztencia, 2. típusú diabetes mellitus) kialakulásához. Ismert továbbá, hogy az edzés növeli az irisin-szintet krónikus légúti obstrukcióban szenvedő betegekben. Mivel a dyspnoe korlátozza a fizikai teljesítményt, megvizsgáltuk, mely tényezők határozzák meg a szérum irisin-szintet.

Vizsgálatunkba a DE KK Tüdőgyógyászati Klinikán 2012. augusztus 15. és 2013. október 15. között megjelent allergiás rhinitis-es (43 nő, 13 férfi), asthma bronchiale-s (91 nő, 76 férfi), krónikus obstruktív tüdőbeteg (27 nő, 47 férfi) és asthma-COPD overlap szindrómás (10 nő, 11 férfi) betegeket vontuk be. A laboratóriumi paraméterek rutin eljárásokkal kerültek meghatározásra, a légzésfunkciót teljes test plethysmographiával, az életminőséget pedig a Szent György Kórház Légzési Panaszokkal Kapcsolatos Kérdőívével (SGRQ) kvantifikáltuk. A betegek szérum irisin-szintjét ELISA kittel (Phoenix Europe GmbH) mértük. Az adatelemzést egyszerű, majd többszörös lineáris regresszióval végeztük.

A szérum irisin-szint szignifikáns prediktorai az életkor ( $\beta=-0.016$ ,  $p=0.017$ ), a CK ( $\beta=0.0034$ ,  $p=0.012$ ), a triglicerid ( $\beta=-0.22$ ,  $p=0.004$ ), a HDL-C ( $\beta=0.56$ ,  $p=0.018$ ), a derékkörfogat ( $\beta=-0.015$ ,  $p=0.042$ ), a testtömeg index ( $\beta=-0.04$ ,  $p=0.036$ ), a FEV1/FVC ( $\beta=0.072$ ,  $p=0.044$ ), a FEF 25-75 ( $\beta=0.20$ ,  $p=0.032$ ), az SGRQ impakt doménje ( $\beta=-0.012$ ,  $p=0.015$ ) és az SGRQ összpontszám ( $\beta=-0.012$ ,  $p=0.024$ ) (az aktivitás domén a szignifikancia határon mozgott:  $\beta=-0.0082$ ,  $p=0.055$ ). Miokardiális infarktus az anamnézisben szintén kapcsolatba hozható a szérum irisin-szinttel ( $\beta=-0.99$ ,  $p=0.035$ ).

A végső regressziós modell az életkort, a nemet, a FEV1/FVC értéket, az SGRQ összpontszámot, a derékkörfogatot, a BMI-t és a HDL-C szintet tartalmazta, de közülük csak a HDL-C szint volt szignifikáns ( $\beta=0.56$ ,  $p=0.023$ ).

Eredményeink alapján felmerül, hogy a mozgás HDL-C szintet emelő hatásában az irisin is közreműködik. Az irisin-szinttel negatív (bár nem szignifikáns) korrelációt mutató SGRQ pontszám alapján azt is felvetjük, hogy az irisin a fizikai korlátozottság biomarkere lehet a légúti betegek körében, melynek ellenőrzésére nagy betegszámú vizsgálatok lehetnek alkalmasak.

Témátámogatás: Debreceni Egyetem; TÁMOP 4.2.4.A/2-11-1-2012-0001; TÁMOP-4.2.2.A-11/1/KONV-2012-0045; TÁMOP 4.2.2.A-11/1/KONV-2012-0023; KTIA\_13\_NAP-A-V/2; MPA Tudományos Pályázat (2015.)



# DIREKT PRESZINAPTIKUS ÉS INDIREKT, ASZTROCITA-FÜGGŐ MECHANIZMUSOK EGYARÁNT HOZZÁJÁRULNAK AZ ENDOKANNABINOID SZIGNALIZÁCIÓHOZ AZ EGÉR NUCLEUS PEDUNCULOPONTINUSBAN

Kovács A.<sup>1</sup>, Bordás Cs.<sup>1</sup>, Bíró T.<sup>1,2</sup>, Hegyi Z.<sup>3</sup>, Antal M.<sup>3,4</sup>, Szücs P.<sup>1,5</sup>, **Pál B.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Élettani Intézet, Debreceni Egyetem ÁOK, Debrecen

<sup>2</sup>Immunológiai Intézet, Debreceni Egyetem ÁOK, Debrecen

<sup>3</sup>Anatómiai, Szövet- és Fejlődéstani Intézet, Debreceni Egyetem ÁOK, Debrecen

<sup>4</sup>MTA-DE Idegtudományi Kutatócsoport, Debrecen

<sup>5</sup>MTA-DE-NAP B- Fájdalom Kontroll Kutatócsoport, Debrecen

A nucleus pedunculopontinus (PPN) a retikuláris aktivációs rendszer kolinerg magja, ami ismert szerepet tölt be az alvás-ébrenlét szabályozásában. Mind az exogén, mind az endokannabinoidok, akár szisztematikusan alkalmazva, akár a PPN-be adott injekció formájában képesek az alvás befolyásolására. Korábban kimutattuk, hogy az asztrociták 1-es típusú kannabinoid (CB1) receptorának aktivációja képes megváltoztatni a PPN neuronok membránpotenciálját a gyors szinaptikus neurotranszmisszió blokkolása mellett is. A jelen munkában a mag szinaptikus kapcsolatainak a direkt preszinaptikus és az indirekt, asztrocita-függő mechanizmusokon keresztül érvényesülő kannabinoid hatásokat mutatjuk be.

Kalcium imaginggel, optogenetikai vagy immunhisztokémiai módszerekkel kombinált szelet-elektrofiziológiai mérések segítségével kimutattuk, hogy a gátló szinapszisokon direkt preszinaptikus gátló hatás, a serkentő szinapszisokon enyhe serkentő hatás érvényesül a CB1 receptoron keresztül. Mindezeket túl egyes neuronokon tónusos befelé irányuló, másokon tónusos kifelé irányuló, asztrocita- és mGluR-függő áramok jelentek meg. A serkentő szinapszisokon megfigyelt, CB1 receptor aktiváció következményeként megjelenő enyhe serkentő hatás a preszinaptikus gátló és az asztrocita-függő tónusos serkentő hatások kombinációjának bizonyult, míg a gátló neurotranszmisszió esetében csak a preszinaptikus gátló hatás volt megfigyelhető.

Összefoglalásként elmondhatjuk, hogy az endokannabinoidok a PPN-ben kétféle útvonalon hatnak. A direkt preszinaptikus gátlás mellett egy indirekt, asztrocita-függő útvonal is létezik, amelyek egymástól függetlenül képesek a szinaptikus erősséget és a neuronális excitabilitást szabályozni.

# A D-VITAMIN MEGVONÁS RONTJA A KORONÁRIA ARTERIOLÁK BIOMECHANIKAI JELLEMZŐIT HÍM PATKÁNYOKBAN

Pál Éva<sup>1</sup>, Hadjadj Leila<sup>1</sup>, Monori-Kiss Anna<sup>1</sup>, Fontányi Zoltán<sup>2</sup>, Nádasy György<sup>3</sup>,  
Benyó Zoltán<sup>1</sup>, Monos Emil<sup>1</sup>, Várbíró Szabolcs<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Semmelweis Egyetem, Klinikai Kísérleti Kutató Intézet, Budapest*

<sup>2</sup>*Semmelweis Egyetem, II. Sz. Szülészeti és Nőgyógyászati Klinika, Budapest*

<sup>3</sup>*Semmelweis Egyetem, Élettani Intézet, Budapest*

**Bevezetés:** A D-vitamin hiány a világon kb. 1 milliárd embert érint. A vitaminhiányos állapot jelentősen fokozza a kardiovaszkuláris kockázatot, melynek egyik tényezője lehet a kisérfunkció romlása. Korábbi vizsgálatainkban igazolást nyert, hogy hiperandrogén és egészséges nőtény patkányokban a D-vitamin hiány rontja a koronária kisérek biomechanikai és farmakológiai válaszkészségét. Munkacsoportunk célja a D-vitamin hiány és szupplementáció hatásának kísérletes feltárása a koronária arteriolák biomechanikai tulajdonságaira hím patkányokban.

**Módszerek:** 21-28 napos hím Wistar patkányokat kettő kísérleti csoportba osztottunk (n=10-11). A „D+” csoport normál táp mellett 8 hétig per os D-vitamin kiegészítést kapott (a telítő dózis után 140 NE/ttkg heti egyszer). A „D-” csoport D-vitamin mentes tápon élt. A nyolcadik kezelési hét után az állatok szívéből intramurális koronária rezisztencia arteriolát preparáltunk (az erek relaxált külső sugara 100-115  $\mu$ m között volt). A kimetszett érszegmentumok biomechanikai jellemzőit nyomás angiométerrel vizsgáltuk fiziológiásan aktív és passzív állapotban, valamint U46691 tromboxán agonista jelenlétében.

**Eredmények:** A maximális kontraktilis készség jelentősen nagyobb a D-vitamin szupplementált csoport esetében („D+”: 26,6 $\pm$ 3,1%, „D-”: 15,3 $\pm$ 3,4%, 50 Hgmm intraluminális nyomás, p<0,001). A D-vitamin hiányos patkányok koronária arterioláinak tangenciális falfeszültsége csökkent a D-vitamin szupplementáltkéhez képest maximális kontrakcióban („D+”: 8,4 $\pm$ 0,9 kPa, „D-”: 5,6 $\pm$ 0,8 kPa, 50 Hgmm intraluminális nyomás, tromboxán agonista jelenlétében, p<0,0001). Az elasztikus modulus nagyobb, míg a disztenzibilitás kisebb volt a D-vitaminnal kezelt állatok koronáriái esetében 50 Hgmm-es nyomáson (p<0,05 minden összehasonlításban).

**Következtetések:** A D-vitamin megvonás kedvezőtlenül befolyásolja a hím patkányok koronária arterioláinak biomechanikai tulajdonságait, mely hosszú távon kóros remodelling folyamatokat eredményezhet. A vitaminhiány következtében romlik a simaizom funkció, és így az arteriolák alkalmazkodási képessége, mely a koronária áramlási rezerv korlátozó tényezője lehet. A nőtény patkányok vizsgálatának eredményeihez hasonlóan a D-vitamin hiány rontja a koronária arteriolák biomechanikai tulajdonságait hím patkányokban is.

**Támogatás:** OTKA 32019, Magyar Vese Alapítvány, Magyar Hypertonia Társaság, SE ÁOK

# D-VITAMIN KEZELÉS RÉSZLEGESEN HELYREÁLLÍTTJA, MÍG HIÁNYA RONTJA A KORONÁRIA KISEREK FUNKCIÓJÁT HIPERANDROGÉN NŐSTÉNY PATKÁNY MODELLBEN

Pál Éva<sup>1</sup>, Hadjadj Leila<sup>1</sup>, Monori-Kiss Anna<sup>1</sup>, Nádasy György<sup>2</sup>, Lajtai Krisztina<sup>3</sup>,  
Monos Emil<sup>1</sup>, Várbíró Szabolcs<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Semmelweis Egyetem, Klinikai Kísérleti Kutató Intézet, Budapest

<sup>2</sup>Semmelweis Egyetem, Élettani Intézet, Budapest

<sup>3</sup>Semmelweis Egyetem, II. Sz. Szülészeti és Nőgyógyászati Klinika, Budapest

**Bevezetés:** A hiperandrogén állapot a nők jelentős részét érintő rendellenesség. E betegek fokozott kardiovaszkuláris kockázatnak vannak kitéve. A hiperandrogén nők 80%-ánál megfigyelhető a D-vitamin hiánya is, mely tovább növeli a szív-és érrendszeri rizikót. Munkacsoportunk célja a következményes biomechanikai átépülés mechanizmusának tisztázása koronária arteriolákon hiperandrogén nőstény patkány (HAF) modellben.

**Módszerek:** 100 g-os nőstény Wistar patkányokat négy kísérleti csoportba osztottunk (n=10-11). Az „A” csoport standard tápot és D3-vitamin kiegészítést kapott (a telítő dózis után 140 NE/ttkg heti egyszer). A „B” csoportot a vitamin kiegészítés mellett 33,3 mg/ttkg transzdermálisan tesztoszteronnal kezeltük heti 5-ször. A „C” csoport D-vitamin mentes tápon élt, míg a „D” csoport a D-vitamin mentes táp mellett tesztoszteron kezelésben részesült (mint a „B” csoport). A nyolcadik kezelési hét után az állatok szívéből 70-100  $\mu$ m sugarú intramurális koronária rezisztencia arteriolát preparáltunk, melynek biomechanikai tulajdonságait nyomás angiométerrel vizsgáltuk.

**Eredmények:** A tesztoszteron kezelés hatására D-vitamin szinttől függetlenül megnőtt az állatok test és szív-tömege ( $p < 0,05$ ). A D-vitamin szupplementáció megakadályozta a tesztoszteron kezelés indukálta falvastagodást. A D-vitamin megvonása önmagában falvastagodást okozott, amit a hiperandrogén állapot tovább fokozott („A”:  $22 \pm 2$   $\mu$ m, „B”:  $25 \pm 1$   $\mu$ m, „C”:  $31 \pm 3$   $\mu$ m, „D”:  $32 \pm 2$   $\mu$ m, kalcium-mentes oldatban, 50 Hgmm intraluminális nyomás,  $p < 0,05$ ). A rezisztencia erekre jellemző miogén tónus D-vitamin hiány vagy tesztoszteron kezelés hatására csökken („A”:  $13 \pm 2\%$ , „B”:  $4 \pm 1\%$ , „C”:  $3 \pm 2\%$ , „D”:  $5 \pm 2\%$ , 50 Hgmm intraluminális nyomás,  $p < 0,05$ ). A tangenciális falfeszültséget a hiperandrogén állapot nem befolyásolta. D-vitamin deficiens állatok koronáriáiban a falfeszültség csökkent a D-vitamin szupplementált állatokéhoz képest („A”:  $16 \pm 3$  kPa, „B”:  $15 \pm 1$  kPa, „C”:  $7 \pm 1$  kPa, „D”:  $6 \pm 1$  kPa, aktív állapotban, 50 Hgmm intraluminális nyomás,  $p < 0,05$ ).

**Következtetés:** A csökkent miogén tónus jelentősen korlátozza a koronária áramlási rezervet. Ez része lehet a hiperandrogén állapotban megfigyelt emelkedett kardiovaszkuláris rizikónak. A hiperandrogén állapot mellett fennálló D-vitamin hiány további mechanizmusokkal zavarja a korral járó ératépülés folyamatait. A D-vitamin tartós adagolása ellenben részlegesen helyreállítja a koszorúserek biomechanikai tulajdonságait HAF modellben.

**Támogatás:** OTKA 32019, Magyar Vese Alapítvány, Magyar Hypertonia Társaság, SE ÁOK

# ANALYSIS OF THE INTRA- AND INTERAREAL CONNECTIONS IN THE PRIMATE SOMATOSENSORY CORTEX

**Emese Pálfi**<sup>1</sup>, László Zalányi<sup>2</sup>, Mária Ashaber<sup>3</sup>, Cory Palmer<sup>4</sup>, Robert M. Friedman<sup>5</sup>, Anna W. Roe<sup>5,6</sup>, László Négyessy<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>*Department of Anatomy, Histology and Embryology, Semmelweis University, Budapest, Hungary*

<sup>2</sup>*Complex Systems and Computational Neuroscience Group, Wigner Research Centre for Physics, Hungarian Academy of Sciences, Budapest, Hungary*

<sup>3</sup>*Department of Physiology and Biochemistry, Szent István University, Faculty of Veterinary Science, Budapest, Hungary*

<sup>4</sup>*Department of Mathematical Sciences, University of Montana, Missoula, MT, USA*

<sup>5</sup>*Division of Neuroscience, Oregon Health and Science University, Portland, OR*

<sup>6</sup>*Zhejiang University Interdisciplinary Institute of Neuroscience and Technology, Zhejiang University, Hangzhou, China*

Areas 1 and 3b are the two most important regions in the primary somatosensory cortex where elementary perceptual processing takes place. After combining tract tracing and functional mapping by intrinsic signal imaging and electrophysiology, we compared the connectivity of distal finger-pad representations following tracer injections in areas 1 and 3b. The size of injections matched the size of submodality specific tactile modules in both areas. In all cases retrograde and anterograde labeling exhibited supragranular dominance, making these layers the main site of somatosensory cortical interactions. Density analysis of the retrograde labeling showed that similar size of neuronal populations provide input to column-size cortical regions within and between areas 3b and 1. However, the inter-areal spread of anterograde labeling was a larger after area 1 injection than after injection of area 3b. Connections within and between the two areas were highly anisotropic dominated by a medio-lateral orientation across the finger representations. In conclusion, intrinsic connections play a dominant role in integrating information across the functional maps within each area. However, regarding inter-areal connectivity feedback projection exhibit larger horizontal spread than that of feed forward.

# A BAL ÉS JOBB KAMRA EDZETTSÉGI JELEI KÜLÖNBÖZŐ SZÍNVONALÚ SPORTOLÓKBAN

**Pavlik Gábor**<sup>1</sup>, Bakács Tibor<sup>2</sup>, Csajági Eszter<sup>1</sup>, Kováts Tímea<sup>1,3</sup>, Keglovits Klára<sup>1</sup>, Kirschner Róbert<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Testnevelési Egyetem, Egészségtud. Sportorvosi Tsz.

<sup>2</sup>MTA Rényi Alfréd Matematikai Kutatóint. Valószínűségszámítás oszt.

<sup>3</sup>Semmelweis Egy. Szív- érgyógyászati Klin.; <sup>4</sup>Flór Ferenc kh V. Bel, Budapest

**Célkitűzés:** Korábbi vizsgálatunkban (Pavlik és mtsai: MÉT, Debrecen 2012) megállapítottuk, hogy a szív morfológiai, funkcionális és regulációs edzettségi jelei már a szabadidő és alsóbb osztályú sportolóknak megjelennek, a magasabb színvonalú sport szerényebb további előnyökkel jár. Jelen munkánkat kiterjesztettük szöveti Doppler vizsgálatokra, valamint a jobb kamra morfológia és funkcionális tulajdonságaira is.

**Módszerek:** Közel 3000 18-42 éves (köztük 64 % férfi) személy 2 dimenzionálisan irányított M-mód és Doppler echokardiográfiás adatait, és az esetek egy részében (N=900) a szöveti Doppler és a jobb kamra adatait (N=450) hasonlítottuk össze versenyzői minősítésük szerint (nem-edzettek, szabadidő sportolók, alsóbb osztályú versenyzők, 2.-3. osztályú sportolók, első osztályú sportolók, válogatottak).

**Eredmények:** A rel.VO<sub>2</sub>max fokozatosan emelkedett a másod osztályú csoportokig. A legjellemzőbb morfológiai edzettségi jel, a testfelület (BSA)1.5–re vonatkoztatott bal kamrai izomtömeg növekedett az első három csoportban, utána már csak a másod- és az első osztályú csoportok között volt különbség. A funkcionális edzettségi jelek közül az E/A (a balkamrai korai és a késői telődés csúcsebességének aránya) egy fordított U-alakú görbét mutatott: növekedett a másodosztályú sportolókig, majd csökkent. A vegetatív szabályozást jelző nyugalmi pulzusszámban a nem-edzettek és a szabadidő sportolók között volt a legnagyobb eltérés, a különböző szintű sportolók sokkal kisebb volt a különbség. A szöveti Doppler indexek (E'/A') megerősítették az E/A-val tapasztalt eredményeket. A jobb kamra mérete (diasztolés terület, longitudinális és haránt átmérő) csak a felsőbb osztályú sportolóknak mutatkozott nagyobbaknak.

**Következtetés:** A szabadidő sport már kifejezett edzettségi jeleket fejleszt a szívben, a rendszeres versenysport további javulást eredményez még az alsóbb osztályú versenyzőkben is. Kisebb a különbség a különböző osztályú versenyzők között annak ellenére, hogy heti edzés óraszámuk fokozatosan növekszik. Eredményeink tehát arra utalnak, hogy a szív egészségének védelmében nem szükséges elérnünk az élsportolói szintet, már kisebb intenzitású és mennyiségű rendszeres edzés is védő hatású.

# A TRANZIENS RECEPTOR POTENCIÁL ANKYRIN 1 RECEPTOR SZEREPE $\beta$ -AMYLOID1-42-INDUKÁLT ALZHEIMER KÓRBAN

**Payrits Maja**<sup>1,2</sup>, Borbély Éva<sup>1,2</sup>, Szőke Éva<sup>1,2,3</sup>, Helyes Zsuzsanna<sup>1,2,3</sup>,  
Ábrahám M. István<sup>2,4</sup>, Pintér Erika<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet

<sup>2</sup>Pécsi Tudományegyetem, Szentágotthai Kutató Központ

<sup>3</sup>MTA-PTE Krónikus Fájdalom Kutatócsoport

<sup>4</sup>Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Élettani Intézet

**Háttér:** Az Alzheimer kór (AD) egy progresszív neurodegeneratív betegség, a demencia legáltalánosabb formája. Alzheimer kóros betegek agyának szomatoszenzoros kéregében megfigyelték  $\beta$ -amyloid oligomer plakkok létrejöttét, melyek hatására a neuronális károsodás bekövetkezik. A bazális előagyi kolinerg neuronok (BFC) jelentős szerepet játszanak a kognitív képességek és a memória alakításában, mely funkciók az AD során károsodnak.

A Tranziens Receptor Potenciál Ankyrin 1 (TRPA1) ioncsatornák elsősorban nociceptív primer szenzoros neuronokon és asztrocitákon expresszálódnak. Szerepet játszanak a neurogén gyulladás kialakulásában, de számos központi idegrendszeri betegségben, mint például az Alzheimer kórbán valószínűsített szerepük tisztázatlan. Célunk volt a TRPA1 receptor funkciójának a felderítése AD-ban, amihez Alzheimer kóros állatmodellt hoztunk létre, majd TRPA1 génihiányos egerek felhasználásával vizsgáltuk a receptor szerepét.

**Módszerek:** Sztereotaxiás módszert használva 1  $\mu$ l  $\beta$ -amyloid 1-42(A $\beta$  1-42) (300 $\mu$ M) peptidet mikroinjektáltunk (0.1 $\mu$ l/min) felnőtt hím, vad típusú (WT) és TRPA1 génihiányos (TRPA1 KO) egerek jobb oldali substantia innominata-nucleus basalis magnocellularis (SI-NBM) komplexébe. A rostkiesés mértékét acetilkolin-észteráz (AChE) hisztokémiai festéssel határoztuk meg. A SI-NBM területén történő kolinerg sejttest pusztulás mértékét choline-acetiltransferáz (ChAT; 1:2000, Merk) immun-hisztokémiai festéssel tettük láthatóvá. A memória és a tanulási képességek károsodásának megfigyelésére novel object recognition tesztet, radial arm maze tesztet és single pellet skilling reaching tesztet alkalmaztunk. Ezekkel a viselkedés tesztekkel kezeletlen-, TBS- és A $\beta$ 1-42bilaterálisan injektált WT és TRPA1 KO egerek csoportját vizsgáltuk.

**Eredmények:** A vad típusú egerek szomatoszenzoros kérgi kolinerg rostjainak denzitásában 30,56%-os csökkenést figyeltünk meg az A $\beta$ 1-42kezelt oldalon, a kezeletlen oldal rostdenzitásához képest. Ez az érték, a TRPA1 KO egerek esetében csupán 1,54%. Hasonló mértékű kolinerg sejttest pusztulás volt megfigyelhető a SI-NBM területén.

A memória tesztekben megfigyeltük, hogy a WT A $\beta$ 1-42injektált egerek jelentősen rosszabb eredményt mutattak a többi csoportnál, míg a TRPA1 KO A $\beta$ 1-42injektált egereknél nem figyeltünk meg memóriavesztést.

**Konklúzió:** Kutatásainkkal bizonyítottuk, hogy a TRPA1 receptor szerepet játszik az A $\beta$  1-42-indukált kolinerg neuronok károsodásában. Eredményeink alapján feltételezzük, hogy ezen receptor által közvetített események befolyásolják az Alzheimer kór patomechanizmusát.

**Támogatók:** Richter Gedeon Talentum Alapítvány, Nemzetközi Agykutatási Program (KTIA\_13\_NAP-A-III/4-5), MTA-PTE NAP-B Krónikus Fájdalom Kutatócsoport (KTIA\_NAP\_13-2-2014-0022, kutatóhely: 888819), TÁMOP-4.1.1.C-13/1/KONV-2014-0001 and OTKA (#112807)

# A VENTRALIS PALLIDUM TERÜLETÉN TALÁLHATÓ D2 DOPAMIN RECEPTOROK MEMÓRIA-STABILITÁSBAN JÁTSZOTT SZEREPÉNEK VIZSGÁLATA NEM-TRADICIONÁLIS MAGATARTÁSI PARAMÉTEREK SEGÍTSÉGÉVEL

**Péczely László Zoltán<sup>1</sup>**, Ollmann Tamás<sup>1</sup>, László Kristóf<sup>1</sup>, Kállai Veronika<sup>1</sup>, Kovács Anita<sup>1</sup>, Gálosi Rita<sup>1</sup>, Kertes Erika<sup>1</sup>, Zagoracz Olga<sup>1</sup>, Karádi Zoltán<sup>1,2</sup>, Lénárd László<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Élettani Intézet

<sup>2</sup>Pécsi Tudományegyetem, Szentágothai János Kutatóközpont, Molekuláris Neuroendokrinológiai Kutatócsoport

A Morris-féle úsztatási teszt széles körben alkalmazott paradigma a térbeli tanulás tanulmányozására. Az úsztatási paradigma alkalmazása során nyert kísérleti eredmények elemzésére többféle megközelítés ismert, ugyanakkor a tanulási folyamat során kialakult memória stabilitásának vizsgálata viszonylag elhanyagolt terület.

A dopamin receptorok szerepét a tanulási folyamatokban kimutatták a prefrontalis kéreg, a nucleus accumbens, az amygdala, illetve hippocampus területén is. Ezen struktúrákkal szoros összeköttetésben van a ventralis pallidum (VP), amelynek területén D1 és D2 dopamin receptorok is megtalálhatóak, ugyanakkor ezen receptorok szerepe a memóriakonzolidációban még kevésbé ismert.

Jelen kísérleteinknek két fő célja volt: 1. natív kontroll állatok magatartásának elemzésével megtalálni azon paramétereket, melyek segíthetnek a memória stabilitásának meghatározásában; 2. felhasználva az első kísérlet eredményeit, a VP D2 dopamin receptorok aktivációjának memóriakonzolidációs folyamatokra, a kialakult memória stabilitására gyakorolt hatásának vizsgálata.

Első kísérletünkben natív hím Wistar patkányokat úsztattunk Morris-féle úsztatási tesztben. A kísérlet menetrendjét úgy alakítottuk ki, hogy az alkalmas legyen a memóriakonzolidáció és a memória-stabilitás vizsgálatára. Az analízis során az úsztatót virtuálisan felosztottuk külső és belső, továbbá a platform körüli különböző sugarú kör alakú zónákra. A tradicionális paraméterek (platform céltalálási idő, úszási sebesség etc.) mellett mértük a virtuálisan kialakított zónákba történő belépések számát, illetve az ott töltött időt. Ezen felül meghatároztuk a platformot körülvevő kör alakú zónák esetében az első belépés latenciáját is.

Második kísérletünkben a VP-ba mikroinjektált D2 dopamin receptor agonista quinpirol térbeli tanulási folyamatokra gyakorolt hatását vizsgáltuk. Sztereotaxikus technika segítségével bilaterális vezető kanüloket implantáltunk a célterület fölé. Az első és a második nap kondicionálásai után a beadó kanüloket a vezető kanülokbe helyezve 0,1 g, 1,0 g és 5,0 g quinpirolt, vagy a vivőanyagot, fiziológiás sóoldatot mikroinjektáltunk 0,4 µl térfogatban az állatok VP-ba. Az analízis során az első kísérlet alapján meghatározott paramétereket alkalmaztuk.

A különböző magatartási paraméterek vizsgálata során arra a következtetésre jutottunk, hogy a platform megfelelő nagyságú környezetének céltalálási latenciája jól alkalmazható, stabil paraméter, mely az állatok memóriájának stabilitását és ehhez kapcsolódóan a memória „pontosságát” jól tükrözi. Ezeket a paramétereket felhasználva igazoltuk, hogy a VP D2 dopamin receptorainak aktivációja elősegíti a memóriakonzolidációt, és növeli a memória stabilitását.

A kísérleteket a PTE ÁOK KA 2013/34039/1, valamint a PTE ÁOK KA-2015-15 támogatta.

# AZ ATP-SZENZITÍV KÁLIUM CSATORNÁK SZEREPE A LEVOSZIMENDÁN BRONCHOPROTEKTÍV HATÁSÁBAN

**Peták Ferenc**, Balogh Ádám László, Fodor H. Gergely, Südy Roberta,  
Ivánkovitsné Kiss Orsolya, Babik Barna

*SZTE ÁOK Orvosi Fizikai és Orvosi Informatikai Intézet, SZTE ÁOK Aneszteziológiai és Intenzív Terápiás Intézet*

**Bevezetés:** A szívelégtelenség kezelésében pozitív inotróp szerként használt levoszimendán a szívizomban kalciumérzékenyítő, a vaszkuláris simaizomban az ATP-szenzitív kálium (KATP) csatornák nyitása révén bizonyítottan vazodilatátor hatású. A légúti simaizomzatban is megtalálható KATP-csatornák aktiválása fokozódott légúti simaizomtónus jelenlétében a bronchokonstriktió csökkenéséhez vezet, mely szerepet játszik az inhalációs anesztetikumok ismert bronchoprotektív hatásában. Mivel a levoszimendán bronchiális hatása tisztázatlan, célunk annak feltérképezése volt, hogy a levoszimendán légúti simaizomtónus csökkentő potenciáljában milyen mértékben vesznek részt a KATP csatornák.

**Anyagok és módszerek:** Altatott, lélegeztetett New-Zealand White nyulakat véletlenszerűen három csoportba osztottunk: levoszimendánnal (L csoport; n=10), levoszimendánnal és KATP- gátló glibenklamiddal kezelt (LG csoport; n=6) valamint kontroll (C csoport, n=7) csoportokba. A légúti ellenállást (Raw) a légzőrendszeri impedancia spektrumokból modellillesztéssel határoztuk meg. A légutak konstrikatív válaszainak felmérésére emelkedő dózisú iv. metakolin (MCh)-provokációt (0,5-1-2-4 µg/kg/perc) végeztünk mindhárom csoportban. Ezt követően az L, és az LG csoportban iv. levoszimendán (15 percig 50-, majd 135 percig 10 µg/kg/perc), a kontrollcsoportban iv. 5% glükózininfúzió (150 percig) adása után fenntartott infúziója mellett a MCh provokációt megismételtük. Az LG csoportban közvetlenül a levoszimendán infúzió előtt 25 µg/kg ip. glibenklamidot adtunk. A dózis-hatás görbékből kiszámítottuk az alapvonalhoz képest 25%-os Raw-növekedést előidéző MCh dózisokat (PD25).

**Eredmények:** Az L-csoportban a levoszimendán szignifikánsan csökkentette a MCh által kiváltott Raw-emelkedést az első provokációs szakaszhoz képest ( $88 \pm 29,2$  [SE]% vs.  $23 \pm 5,8$ %;  $p < 0,001$ ; MCh 4 µg/kg/perc mellett), mely szignifikánsan magasabb PD25-értékeket eredményezett ( $2,07 \pm 0,6$  vs.  $3,6 \pm 0,53$  µg/kg/perc,  $p = 0,004$ ). A C és a LG csoportban a két MCh provokációra adott légúti válaszokban nem észleltünk statisztikailag szignifikáns különbséget.

**Következtetés:** A levoszimendán bronchoprotektív hatása KATP csatorna gátlóval jelentősen csökkenthető. Eredményeink arra utalnak, hogy a levoszimendán akut bronchokonstriktiót csökkentő hatását elsősorban a KATP-csatornák nyitásán keresztül fejti ki. Levoszimendán alkalmazása különösen előnyös lehet a légúti túlérzékenységgel együtt járó szívelégtelenségben szenvedő betegekben, mert csökkenti a légzési munkát és a légzés oxigén igényét.



# PERINATÁLIS TÁPLÁLÁS HATÁSA A FELNŐTTKORI TESTTÖMEG-SZABÁLYOZÁSRA: A CHOLECYSTOKININ-VÁLASZKÉSZSÉG ELTÉRÉSEI

**Pétervári Erika**, Sohonyay Fanni Mirella, Pajor Viktória, Soós Szilvia,  
Székely Miklós, Balaskó Márta  
*Pécsi Tudományegyetem, ÁOK, Transzlációs Medicina Intézet, Pécs*

**Bevezetés:** A pre- és korai posztnatális időszak kritikus szakasz az energiaháztartás és a testtömeg szabályozásának fejlődése, az ún. metabolikus programozódás szempontjából. Számos tanulmány szerint a terhesség és a szoptatás alatti alul- vagy túltáplálás is kapcsolatba hozható a felnőttkori elhízás és kardiometabolikus betegségek kialakulásával. Állatkísérletes modellben vizsgáltuk az anyai és a posztnatális túltáplálás hatását az utód testtömegének, anyagcseréjének fejlődésére, valamint a táplálékfelvétel szabályozásában fontos, jóllakottságot okozó gasztrointesztinális hormon, a cholecystokinin (CCK) hatására.

**Módszerek:** Vemhessége és a szoptatás során kalóriadús (60% zsírkalóriát tartalmazó) táplálékon elhízott (K) vagy normál tápon tartott (N) Wistar patkányok posztnatálisan zsírdús vagy normál táplálású hím utódaiban (rendre KK, NK vagy KN, NN) mértük a testtömeget, a táplálékfelvételt, indirekt kaloriméterrel (Oxymax) az anyagcsere mértékét (oxigénfogyasztás), valamint felnőtt korukban intraperitoneális CCK-injekció hatását 48-órás éhezés által kiváltott 3-h táplálékfelvételre FeedScale automatizált táplálékfelvételmérő-rendszerben.

**Eredmények:** Az utódok zsírdús diétája általában elhízást és alacsonyabb nyugalmi anyagcserét eredményez. Ugyanakkor a zsírdúsán táplált anyák mindkét posztnatális diétán tartott utódaira jellemző, hogy kezdetben testtömegfejlődésük szignifikánsan alacsonyabbnak, míg nyugalmi oxigénfogyasztásuk magasabbnak bizonyult. A zsírdús anyai diéta középkorú utódokban csökkentette a CCK anorexigén hatását. Ez is hozzájárulhatott ahhoz, hogy a KK utódok 5 hónapos kor után gyorsabban híztak, mint az NK csoport.

**Összefoglalás:** Az anyai zsírdús diéta növeli az utód nyugalmi anyagcseréjét és kezdetben csökkenti a testtömegfejlődés ütemét is. Ugyanakkor csökkenti a CCK hatékonyságát, ami zsírdús posztnatális diétán, hosszú távon hozzájárulhat a felnőttkori elhízás fokozódásához.

# A TRP-IONCSATORNÁK SZEREPE A NOCICEPTÍV HŐKÜSZÖB MEGHATÁROZÁSÁBAN: RÉGI KÉRDÉS, ÚJ VÁLASZOK

**Pethő Gábor**, Tékus Valéria, Horváth Ádám, Bölcskei Kata, Helyes Zsuzsanna, Pintér Erika, Szolcsányi János

*Pécsi Tudományegyetem, ÁOK, Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet, Pécs*

A termális fájdalomérzet kiváltásában kulcsszerepet játszanak a polimodális, kapszaicinérzékeny nociceptív primer afferens neuronokban expresszáldó transziens receptor potenciál vanilloid 1 (TRPV1) és ankyrin 1 (TRPA1) ioncsatornák, amelyek forró, illetve fájdalmas hideg ingerekkel aktiválhatók. A TRPV1 aktivációs küszöbe transzfektált sejtekben 43°C, amely hőmérséklet hasonló a polimodális nociceptív neuronok sejttestének és perifériás terminálisainak (beleértve az emberi bőr nociceptorait) hőküszöbéhez, azt sugallva, hogy a küszöb beállításában a TRPV1 szerepe a döntő. Ezzel összhangban a forró ingerrel kiváltott ionáram a nociceptív neuronok sejttestén teljes egészében TRPV1-függő. Azonban a perifériás polimodális nociceptorok akcióspotenciál-elvezetéssel vizsgált hőküszöbe TRPV1 génhiányos egerekben hasonló, mint a vad típusúakban. Hasonlóképpen, a termonocicepció hagyományos magatartási módszereivel (forró lap, tail-flick, Hargreaves-féle talp visszahúzási teszt) - amelyek küszöbfeletti hőingerrel kiváltott nocifenzív reflexválaszok latenciaidejét mérik -, az alacsony, feltehetően küszöbközeli ingerintenzitások esetén nem volt latenciaidő-megnyúlás TRPV1-génhiányos egerekben vagy TRPV1-antagonistával kezelt patkányokban. Magasabb ingerintenzitásoknál viszont a TRPV1 hiánya, illetve blokkolása a latenciaidő megnyúlását okozta. Az elektrofiziológiai és a humán pszichofizikai vizsgálatokban a nociceptív hőküszöböt határozzák meg, amelynek nem adekvát megfelelője az éber állatokban mért nocifenzív reflexválasz latenciaideje. Saját kísérleteinkben egy általunk kifejlesztett és több kísérletes paradigmában validált, új metodikai megközelítést alkalmaztunk, amely a magatartási nociceptív hőküszöb meghatározásán alapul. Az emelkedő hőmérsékletű forró lap, illetve az emelkedő hőmérsékletű vízfürdő lehetővé teszi patkány vagy egér hátsó lábán, illetve farkán annak a legalacsonyabb forró hőmérsékletnek a meghatározását, amelyik a láb vagy fark elkerülő reakcióját kiváltja (nociceptív hőküszöb). A hátsó láb talpának emelkedő hőmérsékletű forró lappal meghatározott nociceptív hőküszöbe nem mutatott szignifikáns eltérést a TRPV1 génhiányos egerekben a vad-típusúakhoz képest. Ezzel szemben a fark emelkedő hőmérsékletű vízfürdővel mért hőküszöbe a génhiányos egerekben kb. 2°C-kal magasabb volt, mint a vad típusúakban. Ezzel egybehangzóak a humán eredmények, miszerint a TRPV1-receptor-antagonisták megemelik a nociceptív hőküszöböt. A TRPA1 gén hiánya nem változtatta meg az egerek hőküszöbét sem a farkon, sem a talpon.

A fenti adatok arra utalnak, hogy a TRPV1 szerepe a forró ingerre adott válaszban függ a szubcelluláris lokalizációtól (sejttest versus perifériás terminális), a testtájéki lokalizációtól (fark versus talp), a speciestől (egér és patkány versus ember), valamint az alkalmazott hőinger intenzitásától (küszöbinger versus küszöbfeletti inger). A forró ingerek detektálásában a TRPV1-en kívül más ioncsatornák is szerepet játszanak.

# A TRANZIENS RECEPTOR POTENCIÁL ANKYRIN 1 (TRPA1) RECEPTOR SZEREPE A NEURODEGENERATÍV KÓRKÉPEKBEN

**Pintér Erika**<sup>1</sup>, Sággy Éva<sup>1</sup>, Payrits Maja<sup>1</sup>, Bölcskei Kata<sup>1</sup>, Perkecz Anikó<sup>1</sup>, Sándor Zoltán<sup>1</sup>, Kemény Ágnes<sup>1</sup>, Szőke Éva<sup>1</sup>, Ács Péter<sup>2</sup>, Sipos Éva<sup>2</sup>, Komoly Sámuel<sup>2</sup>, Helyes Zsuzsanna<sup>1</sup>, Ábrahám István<sup>3</sup>

<sup>1</sup>PTE ÁOK Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet

<sup>2</sup>PTE ÁOK Neurológiai Klinika

<sup>3</sup>PTE ÁOK Élettani Intézet,

A neuro-immun interakciók és a neuroinflammációs folyamatok kutatása új utat jelenthet a neurodegeneratív betegségek kezelésében, mint szklerózis multiplex (SM), és az Alzheimer kór (AD). A neuron-glia kapcsolatban kulcsfontosságúak azok a molekulák, amelyek mindkét sejtcsoporton megtalálhatók, mint a Tranziens Receptor Potenciál Ankyrin 1 (TRPA1) receptor.

Az SM krónikus neurodegeneratív betegség, gyulladás, demyelinizáció, axon-degeneráció jellemzi. A cuprizon oligodendroglia pusztulást idéz elő demyelinizációval, amit makrofág invázió és asztrocita reakció kísér. Vad és TRPA1 receptor génhianyos egereket 6 hétig cuprizon diétán tartottunk, majd az agyukat kimetszettük, a demyelinizációt Luxol Fast Blue festéssel vizsgáltuztraktk. Az asztrocita reakciót anti-GFAP, a makrofág infiltrációt anti-Iba1, az érett oligodendrogliaikat anti-APC antitestekkel mutattuk ki. A TRPA1 receptor lokalizációjának felderítésére anti-GFAP és anti-TRPA1 kettős jelölést alkalmaztunk. A TRPA1 receptor mRNS expresszió mértékét qPCR módszerrel határoztuk meg. Az SM pathomechanizmusában kiemelkedő szereppel rendelkező területeken az asztrociták expresszálják a receptort. A cuprizon az egerekben oligodendroglia-szám csökkenést okozott, de a KO egerek agyában szignifikánsan több érett sejt volt. Az asztrocitózis és makrofág invázió is mérsékeltebb volt a KO egerekben. Western blot-tal igazoltuk, hogy a TRPA1 szerepet játszik az ERK1/2, JNK/P38-MAPK és c-jun útvonalak szabályozásában. Eredményeink alapján feltételezhető, hogy a TRPA1 receptor hozzájárul a cuprizon okozta oligodendroglia károsodáshoz, míg a receptor hiánya esetén a károsító hatás kevésbé érvényesül.

Célunk volt az is, hogy kimutassuk a TRPA1 receptor szerepét A $\beta$ 1-42 indukálta Alzheimer modellben. Vad és TRPA1 KO egerek agyába A $\beta$ 1-42-t mikroinjektáltunk. 12 nap múlva AchE hisztokémiai és ChAT immun-hisztokémiai módszerrel tettük láthatóvá a kolinerg sejtesteket és rostokat. Meghatároztuk a kolinerg sejtek mennyiségét és a rostdenzitás mértékét. A vad egerek szomatoszenzoros kolinerg rostjainak denzitásában 30,56%-os csökkenést figyeltünk meg ipszilaterálisan, az ellenoldalhoz képest, viszont, a KO egereknél csupán 1,54%-ot. Vad egerekben a kolinerg sejtest pusztulás 28,68%, míg a KO állatokban 2,19% volt. Eredményeink rámutatnak, hogy a TRPA1 receptorok fontos szerepet játszhatnak A $\beta$ 1-42 indukálta idegrost és neuron pusztulásban a szomatoszenzoros kéregben.

Támogatás: KTIA\_NAP\_13-1-2013-001.

# A TRANZIENS RECEPTOR POTENCIÁL ANKYRIN 1 (TRPA1) ÉS VANILLOID 1 (TRPV1) JELENLÉTE ÉS EXPRESSZIÓS VÁLTOZÁSAI MÉLYEN INFILTRÁLÓ ENDOMETRIÓZISBAN, VALAMINT ENDOMETRIÓZIS PATKÁNYMODELLJÉBEN

**Pohóczky Krisztina**<sup>1,2</sup>, Bohonyi Noémi<sup>3</sup>, Szalontai Bálint<sup>1</sup>, Perkecz Anikó<sup>1</sup>, Kovács Krisztina<sup>4</sup>, Kajtár Béla<sup>4</sup>, Maczkó Péter<sup>1</sup>, Orbán Lajos<sup>3</sup>, Varga Tamás<sup>3</sup>, Szegedi Sarolta<sup>3</sup>, Bódis József<sup>3</sup>, Koppán Miklós<sup>3</sup>, Helyes Zsuzsanna<sup>1,2,5</sup>

<sup>1</sup>Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet

<sup>2</sup>Pécsi Tudományegyetem, Szentágotthai János Kutatóközpont

<sup>3</sup>Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Szülészeti és Nőgyógyászati Klinika

<sup>4</sup>Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Patológiai Intézet

<sup>5</sup>MTA NAP-B Krónikus Fájdalom Kutatócsoport, Pécs

A Tranziens Receptor Potenciál Ankyrin 1 (TRPA1) és Vanilloid 1 (TRPV1) kationcsatornák elsősorban a kapszaicin-érzékeny peptiderg érző neuronokon expresszálódnak, de jelenlétüket a méhnyálkahártyában is leírták. A TRPA1-et számos exogén irritáns (fahéjaldehyd, mustárolaj) és gyulladásos mediátor (hidrogén-peroxid, metilglioxál) aktiválja. A TRPV1 endogén stimulátorai a proton és lipidmediátorok. Ösztrogén hatására mindkét receptor mennyisége megnő patkány endometriumban, a TRPV1 expresszió-fokozódást mutat endometriózisban. Mivel fontos szerepet játszanak fájdalommal járó és gyulladásos folyamatokban, kísérleteinkben e receptorok expresszióját vizsgáltuk mélyen infiltráló endometriózisban (DIE) és patkánymodellben. Klinikai vizsgálatainkat az alábbi csoportokból vett mintákon végeztük: mérsékelt ciklusos fájdalom (dysmenorrhea: DM) miatt kezelt betegek endometriuma (n=7), infertilis nők endometriuma (n=6) és DIE lézió (n=15). A TRPA1 és TRPV1 receptor mRNS mennyiségét kvantitatív polimeráz láncreakcióval, a receptorfehérjék lokalizációját immunhisztokémiai módszerrel határoztuk meg (szemikvantitatív pontozás). Eredményeinket klinikai paraméterekkel korreláltattuk (Numeric Rating Scale és fájdalom spektrum). A sebészeti úton kiváltott endometriózis modellben a patkányokat 4 csoportban vizsgáltuk: akut álműtött (n=4), krónikus álműtött (n=4), akut (n=7) valamint krónikus (n=7) endometriózis. A receptor-expressziós változásokat a humán mintákhoz hasonlóan értékeltük. Mindkét receptort kimutattuk emberi és patkány endometriumban. Krónikus patkány endometriózisban a TRPA1 mRNS expressziója 6-szoros, a TRPV1-é 3-szoros emelkedést mutatott. Emberi DIE mintákban 5-szörös TRPA1 és 2-szeres TRPV1 mRNS fokozódást mértünk. Kontroll humán endometriumban elsősorban az epitelben és a sztrómában detektáltunk TRPA1 és TRPV1 immunpozitivitást. DIE mintákban kifejezett expresszió-fokozódást detektáltunk mindkét TRP receptor esetében a glanduláris epiteliális területen illetve a sztrómában. A sztrómális TRPA1 receptor expressziója pozitív korrelációt mutatott a DM tünetek súlyosságával, míg az intersticiális makrofágok TRPA1 expressziója negatívan korrelált a dysuria-val és az interstitialis cystitis-szel (fájdalmas hólyag szindróma). A sztrómális TRPV1 expresszió pozitív korrelációt mutatott a DM, dyschezia és a következményes irritábilis bélszindróma tüneteinek súlyosságával, az epiteliális TRPV1 immunpozitivitás szorosan korrelált a dyspareuniával.

Eredményeink elsőként bizonyítják a TRPA1 receptor jelenlétét emberi endometriumban, valamint a TRPA1 és V1 receptor expresszió-fokozódását humán DIE léziókban és patkány endometriózis modellben. A megnövekedett receptormennyiség korrelációt mutat a klinikai paraméterekkel, amely e receptorok patofiziológiai szerepére utal. A patkány endometriózis modell expressziós mintázata hasonló a DIE mintákban tapasztaltakhoz, így ebben a TRPA1/V1 ioncsatornák patofiziológiai szerepe vizsgálható.

# METÁN INHALÁCIÓ HATÁSA A MESENTERIALIS ISCHAEMIA ÉS REPERFÚZIÓ SORÁN KIALAKULÓ OXIDATÍV ÉS NITROZATÍV STRESSZRE PATKÁNY BÉLCSATORNÁBAN

**Poles Marietta Zita**<sup>1</sup>, Bódi Nikolett<sup>2</sup>, Bagyánszki Mária<sup>2</sup>, Fekete Éva<sup>2</sup>, Mészáros András<sup>1,3</sup>, Andrey Kozlov<sup>3</sup>, Boros Mihály<sup>1</sup>, Kaszaki József<sup>1</sup>

<sup>1</sup>SZTE ÁOK, Sebészeti Műtéttani Intézet, Szeged

<sup>2</sup>SZTE TTIK, Élettani, Szervezettani és Idegtudományi Tanszék, Szeged

<sup>3</sup>Ludwig Boltzmann Institute for Experimental and Clinical Traumatology, Vienna

**Bevezetés:** Kutatócsoportunk igazolta a metán (CH<sub>4</sub>) gyulladáscsökkentő hatását mesenterialis ischaemia/reperfúzió (I/R) modellen (Crit Care Med 2012), de a pontos hatásmechanizmus még nem tisztázott. Az I/R során kialakuló oxidatív és nitrozatív stressz szövetkárosító szerepe jól ismert, ezért összehasonlítottuk a CH<sub>4</sub> hatását az oxidatív és nitrozatív stressz markereire, külön az ischaemia és külön az I/R alatt.

**Módszerek:** A kísérleteket altatott Sprague-Dawley patkányok csoportjain (álműtött, álműtött+CH<sub>4</sub>, ischaemia, ischaemia+CH<sub>4</sub>, I/R és I/R+CH<sub>4</sub>) végeztük. Az ischaemiát az a. mesenterica superior 50 perces elzárásával váltottuk ki, az I/R csoportokban ezt 120 perces reperfúzió követte. A CH<sub>4</sub>-kezelt állatok 2,2% CH<sub>4</sub>-t tartalmazó normoxiás levegőt lélegeztek be 15 percig az ischaemia végén és a reperfúzió elején. A kísérlet végén a duodenumból és ileumból mintát vettünk, a bélnyúzat preparátumokon HuC/HuD (pán-neuronális marker) és neuronális NOS immunhisztokémiai festéseket végeztünk. Az oxidatív stressz jellemzésére a xantin oxidoreduktáz (XOR), mieloperoxidáz aktivitást, a nitrozatív stressz vizsgálatára nitrotirozin (NTyr) és nitrit/nitrát (NOX) szinteket (ACE kompetitív EIA) mértünk, valamint elektron paramágneses rezonancia spektroszkópiával meghatároztuk az intracelluláris vas-kötött NO (DETC-Fe-NO) szintet.

**Eredmények:** A teljes myentericus neuronszámhoz viszonyított nitrerg neuron arány az ischaemia alatt a duodenumban és az ileumban szignifikánsan csökkent, a XOR aktivitás nem változott, de a NTyr [11,5±5,4 vs 6,5±3 (álműtött) ng/mg protein] és DETC-Fe-NO szint a duodenumban, a NOX szint az ileumban [46,1±4,8 vs. 30,9±2,7 (álműtött) μmol/mg protein] szignifikánsan nőtt. A CH<sub>4</sub> belélegzés a fenti paramétereket a kontroll szintre csökkentette. I/R során a nitrerg neuronok aránya a két bélszakaszban ellentétesen változott, de a CH<sub>4</sub> hatására mindkettő a kontrollhoz közeli szintre tért vissza. Az oxidatív és nitrozatív stressz markerek szintje szignifikánsan emelkedett [XOR: 371±20 vs 312±15 (álműtött) μmol/perc/mg protein; NTyr: 6,9±0,9 vs 13,9±2,0 (álműtött) ng/mg protein], de CH<sub>4</sub> belélegzés után minden paraméter kontrollhoz közeli értéket mutatott.

**Következtetés:** A myentericus nitrerg neuronok a I/R korai fázisában adaptívan reagálnak az ischaemia és I/R okozta környezeti változásokra. A CH<sub>4</sub> belélegzés jelentősen csökkenti az ischaemia alatt aktiválódó nitrozatív és a I/R során kialakuló oxidatív stressz szintjét, ezáltal megvédi a nitrerg neuronokat a hipoxia és reoxigenizáció káros következményeitől.

**Támogatás:** OTKA K104656; Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatal - NKFIK K116689

# TÜDŐ-ON-A-CHIP: MIVEL NYÚJT TÖBBET, MINT A HAGYOMÁNYOS SZÖVETKULTÚRÁK?

**Pongrácz Judit**

Pécsi Tudományegyetem, Gyógyszerészi Biotechnológia Tanszék, Pécs

A hagyományos szövetkultúrák, ahol a sejtek kifeszített állapotban tapadnak egy műanyaghoz, a környezeti hatásokra adott fiziológiás válaszreakciók kevésbé, avagy egyáltalán nem reprodukálhatók, és még kevésbé értelmezhetőek. A chip rendszerek és a chipeken elhelyezett összetett szöveti kultúrák azonban lehetőséget biztosítanak a környezeti hatásokra adott molekuláris folyamatok megismerésére, orvosi gyakorlatban, avagy gyógyszerfejlesztésben történő felhasználására. A chipek fejlesztése és kialakítása nem triviális folyamat, alapos biológiai, anatómiai és élettani tudást igényelnek szoros kooperációban biofizikusok és műszaki szakértők bevonásával.

# **A TÜDŐFUNKCIÓ - AVAGY MI KELL A MATUZSÁLEMI ÉLETKOR ELÉRÉSÉHEZ?**

**Pongrácz Judit Erzsébet**

*PTE, Gyógyszerésztudományi Kar, Gyógyszerészi Biotechnológia Tanszék*

Az öregedés-vizsgálatok alapján megállapítható, hogyha minden más szervünk működése még fenntartható is lenne, 120-130 éves korunkra a tüdőfunkció olyan alacsony szintre csökken, hogy a halál minden egyéb komorbiditás hiányában is elkerülhetetlen. Az öregedéssel együtt járó tüdőfunkció csökkenése igen komplex folyamat, melyben a genetikai háttér által szabályozott folyamatok, a lecsökkent regenerációs képesség, és a fokozódó izomgyengeség funkcióvesztéshez vezet. Ehhez hozzájárul a leromló immunfunkció és az ennek következtében bekövetkező fertőzések indukálta szöveti átalakulások által előidézett további funkcióvesztés. Molekuláris vizsgálatok ugyanazoknak a folyamatoknak az aktiválását illetve gátlását találták az öregedési folyamatok középpontjában, melyek az embrionális fejlődésben is központi szerepet játszanak. Ezek közé tartozik az evolúciósan konzervált Wnt gliko-lipo-protein család, amelynek de-regulációja az egyik fő akadálya a bibliai életkor elérésének.

# DIALKIL-POLISZULFIDOK HATÁSAI A NOCICEPCIÓ ÉS GYULLADÁS EGÉRMODELLJEIBEN

**Pozsgai Gábor**<sup>1</sup>, Bártai István Z.<sup>1</sup>, Payrits Maja<sup>1</sup>, Sággy Éva<sup>1</sup>, Sebestyén-Bártai Réka<sup>1</sup>, Elise Steen<sup>1</sup>, Szőke Éva<sup>1</sup>, Sándor Zoltán<sup>1</sup>, Solymár Margit<sup>2</sup>, Garami András<sup>2</sup>, Orvos Péter<sup>3,4</sup>, Tálosi László<sup>3</sup>, Helyes Zsuzsanna<sup>1</sup>, Pintér Erika<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet

<sup>2</sup>Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Transzlációs Medicina Intézet

<sup>3</sup>Rytmion Kft.

<sup>4</sup>Szegedi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet

A dialkil-poliszulfid vegyületek fehérjékkel diszulfid metabolitokat képezve befolyásolhatnak biológiai rendszereket. A módosított fehérjék egyike a TRPA1 csatorna. A TRPA1 többek között fájdalomérző idegsejtekben expresszálódik. A nociceptorok egy része neuropeptideket, köztük szomatosztatint (SOM) tartalmaz, melyek a neuron aktiválódása esetén felszabadulnak. A SOM-nak szisztémás gyulladásgátló és fájdalomcsillapító hatása van, amit sst4 receptorok közvetítenek. Megvizsgáltuk, hogy a dialkil-poliszulfid dimetil-triszulfid (DMTS) aktiválja-e a TRPA1 receptort érző neuronokban, valamint képes-e SOM-t felszabadítani peptiderg idegsejtekből. A DMTS fájdalomcsillapító és gyulladásgátló hatását hőingerrel kiváltott mechanikai hiperalgémia és karragénal előidézett lábgyulladás modellekben vizsgáltuk.

A DMTS-nek TRPA1 receptor-gén hiányos (KO) és vad típusú (WT) egerek trigeminális ganglion (TRG) sejtjeire kifejtett hatását ratiometrikus Ca<sup>2+</sup> képződéssel detektáltuk. TRPA1 csatornát expresszáló CHO sejteken jellemztük a DMTS hatását a TRPA1 receptorra patch-clamp módszerrel. A DMTS által előidézett SOM felszabadulást patkány n. vagus neuronokban vizsgáltuk radioimmunoassay módszerrel. TRPA1 és sst4 receptor WT és KO egerek egyik hátsó lábában 15 másodperces 51 °C-os hőingerrel idéztünk elő mechanikai hiperalgémia, amit dinamikus plantáris eszteziometriával mértünk 10 percenként 1 órán keresztül. Az állatokat 30 perccel a hőinger előtt kezeltük DMTS-sel (250 µ-tmol/kg, i.p.). Hasonló állattörzsek egyik hátsó lábában a talpba adott karragén injekcióval (3%, 20 µ-tL fiziológiás sóoldatban) váltottunk ki gyulladást. A mechanikai hiperalgémia az fenti módon, az ödéma képződést pletizmometriával regisztráltuk 2, 4 és 6 órával a karragén injekció után. Az egereket 30 perccel a karragén beadása előtt, majd utána óránként 6 órán keresztül kezeltük DMTS-sel (250 µ-tmol/kg, i.p.).

A DMTS a [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> emelkedését okozta TRPA1 WT TRG neuronokban. A válasz gátolható volt szelektív TRPA1 antagonistá HC-030031 segítségével, valamint hiányzott TRPA1 KO egérből származó idegsejtekben. TRPA1 csatornát expresszáló CHO sejtek koncentráció-függő kationárammal reagáltak DMTS-re, ami HC-030031-gyel gátolható volt. DMTS SOM felszabadulást idézett elő patkány vagus idegsejtekből. A hőingerrel kiváltott mechanikai hiperalgémia a DMTS kezelés TRPA1 és sst4 receptor függő módon gátolta. Karragénal előidézett mechanikai hiperalgémia esetén a DMTS gátló hatását TRPA1 csatornák közvetítették, az sst4 receptorok azonban nem vettek részt a folyamatban. A DMTS kezelés a karragénal kezelt lábak duzzadását TRPA1 receptoron keresztül gátolta.

Eredményeink igazolták feltevésünket, mely szerint a DMTS aktiválhatja a peptiderg érző idegsejtek TRPA1 receptorait és azokból SOM-t szabadíthat fel. A SOM sst4 receptorokon keresztül gátolhatja a nociceptorokat és gyulladásgátló és fájdalomcsillapító hatást közvetítve.



# AMBULÁNS ÉS OTTHONI FIZIKAI TRÉNING HATÁSÁNAK VIZSGÁLATA MAGAS KARDIOVASZKULÁRIS RIZIKÓJÚ NŐBETEGEK KÖRÉBEN

**Praksch Dóra**<sup>1</sup>, Sándor Barbara<sup>1</sup>, Kovács Dávid<sup>1</sup>, Tótsimon Kinga<sup>1</sup>, Mezey Béla<sup>1</sup>, Petrovics Péter<sup>1</sup>, Wilhelm Márta<sup>2</sup>, Késmárky Gábor<sup>1</sup>, Tóth Kálmán<sup>1</sup>, Szabados Eszter<sup>1</sup>

<sup>1</sup>PTE KK I. sz. Belgyógyászati Klinika, Pécs

<sup>2</sup>PTE TTK Sporttudományi és Testnevelési Intézet, Pécs

**Bevezetés:** A fizikai tréningnek az egészség megőrzésben, a kardiovaszkuláris betegségek primer és szekunder prevenciójában igen fontos szerepe van. Jelen vizsgálatunk célja a rendszeres fizikai tréning hatásának felmérése volt primer prevenció során.

**Módszerek:** A vizsgálat során 30 magas kardiovaszkuláris rizikójú nőbeteget (átlagéletkor:  $67,6 \pm 5,6$  év) vontunk be ambuláns és otthoni kardiológiai prevenciós tréning programba. Betegeink 3 hónapon keresztül, heti 2x45 perc fizikai tréningen, valamint otthoni ellenőrzött sétaprogramban vettek részt, melyet személyi aktivitás mérővel követtünk. A hosszú távú cél átlagosan napi 10000 lépés megtétele. A vizsgálatba jó bal kamra funkció ( $EF \geq 55\%$ ) és 5 MET feletti teljesítmény esetén kerülhettek be a betegek. A vizsgálat kezdetén és a harmadik hónap végén vizsgáltuk a hemoreológiai és laboratóriumi paramétereiket, a fizikai terhelhetőséget, valamint az angiológiai paramétereiket.

**Eredmények:** A fizikai tréning program végén szignifikáns javulást tapasztaltunk a vörösvérsejt deformabilitásban és a fibrinogén szintekben ( $p < 0,05$ ). Szignifikánsan javultak a metabolikus laboratóriumi paraméterek (HgbA1c, összkoleszterin, LDL-koleszterin, triglicerid szint) ( $p < 0,05$ ). Az ergometriai vizsgálat szignifikánsan jobb terhelhetőséget igazolt ( $p < 0,05$ ). Az angiológiai paraméterekben szignifikáns változást nem tapasztaltunk a 3 hónapos tréninget követően.

**Konklúzió:** Az ambuláns és otthoni kardiovaszkuláris tréning nagymértékben javította nőbetegeink fizikai terhelhetőségét. Szignifikánsan javultak a metabolikus laboratóriumi-, és a hemoreológiai paraméterek. Mindezen előnyös változások hozzájárulhatnak betegeink kardiovaszkuláris rizikójának csökkenéséhez.

A vizsgálatot a TÁMOP- 4.2.2. D-15 / 1 / KONV- 2015- 0009 támogatta.

# A SZELEKTÍV NCX GÁTLÓ ORM-10962 CSÖKKENTI A HYPOKALÉMIA ÁLTAL OKOZOTT SZÍVIZOM DISZFUNKCIÓT ÉS A SZÍVRITMUS-ZAVAROKAT

**Prorok János<sup>1</sup>**, Oravec Kinga<sup>1</sup>, Gazdag Péter<sup>1</sup>, Polyák Alexandra<sup>2</sup>, Takács Hedvig<sup>2</sup>, Kui Péter<sup>1</sup>, Farkas S. Attila<sup>2</sup>, Nagy Norbert<sup>3</sup>, Tóth András<sup>1</sup>, Papp J. Gyula<sup>1,3</sup>, Varró András<sup>1,3</sup>, Acsai Károly<sup>3</sup>

<sup>1</sup>SZTE ÁOK Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet, Szeged

<sup>2</sup>II.sz. Belgyógyászati Klinika és Kardiológiai Központ, Szeged

<sup>3</sup>MTA-SZTE Keringésfarmakológiai Kutatócsoport, Szeged

A hypokalémia jelentősen fokozza a szívritmus-zavarok gyakoriságát és súlyosságát. Ismert, hogy a hypokalémia növeli a sejtek intracelluláris  $Ca^{2+}$  szintjét, a  $Na^{+}/Ca^{2+}$ -exchanger (NCX)  $Ca^{2+}$ -beviteli módjának aktiválásával, ami a sejtek  $Ca^{2+}$  túlterheléséig fokozódhat. A  $Ca^{2+}$  túlterhelés eredményeként abnormális  $Ca^{2+}$  felszabadulás és késői utódepolarizációk (DAD) jelenhetnek meg, triggert adva az aritmiák kialakulásához, akár hirtelen szívhalálhoz is vezethetnek. Jelen munkánkban az NCX szelektív gátlásának esetleges kedvező hatását vizsgáltuk a hypokalémia által okozott aritmiákban, valamint az izolált szív, szívizomszövet és izolált sejt szintű eltérésekben, egy új szelektív gátlószer az ORM-10962 (ORM) segítségével.

A Langendorff kísérleteket tengerimalac és patkány szíveken végeztük, az EKG-t és a bal kamrai nyomást (LVP) folyamatosan regisztráltuk. Az akcióspotenciál méréseket patkány bal kamrai papilláris izmokon végeztük, konvencionális mikroelektrod technika segítségével. Az izolált patkányszívsejtek kontrakcióját CellContract szofverrel analizáltuk. Az NCX gátlására minden kísérleti elrendezésben  $1\mu M$  ORM-t alkalmaztunk, mely előkísérleteink alapján hatékonyan és szelektíven gátolja az NCX aktivitást.

Izolált tengerimalac szíveken a hypokalémia ( $2,7mM K^{+}$ ) növelte az LVP-t, ami  $[Ca^{2+}]_i$  növekedésre utal, melyet az ORM alkalmazása szignifikánsan gátolt. Az EKG paramétereit az ORM nem befolyásolta jelentősen. A következő kísérletsorozatban izolált patkányszíveken súlyos hypokalémiával ( $2mM K^{+}$  és  $3mM Ca^{2+}$ ) aritmiákat idéztünk elő, melyek kialakulási gyakoriságát az ORM jelentősen csökkentette. Szöveti preparátumokon a repolarizáció 90 %-ánál mért akciós potenciál időtartam (APD<sub>90</sub>) a hypokalémiás oldat perfúzióját követően szignifikánsan megnőtt, ezt az időtartam növekedést az ORM szignifikánsan gátolta. Az izolált szívizomsejteken regisztrált kontrakciókat a hypokalémia ( $2,7mM K^{+}$ ) jelentősen növelte, amely növekedést az ORM hatékonyan enyhítette.

A hypokalémiában megnövekedett LVP és az aritmia gyakoriság növekedése az irodalmi adatok szerint legalábbis részben a celluláris  $Ca^{2+}$  szint növekedésére vezethető vissza. Az ORM alkalmazása után helyreállt sejt-kontrakció, akciós potenciál időtartam és a csökkent aritmia gyakoriság arra utal, hogy hypokalémiás állapotokban az NCX gátlás védő hatású lehet a  $Ca^{2+}$  túlterhelés ellen, ezáltal megelőzve a DAD-ok által indukált életet veszélyeztető aritmiák kialakulását.

Munkánkat az ANN-113273 OTKA pályázat támogatta.

# A DIPEPTIDIL PEPTIDÁZ 4 (DPP4) SZEREPE A HYPERALGESIA KIALAKÍTÁSÁBAN ÉS FENNTARTÁSÁBAN

**Puskár Zita**<sup>1</sup>, Király Kornél<sup>1</sup>, Kozsurek Márk<sup>1</sup>, Lukácsi Erika<sup>1</sup>, Barta Benjamin<sup>1</sup>, Alpár Alán<sup>1</sup>, Balázs Tamás<sup>1</sup>, Fekete Csaba<sup>2</sup>, Helyes Zsuzsanna<sup>3</sup>, Bölcskei Kata<sup>3</sup>, Tékus Valéria<sup>3</sup>, Tóth Zsuzsanna E.<sup>1</sup>, Pap Károly<sup>1</sup>, Gerber Gábor<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Semmelweis Egyetem, Budapest*

<sup>2</sup>*MTA-KOKI, Budapest*

<sup>3</sup>*Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet, Pécsi Tudományegyetem ÁOK, Pécs*

A krónikus fájdalomállapotokban megváltozik a fájdalomérzékelés, melynek jellemzői a hyperalgesia és az allodynia megjelenése. Korábbi vizsgálataink azt mutatták, hogy a multifunkciós DPP4 fehérje gerincvelői szintű gátlása jelentős antihyperalgesias hatást mutat. A hatás helyének meghatározásához sejt és hálózati szinten vizsgáltuk a DPP4 transzkript és fehérjeszint mennyiségi változásait, kvalitatív és kvantitatív immunhisztokémiai reakciókat végeztünk, valamint specifikus receptor gátlókat alkalmaztunk a gerincvelő hátsó szarvában gyulladásos és neuropátiás körülmények között. Fiziológias körülmények között a DPP4 mRNS alacsony szintje volt detektálható, ami szignifikánsan nem változott patológiás körülmények között sem. Ugyanakkor a DPP4 fehérje szintje szignifikánsan megemelkedett gyulladásos körülmények között, de nem neuropátiában. Pontszerű DPP4 immunoreaktivitás megjelent neuronokban, astrocytákon és mikrogliaiban is. Patológiás körülmények között a DPP4 szignifikáns emelkedése volt megfigyelhető a gliasejtekben, de nem a neuronokban. A DPP4 enzimet gátló Diprotin A és Vildagliptin intrathecalis beadását követően opioid-kapcsolt antihyperalgesias hatás mutatkozott gyulladásos körülmények között és opioid-független neuropátiában. A Diprotin A hatása kizárólagosan a mu-opioid receptorhoz kapcsolódott, míg a Vildagliptin leginkább a delta-receptor működését befolyásolta, de érintette a mu- és kapa-receptorokat is. Eredményeink szerint a DPP4 hozzájárul a hyperalgesia kialakításához és fenntartásához mind gyulladásban, mind neuropatikus körülmények között, de eltérő mechanizmusokkal.

# AZ OPTIKAI ÁRAMLÁS HATÁSA A FŐEMLŐS NUCLEUS CAUDATUS MŰKÖDÉSÉRE

**Pusztai András**, Barkóczi Balázs, Katona Xénia, Gombkötő Péter, Nagy Attila  
*Szegedi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Kar Élettani Intézet*

A nucleus caudatus (NC) a bazális ganglionok egyik bemeneti struktúrája, mely szenzomotoros funkciókban vesz részt. Korábbi tanulmányok szerint a NC-ban három fő neuroncsoportot különböztethetünk meg melyek erős korrelációt mutatnak az elektrofiziológiai tulajdonságaikkal: Tüskés neuronok a fázikusan tüzelő (PAN) idegsejteknek, a GABAerg interneuronok a gyorstüzelő idegsejteknek (HFN), míg a kolinerg interneuronok a tónusosan tüzelő idegsejteknek (TAN) feleltethetők meg. Jelen tanulmányban célul tűztük ki, hogy megvizsgáljuk a vizuális információ feldolgozását a különböző NC sejtcsoportokban éber, viselkedő makákóban.

Extracelluláris multielektroda felvételeket készítettünk 16-csatornás platina-iridium elektródákkal vizuális fixációs paradigmában, miközben statikus (random pont mintázat) és dinamikus (optikai áramlás) vizuális ingereket mutattunk be. A szűretlen nyers jelből a Klusta-suite programcsalád segítségével válogattuk ki a különböző idegsejteket. Elemzéseink során az egyes NC neuronok vizuális ingerekre adott válaszait vizsgáltuk az alapaktivitáshoz képest.

Összesen 151 neuront elemeztünk, melyeket elektrofiziológiai tulajdonságaik alapján három csoportba osztottuk: 94 PAN, 40 HFN és 17 TAN neuront találtunk. Közülük 88 neuron a statikus (55 PAN, 23 HFN és 10 TAN), míg 89 idegsejt a dinamikus ingerekre (56 PAN, 23 HFN, 10 TAN) mutatkozott érzékenynek. A vizuális ingerekre adott válaszok a HFN csoportban szignifikánsan nagyobbak voltak mint a másik két neuroncsoportban.

Eredményeink szerint mindhárom neuron csoport aktivitását szignifikánsan befolyásolta a vizuális ingerlés statikus és dinamikus komponense, azonban a HFN-csoportba tartozó neuronok nettó válaszai voltak a legnagyobbak. Ez a NC feltételezetten GABAerg interneuronjainak predomináns szerepére utal a vizuális információ feldolgozásában.

Támogatók: KTIA\_13\_NAP-A-I/15

# A PACAP SZEREPÉNEK VIZSGÁLATA DIABÉTESZES NEUROPÁTIÁBAN: PERIFÉRIÁS IDEGEK FUNKCIONÁLIS ÉS ULTRASTRUKTURÁLIS ELEMZÉSE

Ábel J<sup>1\*</sup>, Antal V<sup>1\*</sup>, Kiss P<sup>1</sup>, Banki E<sup>1</sup>, Helyes Zs<sup>2</sup>, Reglódi D<sup>1\*</sup>, Pál E<sup>3\*</sup>

PTE ÁOK <sup>1</sup>Anatómiai Intézet, <sup>2</sup>Farmakológiai és Farmakoterápiás Intézet, <sup>3</sup>Neurológiai Klinika

\*megosztott szerzőség

**Bevezetés:** Számos korábbi kutatásban beszámoltak a PACAP diabéteszes retinopátiában, nefropátiában betöltött protektív hatásáról, azonban vizsgálat eddig nem foglalkozott a PACAP diabéteszes neuropátiában betöltött szerepével.

**Módszerek:** A diabétesz előidézéséhez 65 mg/tskg dózisu intravénás streptozotocin kezelést alkalmaztunk. Ezt követően két hetenként vércukor és testsúlymérést végeztünk. 8 hetes kísérlet alatt 2 naponta a KONTROLL+PACAP és DIABÉTESZ+PACAP állatoknak 20J.g PACAP-38/100ml fiziológiás sóoldatot injektáltunk intraperitoneálisan. A KONTROLL és DIABÉTESZ állatok 100 ml fiziológiás sóoldatot kaptak az előzőeknek megfelelően. Randall-Selitto funkcionális teszttel mértük a mechanikai fájdalomküszöb-csökkenést. A nervus ischiadicust fény- és elektronmikroszkóppal vizsgáltuk. Eredmények: A diabéteszes állatok vér glükóz szintje a kísérlet hetedik napjától fogva szignifikánsan magasabb volt ( $28\pm 2$ ) a kontrollcsoportokhoz viszonyítva ( $6,6\pm 0,2$ ). A streptozotocinnal kezelt állatokban mechanonociceptív ingerküszöb csökkenést igazoltunk a kontroll csoporthoz képest ( $p < 0,001$ ), valamint a DIABÉTESZ+PACAP csoportban szignifikánsan magasabb volt ( $p < 0,05$ ) az ingerküszöb a DIABÉTESZ-es csoporthoz viszonyítva. Elektronmikroszkópos analízis során a DIABÉTESZ-es állatokban szignifikánsan nagyobb százalékban ( $p < 0,0001$ ) észleltünk axon-myelin szeparációt, mint a DIABÉTESZ+PACAP csoportban. A myelinhüvely vastagságának vizsgálatánál a DIABÉTESZ-es csoportban lecsökkent a vékony rostok százalékos előfordulása a DIABÉTESZ+PACAP csoporthoz képest. Az endoneurális erek vizsgálatánál, a DIABÉTESZ csoportban szignifikáns ( $p < 0,0001$ ) lamina bazalis vastagodást találtunk a DIABÉTESZ+PACAP csoporthoz viszonyítva.

**Összefoglalás:** A funkcionális teszt neuropátia jelenlétét és a PACAP védő hatását igazolta, valamint az axon-myelin szeparáció, és a bazál membrán vastagságának tekintetében észlelt különbség is a neuropeptid jótékony hatására enged következtetni.

**Támogatás:** OTKA K104984, Nemzeti Agykutatási Program - KTIA\_13\_NAP-A-III/5, PTE ÁOK Kutatási Alap.

# A HIPERKAPNIA, AZ NMDA ÉS AZ ASZFIXIA HATÁSA AZ AGYKÉRGİ MEZŐPOTENCIÁLOKRA ÚJSZÜLÖTT MALACBAN

**Remzső Gábor**, Németh János, Tóth-Szúki Valéria, Varga Viktória,  
Kovács Viktória, Domoki Ferenc

*Szegedi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Élettani Intézet*

**Bevezetés:** A perinatális aszfixia (PA) incidenciája mintegy 4 ezrelék, az érintettek majdnem felében agykárosodás alakul ki, az ún. hipoxiás-iszkémiás enkefalopátia (HIE). A HIE patomechanizmusában az excitotoxicitás és a neurovaszkuláris egység sérülése is szerepet játszik. Kutatócsoportunk évek óta foglalkozik a PA/HIE klinikai transzlációs modellezésével sertés nagyállat modellben, azonban az agykérgi rétegek elektromos aktivitásáról kevés adattal rendelkezünk. Célul tűztük ki az agykérgi lokális mezőpotenciál (LFP) lamináris változásainak vizsgálatát PA előtt és után, ezen belül a hiperkapnia és az NMDA LFP-re gyakorolt hatását is mindkét kondícióban.

**Anyagok és módszerek:** Kísérleteinket 1,5-2,0 kg-os, altatott (Na-tiopentál, midazolam, morfin), mesterségesen lélegeztetett, hím újszülött malacokon végeztük, melyek vitális paramétereit folyamatosan monitoroztuk. A bal parietális kéreg felett (Bregma AP: -1,3 cm, ML: 1,1 cm, d=5 mm) nyitott koponyaablakot készítettünk, melyen át lamináris elektród (NeuroNexus, 16 kontakt pont, 100 µm-ként) segítségével vezettük el az LFP-t (mintavételi frekvencia 1 kS/s, 1-400 Hz sávszűrés), a referencia elektródát a frontális koponyacsontba rögzítettük. Az alap felvételét követően gradált hiperkapniát (5%-10% CO<sub>2</sub> belelegeztetés) hoztuk létre, majd NMDA-t (10<sup>-3</sup> M) juttattunk az agykéreg felszínére. PA-t hipoxiás/hiperkapniás gázkeverék lélegeztetésével (6% O<sub>2</sub>, 20% CO<sub>2</sub>; 20 min) idéztünk elő. A reoxigenizáció után 1 órával a fent említett stimuluskat megisméltük. Meghatároztuk az LFP teljesítménysűrűség spektrumát (PSD) az egyes EEG frekvenciatartományokban (delta: 1-4 Hz, théta: 4-8 Hz, alfa: 8-13 Hz, béta: 13-30 Hz), és összehasonlítottuk a különböző rétegekből regisztrált spektrumokat.

**Eredmények:** Minden rétegben a delta ill. a théta aktivitás dominált, melyet a PA jelentősen csökkentett. A hiperkapnia koncentráció-függő módon csökkentette a PSD-t a delta és théta tartományban is, legkifejezettebben a kéreg mélyebb rétegeiben (1000-1300 µm). Az NMDA azonban a felszíni rétegekben (200-500 µm) hozta létre a legkiugróbb (200-400%-os) növekedést a delta tartományban, míg aszfixiát követően hatása lényegében megszűnt.

**Konklúzió:** A hiperkapnia és az NMDA agykérgi vérátáramlásra gyakorolt hatásai jól ismertek, azonban a stimulusok agykérgi elektromos aktivitásra gyakorolt hatásai eddig feltáratlanok voltak. Eredményeink egyrészt arra utalnak, hogy a hiperkapnia még altatott malacban is befolyásolja az LFP-t, másrészt, hogy a topikálisan adott NMDA főleg a felszínhez közelebb gyakorol hatást, ami a szer kérgi penetrációjának mértékére is utalhat. Adataink hozzájárulhatnak mindkét stimulus neurovaszkuláris egységre gyakorolt hatásának jobb megértéséhez.

**Támogatók:** OTKA-K100851, Nemzeti Agykutatási Program KTIA\_13\_NAP-A-I/13, NTP-SZK0II-15

# FIBERS OF GLP-1 NEURONS ACTIVATED BY SATIETY APPROACH PROLACTIN-RELEASING PEPTIDE CONTAINING NEURONS IN THE DORSOMEDIAL HYPOTHALAMIC NUCLEUS - A COMBINED RAT AND HUMAN STUDY

**Eva Renner<sup>1,2</sup>**, **Árpád Dobolyi<sup>1,3</sup>**, **Miklós Palkovits<sup>1,2</sup>**

*<sup>1</sup>Human Brain Tissue Bank, Semmelweis University, Budapest, Hungary*

*<sup>2</sup>MTA-SE NAP Human Brain Tissue Bank Microdissection Laboratory, Semmelweis University Budapest, Hungary*

*<sup>3</sup>MTA-ELTE NAP Laboratory of Molecular and Systems Neurobiology, Institute of Biology, Eötvös Loránd University and the Hungarian Academy of Sciences, Budapest, Hungary*

A high number of neurons express c-fos in response to refeeding to satiation in fasted rats in the ventral subdivision of the hypothalamic dorsomedial nucleus (DMv), as we reported previously. We have demonstrated that the DMv contains glucagon-like peptide-1 (GLP-1)-positive nerve fibers, which originate in the nucleus of the solitary tract (NTS) as GLP-1 disappeared from the DMv after the surgical transection of the solitary-hypothalamic pathway. Furthermore, the number of activated neurons in the DMv was markedly reduced in parallel with the disappearance of GLP-1-positive fibers. In the present study, we made an attempt to identify the type of DMv neurons that are activated by GLP-1 in the DMv. We identified a neuron population in the caudal part of the DMv that expressed prolactin-releasing peptide (PrRP). We have also demonstrated that cell bodies and proximal dendrites of the PrRP neurons were closely apposed by GLP-1-immunoreactive nerve terminals suggesting synaptic connections between them. In addition, we developed in situ hybridization probes for GLP-1 receptor, which resulted in abundant labeling in the DMv following radioactive in situ hybridization histochemistry. To make a step towards the clinical applications of our findings in obesity, the distribution of GLP-1 receptor was also investigated in the human hypothalamus. Indeed, GLP-1 receptors were particularly abundant in the human DMv, too. Moreover, the expression pattern of GLP-1 receptor topographically overlapped with that of the PrRP neurons in the DMv in both species.

Finally, we showed that neurons are surrounded by other neurons activated by refeeding in fasted rats in the DMv. However, they do not show Fos-expression in this paradigm.

The findings suggest that GLP-1 and its receptor are ideally located to affect PrRP neurons in the DMv. The interesting absence of Fos in PrRP neurons following refeeding warrants further investigation of the function of the GLP-1-PrRP neuronal interaction.

Support was provided by the NAP A program for the Human Brain Tissue Bank Microdissection Laboratory, Semmelweis University and the Hungarian Academy of Sciences Budapest, Hungary.

# AZ AKUT CENTRÁLIS LEPTIN INJEKCIÓ ÉLETKOR- ÉS ELHÍZÁS-FÜGGŐ ENERGETIKAI HATÁSAI

**Rostás Ildikó**, Szakács Zsolt, Serényi Dóra, Soós Szilvia, Pétervári Erika, Balaskó Márta  
*PTE-ÁOK, Transzlációs Medicina Intézet*

**Bevezetés:** Az elhízás korunk egyik legnagyobb népegészségügyi kihívása. Az életkor előrehaladtával emberben és más emlősökben is megfigyelhető, hogy a középkorú populáció elhízásra hajlamos, míg az idősek esetében étvágytalanság és fogyás, elsősorban a hasznos izomszövet vesztese (sarcopenia) dominál. Mindezek háttérében az energiaegyensúly szabályozásában fellépő változások is felelősek lehetnek, katabolikus és anabolikus regulatórikus peptidek aktivitásának korfüggő változása feltételezhető. A leptin a zsírszövetben termelődő katabolikus peptid, az energiaegyensúly egyik legfontosabb szabályozója. Koordinált katabolikus hatása: a hypothalamusban hatva csökkenti a táplálékfelvételt (anorexigén) és növeli az anyagcserét (hipermetabolikus). Az öregedés során, ill. elhízásban is leírták leptin-rezisztencia kialakulását. Vizsgálatunk célja a centrálisan adott leptin akut, katabolikus hatásainak tanulmányozása volt a kor- és a tápláltsági állapot függvényében.

**Módszerek:** Hím Wistar patkányokat vizsgáltunk juvenilis, fiatal felnőtt, fiatal- és idősebb középkorú, öregedő és öreg (rendre 2, 3, 6, 12, 18 és 24 hónapos) normál táplálású, illetve 6 és 12 hónapos magas zsírtartalmú tápon elhízalt csoportokban. Az állatok jobb laterális agykamrájába vezetőkanült építettünk intracerebroventricularis leptin injekció (0, 1, 4 ug) adása céljából. Az injekció beadását követően az állatok anyagcseréjét és maghőmérsékletet termoelemekkel kiegészített indirekt kaloriméter rendszerben (Oxymax, Columbus OH) mértük. A táplálékfelvételt 48 órás éhezést követő 4-h újratáplálás során automata táplálékfelvétel-mérő FeedScale rendszerben regisztráltuk. Statisztikai elemzésre repeated-measures és one-way ANOVA-t alkalmaztunk.

**Eredmények:** Normál tápláltságú állatokban a leptin által kiváltott anorexigén hatás az életkorral változott: csak fiatal felnőtt és öreg állatokban volt jelentős, míg középkorú patkányokban teljesen hiányzott. Ezzel szemben az elhízott, idősebb középkorú csoport fokozott válaszkészséget mutatott. A fiatal felnőtt patkányokban szignifikáns hipermetabolikus hatás a kor előrehaladtával fokozatosan csökkent. Az elhízás tovább mérsékelte a leptinre adott hipermetabolikus válaszkészséget. Következtetések: A leptin anorexigén, illetve hipermetabolikus hatása eltérő módon változik az életkor előrehaladtával. A középkorú, normál tápláltságú állatokban leptin-rezisztencia alakult ki, míg az öreg korcsoport kifejezetten erős anorexiával reagált leptinre, hozzájárulva a középkorú elhízás és öregkori fogyás magyarázatához. Az elhízás a fiatalabb középkorú csoportban leptin-rezisztenciát idézett elő, amely azonban az elhízott, öregebb középkorú állatokban nem volt jellemző. Eredményeink felvetik a centrálisan alkalmazott leptin középkorú elhízásban való terápiás alkalmazását. (34039/KA-OTKA/13-02,13-25)



# A TRPA1 RECEPTOR SZEREPE A SCLEROSIS MULTIPLEX KÍSÉRLETES ÁLLATMODELLJÉBEN

**Sághy Éva<sup>1</sup>**, Sipos Éva<sup>2</sup>, Ács Péter<sup>2</sup>, Bölcskei Kata<sup>1</sup>, Pohóczky Krisztina<sup>1</sup>, Kemény Ágnes<sup>4</sup>, Sándor Zoltán<sup>1</sup>, Szőke Éva<sup>3</sup>, Sétáló György Jr.<sup>5</sup>, Komoly Sámuel<sup>2</sup>, Pintér Erika<sup>1</sup>

<sup>1</sup>PTE ÁOK Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet, Pécs; Szentágothai Kutatóközpont, Pécs

<sup>2</sup>PTE ÁOK Neurológiai Klinika, Pécs

<sup>3</sup>PTE ÁOK Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet, Pécs; Szentágothai Kutatóközpont, Pécs; MTA-PTE Krónikus Fájdalom Kutatócsoport, Pécs

<sup>4</sup>PTE ÁOK Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet, Pécs; PTE ÁOK Orvosi Biológia Intézet, Pécs

<sup>5</sup>PTE ÁOK Orvosi Biológia Intézet, Pécs; Jelátvitel Kutatócsoport, Szentágothai Kutatóközpont, Pécs

A szklerózis multiplex (SM) neurodegeneratív betegség, melyre autoimmun gyulladás és demielinizáció jellemző. Progresszióját gyógyszeres terápia nem képes kielégítően gátolni. A Tranziens Receptor Potenciál Ankirin 1 (TRPA1) receptor nem szelektív kationcsatorna, melynek pathofiziológiai szerepe a központi idegrendszert érintő kórképekben nem ismert. Célul tűztük ki a TRPA1 receptor expresszió meghatározását a központi idegrendszerben és szerepének felderítését a cuprizon-indukált kísérletes demielinizáció modellben, mely jól reprodukálhatóan idéz elő oligodendroglia sejt (OL) pusztulást következményes demielinizációval, elsősorban a corpus callosumban.

A TRPA1 receptor központi idegrendszeri lokalizációját fluoreszcens kettős jelölés módszerrel és qPCR vizsgálattal határoztuk meg. A demielinizációt 8 hetes hím TRPA1 vad típusú (TRPA1 WT) és TRPA1 génhányos (TRPA1 KO) egereken a táphoz kevert 0,2%-os cuprizon diétával váltottuk ki. 6 hét kezelés után a demielinizáció mértékének megítélésére Luxol Fast Blue/krezil-ibolya festést, MBP-immunhisztokémiát és Western blot vizsgálatot végeztünk. GFAP-, Iba1-, illetve APC-immunhisztokémiával követtük nyomon az asztrocitózist, makrofág reakciót, illetve az oligodendroglia apoptózist. A MAPK jelátviteli útvonalak tanulmányozása Western blot vizsgálattal történt. Növekedési faktorok, Bak és NG2 expresszió meghatározását qPCR módszerrel végeztük. A kísérlet során hetente fájdalomteszteket, motos funkciókat felmérő vizsgálatokat, open-field és Y-maze tesztet végeztünk.

Az SM pathomechanizmusában kiemelkedő szereppel rendelkező területeken (corpus callosum) az asztrocita nyúlványok expresszálják a TRPA1 receptort. A cuprizon kezelés a WT egerekben erőteljes demielinizációt, asztrocitózist és makrofág reakciót idézett elő, mely folyamatok a TRPA1 KO állatok esetében mérsékeltebben jelentkeztek. A kezelés OL-szám csökkenést idézett elő, azonban a génhányos egerek csoportjában a corpus callosumban szignifikánsan több érett OL sejtet detektáltunk. A WT cuprizon-kezelt egerek esetében fokozott p-38 MAPK aktivitást és emelkedett c-Jun expressziót detektáltunk. A génhányos egereknél a p-38 MAPK aktivitása csökkent, míg szignifikánsan emelkedett az ERK1/2 expressziója. A cuprizon-kezelt csoportban az open field tesztben fokozott lokomóciót detektáltunk. Az Y-maze tesztben a cuprizon-kezelt egerek nagyobb aktivitást mutattak, emellett rosszabbul teljesítettek a kontroll csoporthoz képest.

A TRPA1 receptor, az aktivációt követő intracelluláris Ca<sup>2+</sup> koncentráció emelésével az asztrocita funkciót modulálja, melyen keresztül az OL pro-és antiapoptotikus útvonalait képes befolyásolni. Eredményeink alapján feltételezhető, hogy a TRPA1 receptor gátlása képes lehet a SM-re jellemző degeneratív elváltozásokat enyhíteni és ezzel a TRPA1 antagonisták potenciális gyógyszerként szolgálhatnak demielinizációs kórképekben.

Támogatás: KTIA\_NAP\_13-1-2013-0001, Richter Gedeon Talentum Alapítvány

# TRPA1-RECEPTOR STIMULÁNS ALLIL- IZOTIOCIANÁT (AITC; MUSTÁROLAJ) HATÁSA EMBERI JEJUNUM PREPARÁTUMOKON

Sándor Zsolt István<sup>1</sup>, Kelemen Dezső<sup>2</sup>, Bencsik Tímea<sup>3</sup>, Papp Róbert<sup>2</sup>, Barthó Loránd<sup>1</sup>

<sup>1</sup>PTE-ÁOK Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet

<sup>2</sup>PTE-ÁOK Sebészeti Klinika, (3) PTE-ÁOK Farmakognóziái Intézet, Pécs

A TRP receptorok illetve ioncsatornák sokféle élettani és kórélettani folyamatban játszanak szerepet, pl.: nocicepció, gyulladás és hőszabályozás. A TRPA1- és TRPV1-receptorok együtt fordulnak elő az érző idegvégződéseken. Az AITC - a TRPA1-receptor agonistája - összehúzódotást produkál a tengerimalac ileumon (Barthó és mtsai, 2013), valamint egér disztális vastagbélben (Capasso és mtsai, 2011), de ezen hatások egyike sem érzékeny kapszaicin-deszenzibilizációra, sem nem gátolja őket egy TRPA1-receptor gátló, a HC 030031. A jelen tanulmány célja az AITC hatásainak vizsgálata izolált szervi elrendezésben az emberi jejunum (idegeket is tartalmazó) hosszanti simaizom preparátumon. Kísérleteinket az ETT-TUKEB engedélyezte.

Az AITC (300 µmol/l) kontrakciót okozott, amelyet a TRPA1 antagonistá HC 030031 erősen gátolt. A választ kapszaicin-deszenzibilizáció nem befolyásolta. A P2 purinoceptorok bénítása vagy tetrodotoxin (amelyek a tengerimalac vékonybélben kivédik az AITC hatását) emberi bélben nem befolyásolták a választ. Meglepetésre atropin (0.5 µM) jelentősen gátolta az AITC hatását. Hasonlóképp szkopolamin kis koncentrációi - 30 nM 68%-kal, 0.1 µM 100%-kal (n=8-8) - csökkentették, ill. kivédtek a választ, míg a kolinészteráz-bénító fizosztigmin (50 nM) fokozta 43%-kal (n=10).

Az eredmények arra engednek következtetni, hogy az AITC HC 030031-érzékeny receptorokon keresztül okoz simaizomkontrakciót humán vékonybélben. A válaszban kolinerg mechanizmus részt vesz, a Na-csatorák által közvetített - idegvezetés viszont nem.

Köszönet: A szerzők köszönettel tartoznak a PTE-ÁOK Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézetnek és a PTE ÁOK-nak. Sándor Zsolt PhD-hallgató, Bencsik Tímea a PTE-ÁOK posztdoktori ösztöndíjában részesül. Barthó és mtsai, *Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology* 2013, 113, 141-143. és mtsai, 2012, 165, 1966-1977.

# SKIZOFRÉN BETEGEKBEN A SÉRÜLT BAROREFLEX-FUNKCIÓ HÁTTERÉBEN A REFLEXÍV NEURÁLIS KOMPONENSEINEK KÁROSODÁSA ÁLL

Sárközi Adrienn<sup>1</sup>, Cseh Domonkos<sup>1</sup>, Pintér Alexandra<sup>2</sup>, Mersich Beatrix<sup>3</sup>, Kollai Márk<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Élettani Intézet, Semmelweis Egyetem, Budapest

<sup>2</sup>Családorvosi Tanszék, Semmelweis Egyetem, Budapest

<sup>3</sup>Pszichiátriai és Pszichoterápiás Klinika, Semmelweis Egyetem, Budapest

**Előzmények:** Skizofrén betegek mortalitásának gyakori oka valamely kardiovaszkuláris megbetegedés, elsősorban aritmia következtében fellépő hirtelen szívhalál. A rövidtávú vérnyomás-szabályozásért felelős baroreflex funkciójának károsodása a hirtelen szívhalál független prediktora. Skizofrén betegekben a baroreflex-érzékenység (BRS) csökkenését találták, melynek mechanizmusa nem ismert. A baroreceptor érterületek rugalmasságának csökkenése a baroreceptorok aktivitásának csökkenéséhez vezethet, ezáltal károsodhat a baroreflex-funkció. Ezen előzmények alapján jelen munkánkban azt a kérdést vizsgáltuk, hogy skizofrén betegekben a beszűkült baroreflex-funkció hátterében a baroreceptor érterületek rugalmasságának csökkenése áll-e.

**Alanyok és módszerek:** A vizsgálatban 30 frissen diagnosztizált skizofrén beteg (29±6 év), valamint 33 korban és nemből egyeztetett, egészséges kontroll alany vett részt. A BRS-t a vérnyomás és a szívfrekvencia (HR) spontán ingadozásai alapján határoztuk meg, a szisztolés vérnyomás-RR-intervallum összefüggés meredekségeként. A baroreceptor érterületek rugalmasságát az a. carotis communis disztenziabilitási koefficiensével (DC) jellemeztük. Az a. carotis communis végdiasztolés átmérőjét és pulztilis disztenzióját falmozgást követő ultrahangos módszerrel, pulzusnyomását applanációs tonométerrel mértük, majd a mért adatokból számoltuk a DC-t. A beteg és kontroll csoport adataiban mutatkozó különbséget bináris logisztikus regresszióval hasonlítottuk össze, melynek során korra és nemre (Modell I), valamint korra, nemre és HR-re korrigáltunk (Modell II). Az egyes csoportokon belül a paraméterek közti összefüggést Pearson-féle korrelációs teszttel elemeztük.

**Eredmények:** A Modell I-ben várakozásainknak megfelelően a BRS jelentős csökkenést mutatott skizofrén betegekben a kontroll csoporthoz képest (10,1±6,6† vs. 22,6±7,5 ms/Hgmm). Emellett az egészségesekhez képest emelkedett HR-t (78±10† vs. 62±8 ütés/perc) és csökkent DC-t (4,1±1,0 † vs. 5,3±1,3 10<sup>-3</sup>/Hgmm) találtunk a betegcsoportban. A Modell II-ben, a HR-re történő további korrekció után a DC nem különbözött a két csoportban (p=0,10). A DC és a BRS nem mutatott összefüggést a betegcsoportban, azonban a kontroll csoportban ezen két paraméter között pozitív korrelációt találtunk (r=0,45†). (átlag±SD; †: p<0,01)

**Következtetés:** Vizsgálatunk szerint skizofrén betegek DC-je csökkent, amit az emelkedett HR magyaráz. Skizofrén betegekben tehát a BRS csökkenésének oka nem az a. carotis disztenziabilitásának csökkenése. Feltételezhetjük, hogy a baroreflex-funkció beszűkülésének hátterében a reflexív neurális komponenseinek károsodása játszik szerepet.

# A KAPSAICIN-ÉRZÉKENY NEURONOK SZABÁLYOZÓ SZEREPE KRÓNIKUS RESTRAINT STRESSZ HATÁSÁRA KIALAKULÓ NOCICEPTÍV, VISELKEDÉSES, NEURONÁLIS ÉS IMMUNOLÓGIAI VÁLASZOKBAN, EGÉRMODELLBEN

**Scheich Bálint**<sup>1,2,3</sup>, Vincze Patricia<sup>1,2,3</sup>, Szőke Éva<sup>1,2,3,4</sup>, Borbély Éva<sup>1,2,3</sup>,  
Szentés Nikolett<sup>1,2,3</sup>, Szolcsányi János<sup>1,2,3</sup>, Dénes Ádám<sup>5</sup>, Környei Zsuzsanna<sup>5</sup>,  
Gaszner Balázs<sup>2,3,6</sup>, Helyes Zsuzsanna<sup>1,2,3,4</sup>

<sup>1</sup>Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet, Pécsi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Kar, Pécs

<sup>2</sup>Szentágotthai János Kutatóközpont, Pécsi Tudományegyetem, Pécs

<sup>3</sup>Idegtudományi Központ, Pécsi Tudományegyetem, Pécs

<sup>4</sup>MTA-PTE NAP B, Krónikus Fájdalom Kutatócsoport

<sup>5</sup>Neuroimmunológia Laboratórium, MTA Kísérleti Orvostudományi Kutatóintézet, Budapest

<sup>6</sup>Anatómiai Intézet, Pécsi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Kar, Pécs

A stressz és fájdalomérző rendszerek közti interakcióknak nagy jelentősége van különböző krónikus fájdalommal járó állapotok, például a fibromialgia kialakulásában. Ennek ellenére a pontos mechanizmusok alig ismeretek. E munkánkban a kapszaicin-érzékeny neuronok szerepét vizsgáltuk reziniferatoxin (RTX) deszenzibilizáció segítségével krónikus restraint stressz (KRS) hatására kialakuló nociceptív, viselkedéses, neuronális és immunológiai változásokban. RTX-deszenzibilizált és kontroll egerekben vizsgáltuk a 4 hetes KRS (minden nap 6 óra mozgáskorlátozás 50 ml-es, jól szellőző műanyag csövekben) hatását a mechanonociceptív és fájdalmas melegküszöb, ill. a hidegérzékenységre. A KRS végén az állatok szorongását sötét-világos doboz tesztben (LDB), depresszió-szerű viselkedésüket pedig tail suspension tesztben (TST) mértük. A KRS után az egereket perfundáltuk, majd FosB immunhisztokémiát végeztünk a krónikus neuronális aktivitás jellemzéséhez a nocicepcióban és stressz-szabályozásban fontos számos agyterületen és a gerincvelő felszínes hátsó szarvában. A perifériás szöveti citokin koncentrációk meghatározását a jobb hátsó mancsból végeztük.

A KRS jelentős mechanikai és hideg hiperalgéziát idézett elő. Meglepő módon az RTX deszenzibilizált állatokban a KRS-indukált mechanikai hiperalgézia szignifikánsan nagyobb volt. Az RTX növelte a fájdalmas melegküszöböt, amit azonban a KRS egyik csoportban sem befolyásolt. A KRS fokozta a fénypreferenciát LDB-ben előkezeletlen állatokban, ez a hatás azonban az RTX előkezelés után nem volt kimutatható. A TST-ben mutatott viselkedést sem az RTX, sem a KRS nem befolyásolta. A mellékvesék súlya nőtt, míg a csecsemőmirigy súly csökkent a krónikus stressz hatására, jelezve a hypothalamus-hypophysis-mellékvese tengely fokozott működést, amire azonban az RTX nem volt hatással. A KRS fokozta a FosB immunreaktivitást az insularis cortex-ben, ami az RTX előkezelés után nem volt látható. Az RTX a szomatoszenzoros kéregben, míg a KRS a nucleus dorsomedialis hypothalami-ban és a nucleus raphe dorsalis-ban növelte a FosB expressziót. A gerincvelő hátsó szarvában sem az RTX sem a KRS nem befolyásolta a FosB választ. Az interleukin-1a és RANTES koncentrációk a hátsó mancs szöveteiben jelentősen növekedtek az RTX előkezelés hatására, amely hatás azonban KRS után nem volt kimutatható.

Ezek az első adatok, amelyek a kapszaicin-érzékeny neuronok szabályozó szerepét bizonyítják a krónikus stressz hatására kialakuló mechanikai hiperalgéziában. Eredményeink alapján ez elsősorban az agyi fájdalom-feldolgozásban résztvevő központok aktivitásának befolyásolásához köthető. Hasonló mechanizmusok jelentősek lehetnek fibromialgiában és más krónikus fájdalomállapotokban, amelyekben a perifériás idegrendszer sérülése és a stressz fájdalomfokozó hatása egyszerre jelenlévő, fontos kórélettani komponensek.

Támogatás: Nemzeti Agykutatási Program B (MTA-PTE NAP-B Krónikus Fájdalom Kutatócsoport, KTIA\_NAP\_13-2014-0022, kutatóhely: 888819)

# PIBF VARIÁNSOK EXPRESSZIÓJÁNAK VIZSGÁLATA LEUKÉMIÁS BETEGEK ÉS EGÉSZSÉGES VÉRADÓK PERIFÉRIÁS VÉRÉBEN

**Schilli Gabriella**, Polgár Beáta

*PTE-KK Orvosi Mikrobiológia és Immunitástani Intézet*

**Bevezetés:** Kutatócsoportunk a Progeszteron Indukálta Blokkoló Faktort (PIBF) elsőként egy terhesség során termelődő, 34kDa molekulatömegű immunmodulátor fehérjeként azonosította. Későbbiekben daganatos és gyorsan szaporodó egészséges sejtekben is kimutattuk különböző molekulatömegű variánsait, valamint igazoltuk, hogy az 1-18 exon által kódolt, az irodalomban a legrészletesebben tanulmányozott PIBF-mRNS „A”-variánsról alternatív splicing-ot követően további izoformák is keletkezhetnek. Míg a 90kDa molekulatömegű PIBF-A-variáns a centrosomához kötődve részt vesz a sejtosztódás, valamint az IL-6, EGF és HB-EGF transzkripciójának szabályozásában, kisebb molekulatömegű izoformái a sejt aktivációját követően szekretálódhatnak és lokálisan immuntoleranciát okozhatnak. Legújabb kutatási eredményeink arra utalnak, hogy a PIBF szerepe jelentősen eltér különböző sejttípusokban pl.: daganatos sejtekben növeli az inváziót, míg normál sejtek esetén csökkenti.

**Célkitűzés:** Kísérleteink során arra a kérdésre kerestük a választ, hogy ennek az eltérő biológiai hatásának az oka lehet-e a PIBF mennyiségi illetve minőségi eltérése. Emellett, arra is kíváncsiak voltunk, hogy alkalmas lehet-e a PIBF mintázat vizsgálata egyes leukémiák diagnosztizálásában, esetleg a betegség súlyosságának megállapításában.

**Anyag és módszer:** Kísérleteink során leukémiás betegek és egészséges véradók perifériás vérmintájában vizsgáltuk a PIBF expresszió mintázatát mRNS és fehérje szinten. A vérmintákból Ficoll gradiensen mononukleáris sejteket izoláltunk. A sejtek lízisét követően totál RNS-t tisztítottunk, majd megfelelő enzim segítségével cDNS-é ártírtuk. Az így kapott mintákban RT-PCR segítségével 12 különböző PIBF mRNS izoforma jelenlétét vizsgáltuk. Pozitív kontrolnak MEC-1 B sejtés krónikus limfoid leukémia sejt vonalat használtunk.

**Eredmények:** A vizsgált mintákban fehérje és mRNS szinten is az „A” variáns expresszálódott a legnagyobb mennyiségben. Leukémiás betegek vérében kb. 8,5-szer magasabb volt az „A” variáns mennyisége, mint egészséges véradók mintáiban. Betegség-specifikus PIBF izoformát nem sikerült kimutatnunk.

**Következtetés:** Mivel egyik ismert izoforma sem jelent meg betegség-specifikusan, ezért feltételezhető, hogy az eltérő biológiai hatást az „A” variáns mennyiségi eltérései okozhatják. Mivel a leukémiás betegek vérében jelentősen nagyobb volt az intracelluláris PIBF mennyisége, mint kontrol vérben, így az „A” variáns mennyiségi meghatározása alkalmas lehet a betegség diagnosztizálására és progressziójának nyomon követésére.

# IDŐSEK EGÉSZSÉGI ÁLLAPOTÁNAK ÉS FITTSÉGÉNEK VIZSGÁLATA

**Schultheisz Nikolett**, Németh Judit, Wilhelm Márta

*Pécsi Tudományegyetem Egészségtudományi Doktori Iskola Pécsi Tudományegyetem Természettudományi Kar, Biológia Doktori Iskola Pécsi Tudományegyetem Természettudományi Kar, Szabadidősport és Rekreációs Tanszék*

**Bevezetés:** A magyar lakosság, azon belül is a 65 év felettek egészségi állapota meglehetősen kedvezőtlen. Ez a korosztály az, amely gyakrabban veszi igénybe a különböző egészségügyi szolgáltatásokat, ami alapvetően nagy terhet ró a társadalomra. Így gazdasági és prevenció okok miatt kutatásunk célja, az idősek fittségének vizsgálata több hetes mozgásprogram előtt és után.

**Anyag és módszerek:** A vizsgálati személyek 2 pécsi és 2 győri Szociális Otthon lakói voltak. Az alanyok egy 14 hetes mozgásprogramban vettek részt, melynek során elsősorban izomerő, ügyesség, koordináció és propriocepció fejlesztés történt. Az elemszám 100 fő volt, arányos megoszlásban, a két városban (átlagéletkor 81,19 év). A felmérések során SF-36-kérdőívet töltöttünk ki, valamint mini mentál és óra rajzoló tesztet végeztünk el. A fizikai állapot megállapítása érdekében Szenior Fitnessz tesztet és kézi szorítóerő mérést alkalmaztunk a mozgásprogram előtt és után. Ezen kívül vért vettünk az alanyoktól melyből növekedési hormon, tesztoszteron, IGF-1 hormon vizsgálatára került sor.

**Eredmények:** Eddigi eredményeink alapján a kézi szorítóerő vizsgálatban a jobb kéz szorítóerejében ( $p=0,007$ ) szignifikáns, a bal kéznél, közel szignifikáns különbség mutatkozott az első és a második mérés között. A Szenior Fitnessz teszt értékelése során, az Arm-Curl ( $p=0,018$ ) és a Chair Sit-and-Reach ( $p=0,039$ ) tesztekben találtunk szignifikáns különbséget. A 6 perces gyalogló teszt esetében az első mérés során, mért teljesítmény jóval alacsonyabb, mint az alanyoktól elvárható érték azonban az elmondható, hogy a győri otthonban vizsgált személyek eredményei jobbak voltak, mint a pécsi társaiké. A mozgásprogram végén látható némi fejlődés ebben a tesztben is. A mini mentál teszt ( $23,93\pm 4,18$ ) eredményei enyhe demenciát, az óra rajzolás ( $3,40\pm 1,68$ ) eredményei kognitív deficitet mutatnak. Elmondható az is, hogy a két város között különbséget találtunk a győri otthon lakói javára. A vérvételi eredmények kiértékelése folyamatban van. Összességében elmondható, hogy a Szenior Fitnessz teszt minden tesztjében és a kézi szorító erőben is értünk el fejlődést a mozgásprogram végére.

**Következtetés:** A fizikai aktivitás pozitívan befolyásolja az egészségi állapotot, az életminőséget. A rossz fizikai állapot még 80 éves kor fölött is megváltoztatható és javítható bizonyos mértékben, rendszeres fizikai aktivitással, így nagyban befolyásolható az életminőség még ebben a korban is.

Kulcsszavak: szenior fitnessz teszt, idősek, fizikai aktivitás, IGF-1

# FEHÉRÁLLOMÁNYI EREK MORFOLÓGIAI VIZSGÁLATA EMBERI TEMPORÁLIS LEBENY EPILEPSZIÁBAN

**Simor Sára<sup>1</sup>**, Janszky József<sup>2</sup>, Dóczy Tamás<sup>3</sup>, Seress László<sup>1</sup>, Ábrahám Hajnalka<sup>1</sup>

<sup>1</sup>PTE ÁOK Központi Elektronmikroszkópos Laboratórium

<sup>2</sup>PTE ÁOK KK Neurológiai Klinika

<sup>3</sup>PTE ÁOK KK Idegsebészeti Klinika

A fokális epilepsziák leggyakrabban előforduló formája a temporális lebeny epilepszia (TLE), amelynek hátterében legtöbbször a hippocampus sclerosis áll. Korábbi tanulmányok szerint az erek morfológiája és száma a kontrollhoz képest eltér hippocampus sclerosisban. A hippocampus mellett azonban a temporális agykéreg szürke és fehérállománya is érintett TLE-ban. Vizsgálatunk célja a betegek kérgi fehérállományában az erek morfológiai vizsgálata és az általuk elfoglalt terület meghatározása volt. Munkánkhoz gyógyszer-rezisztens TLE miatt műtétre kerülő betegekből és a kontrollként használt tumoros betegekből származó mintákat, és nem tumoros kontroll mintákat használtunk. Az agyszövetek paraffinba ágyazása után készített metszeteken az ereket PAS-festéssel tettük láthatóvá, és meghatároztuk az erek által elfoglalt területeket. Ugyanazon esetekből készült ultravékony metszeteken az erek falának ultrastruktúráját elektronmikroszkóppal vizsgáltuk.

A TLE-s és kontroll mintákban a fehérállományi erek többségét kis kapillárisok és venulák alkották. Emellett a TLE mintákban több esetben egymás melletti érkeresztmetszetet láttunk, melyek feltehetően glomeruluszerű burjánzás átmetszetei voltak. A TLE-s agykérgi fehérállományban az erek szignifikánsan nagyobb területet foglaltak el, mint kontrollban. Átlagosan a TLE betegek fehérállománya területének  $2,48 \pm 0,66\%$ -át foglalta el ér, ezzel szemben a kontrolloknál  $1,27 \pm 0,48\%$ -ot. A területegységre eső erek száma is szignifikánsan magasabb volt a TLE-s mintákban. Elektronmikroszkóppal a TLE betegek metszeteiben a bazális lamina megvastagodását, felszakadozását láttuk. Az erek körül nagy számban figyeltünk meg reaktív astrocytákat, melyek végtapjai a bazális lamina rétegei közé fúródtak. A fehérállományi erek kapcsán megfigyelt számbeli és morfológiai eltérések arra utalnak, hogy a hippocampus és a kérgi szürkeállomány mellett a fehérállomány is jelentősen érintett TLE-ban. Jelen eredmények mellett korábbi vizsgálataink a kontrollokhoz képest magasabb neuronszámot igazoltak TLE-ban, ami szintén támogatja a fehérállomány érintettségére vonatkozó következtetésünket. A megfigyelt morfológiai jellegzetességek kialakulásának valószínű okait és az irodalomban közölt korábbi adatokkal történő összevetését tárgyaljuk.

A munkát a Nemzeti Agykutatási Program támogatta (KTIA\_13\_NAP-AII/11.).

# A TRANZIENS RECEPTOR POTENCIÁL ANKYRIN-1 (TRPA1) CSATORNA SZEREPE HŐTERHELÉSBEN ÉS ENDOTOXIN ÁLTAL KIVÁLTOTT SZISZTÉMÁS GYULLADÁSBAN

**Solymár Margit**, Mikó Alexandra, Füredi Nóra, Victor Obomate Tobins, Kéringer Patrik, Khidhir Nóra, Zsiborás Csaba, Rumbus Zoltán, Garami András

*Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Transzlációs Medicina Intézet, Termofiziológia Kutatócsoport, Pécs*

**Bevezetés:** A TRPA1 csatorna bizonyítottan nem játszik szerepet a hideg környezethez való adaptációban, azonban szerepe a meleg környezethez való alkalmazkodásban még tisztázatlan. Emellett szerepe felmerült a szisztémás gyulladást kísérő láz vagy a súlyosabb szepszist kísérő hipotermia közvetítésében is. Kísérleteinkben tisztázni kívántuk a TRPA1 csatorna szerepét a meleg környezethez való adaptációban, továbbá bakteriális endotoxin (lipopoliszacharid, LPS) által kiváltott lázban és hipotermiában.

**Anyag és módszer:** A hőterheléshez való alkalmazkodás vizsgálata során a környezeti hőmérsékletet 30°C-ról 42°C-ra növeltük, majd vizsgáltuk a maghőmérséklet és a farok bőr (hőleadás indikátora) hőmérséklet változásait TRPA1 génkiütött (KO) és vad típusú egerekben. A szisztémás gyulladás hatását intraperitoneálisan adott alacsony (120 µg/kg) és magas dóziszú (5 mg/kg) LPS adagolásával vizsgáltuk. A láz kiváltásához kisdóziszú LPS adása neutrális (34°C), míg hipotermia létrehozásához a nagydóziszú LPS adása szubneutrális környezeti hőmérsékleten (26°C) történt.

**Eredmények:** Az egerek hőterhelése során nem figyeltünk meg szignifikáns eltérést a genotípusok között az egerek mag- és farok bőr hőmérsékletében (a maghőmérséklet emelkedés maximuma vad típusú egerekben  $4,3 \pm 0,3^\circ\text{C}$ , TRPA1 KO egerekben  $4,2 \pm 0,4^\circ\text{C}$ ). Várakozásainknak megfelelően kisdóziszú LPS intraperitoneális injekciója lázat váltott ki a vad típusú egerekben (a maghőmérséklet emelkedés maximuma  $1,4 \pm 0,3^\circ\text{C}$ ). A TRPA1 KO egerek lázválasza nagyon hasonló dinamikájú volt és szignifikánsan nem különbözött a vad típusú egerekben megfigyeltektől (a maghőmérséklet emelkedés maximuma  $1,4 \pm 0,5^\circ\text{C}$ ). Ezzel szemben nagydóziszú LPS adása hipotermiát hozott létre mindkét genotípusban, ami a vad típusú egerekben kifejezettebb volt, (minimuma  $-5,0 \pm 0,6^\circ\text{C}$ ) és szignifikánsan különbözött a KO egerekben mért értékektől ( $-4,0 \pm 0,8^\circ\text{C}$ ;  $p < 0,05$ ).

**Következtetés:** Egerek akut hőterheléshez való alkalmazkodásában a TRPA1 csatorna nem játszik szerepet. A TRPA1 csatorna vélhetően nem játszik szerepet az endotoxin által kiváltott láz kialakulásában, azonban jelenléte szükséges a LPS-indukálta hipotermia kialakulásához. Terveink között szerepel a csatorna szisztémás gyulladásban betöltött szerepének pontosabb feltérképezése.

**Támogatás:** A kutatást a NKFI (korábban OTKA) (PD105532) és a Pécsi Tudományegyetem Orvostudományi Kara (PTE-AOK-KA-2015-14) támogatta.



# A TRANZIENS RECEPTOR POTENCIÁL VANILLOID-1 CSATORNA ÉS KATABOLIKUS NEUROPEPTIDEK SZEREPE A KORFÜGGŐ TESTTÖMEG VÁLTOZÁSOK KIALAKULÁSÁBAN PATKÁNYOKBAN

**Solymár Margit**, Khidhir Nóra, Mikó Alexandra, Füredi Nóra, Pákai Eszter, Kéringer Patrik, Kovács Nóra, Rumbus Zoltán, Zsiborás Csaba, Garami András  
*Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Transzlációs Medicina Intézet, Termofiziológia Kutatócsoport, Pécs*

**Bevezetés:** Korábbról ismert, hogy azok az egerek, melyek genetikai állományából hiányzik a tranziens receptor potenciál vanilloid-1 (TRPV1) csatornát kódoló gén, a kor előrehaladtával szignifikánsan nagyobb testtömegűek lesznek, mint az azonos korú vad típusú társaik. A csatorna tehát szerepet játszik az életkorfüggő testtömeg változások kialakulásában. A mechanizmus tisztázásához a TRPV1 ioncsatorna hiányának hatását kapszaicinnal való deszenzitizáció után vizsgáltuk, szelektíven blokkolva a kapszaicin érzékeny nociceptív rostokat.

**Anyag és módszer:** Hím Wistar patkányoknak szubkután nagy dózisú kapszaicint (összesen ~320 mg/kg, négy egymást követő napon emelkedő dózisban), vagy vivőanyagot adtunk be két hónapos életkorban, majd három hónapos koruktól kezdve hetente mértük az állatok táplálékfelvételét és testtömegét. 6 és 24 hónapos életkorban a patkányok nyugalmi maghőmérsékletét, a hőleadást jelző farokbőr hőmérsékletet és az anyagcsere indikátoraként az oxigénfogyasztást mértük termoelemekkel és indirekt kalorimetriás módszerrel. Emellett szabadon mozgó állatokban a maghőmérsékletet és a spontán lokomotoros aktivitást biotelemetriás módszerrel regisztráltuk. Intracerebroventrikulárisan adott katabolikus neuropeptidok ( $\alpha$ -MSH és leptin) akut termoregulatorikus hatásait is vizsgáltuk.

**Eredmények:** A TRPV1 géniütött egerekkel ellentétben a kapszaicin deszenzitizált patkányok testtömege szignifikánsan alacsonyabb volt, mint az azonos korú vehikulum kezelt állatoké. A jelenség hátterében a hat hónapos deszenzitizált patkányok alacsonyabb táplálékfelvétele és szabadon mozgó körülmények között megfigyelhető magasabb éjszakai maghőmérséklete állhat mely paraméterek kevésbé voltak kifejezettek idős állatokban. Ezek mellett, a hat hónapos deszenzitizált patkányokban megfigyelhető volt mindkét katabolikus neuropeptid akut termoregulatorikus hatásának megnövekedése, míg az idős állatok esetén ilyen különbség nem volt látható.

**Következtetés:** A TRPV1 csatorna deszenzitizációja patkányokban tehát védő hatású a korfüggő elhízás kialakulásával szemben, ami a fiatal deszenzitizált állatok alacsonyabb táplálékfelvételének és magasabb maghőmérsékletének köszönhető. A változások hátterében a vizsgált katabolikus neuropeptidok ( $\alpha$ -MSH és leptin) termoregulatorikus hatásának fokozódása állhat.

**Támogatás:** OTKA PD105532, PTE-AOK-KA-2015-14.

# HOW EVOLUTION, SPORTS PERFORMANCE, AND AGEING CONVERGE FOR MOLECULAR MEDICINE: NEW THERAPIES FOR ALS VIA METABOLOMICS?

**Michael Spedding**

*Spedding Research Solutions*

Lieberman<sup>1</sup> has shown how our skeletons, and muscles evolved from tree-dwelling apes ~3 millions of years ago, to eventually become homo sapiens: we evolved to run. However the metabolic changes from hypometabolic, arboreal, foliage-eating primates to hypermetabolic, endurance-based runners were immense (~3-fold increase in VO<sub>2</sub>max !) and accompanied the changes to the skeleton, muscles, tendons – and brain<sup>2,3</sup>. So exercise isn't just pivotal to neuromuscular function, it also activates our brain, by activity-dependent mechanisms such as brain-derived neurotrophic factor (BDNF), which not only affects neuronal plasticity but also mitochondrial efficiency and particularly lipid metabolism<sup>2,3</sup>. A second evolution was also crucial in the last 100,000 years, when humans adapted to all the niches in the planet, and a third evolution in the last 100 years with modern life and diet and subsequent modern diseases. Brain evolution drove highly efficient metabolism in key brain circuits, at risk in psychiatric and neurological diseases<sup>4</sup>. We have shown, using high throughput metabolomics of >3000 lipids a specific presymptomatic lesion in lipid metabolism causing denervation in amyotrophic lateral sclerosis (ALS) in SOD1 mice and in ALS patients, allowing new therapies. This research has also major implications for sports performance and aging, as the molecular drivers for homo sapiens become clear.

1: Bramble DM, Lieberman DE. Endurance running and the evolution of Homo. *Nature*. 2004, 432, 345-52.

2: Noakes T, Spedding M. Olympics: Run for your life. *Nature*. 2012, 487, 295-6.

3: Markham A, Bains R, Franklin P, Spedding M. Changes in mitochondrial function are pivotal in neurodegenerative and psychiatric disorders: how important is BDNF? *Br J Pharmacol*. 2014, 171, 2206-29.

4: Godsil BP, Kiss JP, Spedding M, Jay TM. The hippocampal-prefrontal pathway: the weak link in psychiatric disorders? *Eur Neuropsychopharmacol*. 2013, 23, 1165-81.

# KISSPEPTIN HATÁSA A DOHÁNYZÓ FÉRFIAK VÉRLEMEZKE FUNKCIÓJÁRA

**Stumpf Csaba**<sup>1</sup>, Ónodi Ádám<sup>1</sup>, Szabó Gyula<sup>1</sup>, Pukoli Dániel<sup>3</sup>, Rajda Cecília<sup>3</sup>, Vécsei László<sup>3</sup>,  
Földesi Imre<sup>2</sup>, Ónody Rita<sup>2</sup>, Mezei Zsófia<sup>1</sup>

<sup>1</sup>SZTE ÁOK Kórleletani Intézet, Szeged

<sup>2</sup>SZTE ÁOK Laboratóriumi Medicina Intézet, Szeged

<sup>3</sup>SZTE ÁOK Neurológiai Klinika

**Bevezetés:** A vérlemezkek gyulladáshoz és immunfolyamatban, mint például az érrelmeszesedésben betöltött szerepe, már bizonyított. Az érrelmeszesedés ismert etiológiai tényezője a dohányzás. Kisspeptinnek (KP) szerepe van a kardiovaszkuláris rendszer és a hemosztázis regulálásában, valamint kimutatták jelenlétét ateroszklerotikus erekben. Kísérletünkben megvizsgáltuk, hogy a dohányzó és nem dohányzó egyének vérlemezkeinek aggregációs készsége függ-e az induktor típusától, a kisspeptin dózisától, és e hatás receptor modulátorral felfüggeszthető-e.

**Módszerek:** Vizsgálatunkban 19-26 év közötti, egészséges, gyógyszert, vagy táplálék kiegészítőt nem szedő, 9 nem dohányzó, és 7 dohányzó férfi vett részt, akik a vérvétel előtti 2 órában nem dohányozhattak. Vérlemezkek aggregációs készségét, Multiplate aggregométerrel, hirudinos teljes vérben vizsgáltuk. Aggregációt trombinreceptor aktiváló proteinnel (TRAP-6), arachidonsavval, ADP-vel indukáltunk, 0; 1,25; 2,5; 5; 10x10<sup>-8</sup> mol/L KP-13, és/vagy RF-9 antagonistá jelenlétében. Tanulmányoztuk az aggregáció sebességét (AU/min), maximumát (AU), és az aggregációs görbe alatti terület nagyságát (U). Statisztikai értékelést ANOVA-t követően, Tukey post hoc teszttel végeztünk.

**Eredmények:** Általunk vizsgált induktorok közül a TRAP-6 bizonyult a leghatásosabbnak, de a dohányzó és nem-dohányzó csoport trombocitáinak aggregációs készsége között szignifikáns eltérést nem tapasztaltunk. 5x10<sup>-8</sup> mol/L KP-13 a nem-dohányzó egyének vérlemezkeinek aggregációs aktivitását csökkentette (93,92±3,56 vs. 107,13±4,51 U) a kontrollhoz képest. Hasonló hatást észleltünk RF-9 alkalmazásakor, már 2,5x10<sup>-8</sup> mol/L peptid koncentráció esetén. Dohányosoknál egyik peptid sem idézett elő egyértelmű változást a kontrollhoz képest, azonban egyes peptidkoncentrációknál, fokozott aggregációs készséget észleltünk a nem-dohányzó egyének vérlemezkeihez viszonyítva. RF-9 előkezelés tovább fokozta a KP-13 aggregációt csökkentő hatását a nem-dohányzó egyéneknél.

**Megbeszélés:** Peptidhatás egyértelművé tehető, a dohányzás mértékét is figyelembe vevő csoportok létrehozásával, valamint az elemszám növelésével. RF-9 és KP-13 együttes alkalmazása nem-dohányzó egyének esetén szinergista hatást idézett elő, amit magyarázhat a több receptorhoz történő egyidejű kötődés. Fontosnak tartanám e vizsgálatokat beteg populációra történő kiterjesztését.

**Támogatók:** Nemzeti Agykutató Program-KTIA\_13\_NAP-A-III/8, Roche Kft.

Etikai engedély szám: 143/2015.

# ÚJ MÓDSZER BEÁLLÍTÁSA MONOMAC-6 SEJTEK MOLEKULÁRIS ÓRÁJÁNAK SZINKRONIZÁLÁSÁRA

**Südy Ágnes**, Ella Krisztina, Káldi Krisztina  
*Semmelweis Egyetem, Élettani Intézet*

A cirkadián óra szabályozza a különböző fiziológiai folyamatok közel 24 órás periódusú ritmusát, így segítve elő a szervezet adaptációját a külső környezeti tényezők napi ingadozásaihoz. A ritmusgenerálás sejtszinten zajló folyamat. A sejtekben, szövetekben működő molekuláris órákat a suprachiasmaticus magban (SCN) elhelyezkedő központi óra hozza azonos fázisba, szinkronizálja. Az SCN-ből származó közvetítő faktorokról, illetve a periférián esetlegesen felszabaduló, a szöveteken belüli óraösszehangolást biztosító sejtek közötti kommunikációról keveset tudunk.

A cirkadián óra az immunrendszer szabályozásában is fontos szerepet tölt be, zavara káros hatással van az immunfunkciókra. Az immunrendszer sejtselemei működésükben napi ritmust mutatnak, de molekuláris óráikról kevés ismerettel rendelkezünk.

A cirkadián oszcillátorok működési elve egy transzkripció-transzlációs visszacsatoláson alapul. A központi órakomponensek (BMAL1 és CLOCK) egy dimert alkotnak, mely transzkripció faktoroként az oszcillátor negatív elemeinek, a cryptochrom (cry) és a period (per) géneknek az átíródását serkenti. A képződő CRY-PER heterodimerek a magba jutva gátolják a BMAL1-CLOCK komplex működését. A CRY és PER fehérjék degradációját követően a BMAL1-CLOCK komplex felszabadul a gátlás alól és egy újabb ciklus veszi kezdetét.

Munkánk során MonoMac-6 humán monocita sejteket használtunk a sejtek közötti időbeli szinkronizáció vizsgálatára. Sikeres szinkronizáció esetén az egyes sejtekben a különböző órakomponensek ritmusos, időben azonos mintázatú kifejeződést mutatnak. Az óragének RNS expressziójának változását kvantitatív PCR technika segítségével követtük. Ezen kívül lentivírus transzfekcióval stabil MonoMac-6 klónokat hoztunk létre, melyekben a bmal1 promóteréhez kapcsolva luciferáz riporter gén található, lehetővé téve a központi óragén (bmal1) promóteraktivitásának in vivoluminszcencia mérés alapján való nyomonkövetését.

Kísérleteink alapján megállapíthatjuk, hogy a MonoMac-6 sejtek fibroblaszt sejtekkel (NIH3T3) történő együttes inkubációja sikeresen szinkronizálja a sejtek molekuláris óráit, valamint, hogy ebben a mechanizmusban nem a sejt-sejt közötti kapcsolatok kialakulása, hanem a fibroblaszt sejtek által termelt szinkronizáló faktorok játszanak szerepet.

# NYÍLT FORRÁSKÓDÚ ESZKÖZÖK HASZNÁLATA VISELKEDÉS NEUROFIZIOLÓGIAI VIZSGÁLATOKBAN

**Sviatkó Katalin**<sup>1</sup>, Laszlovszky Tamás<sup>1,2</sup>, Hegedüs Panna<sup>1</sup>, Nicola Solari<sup>1</sup>, Joshua I Sanders<sup>3,4</sup>, Hangya Balázs<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Lendület Rendszer-Neurobiológia Kutatócsoport, Magyar Tudományos Akadémia Kísérleti Orvostudományi Kutatóintézet, Budapest*

<sup>2</sup>*Pázmány Péter Katolikus Egyetem, Információs Technológiai és Bionikai Kar, Budapest,*

<sup>3</sup>*Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, New York, US*

<sup>4</sup>*The Danish Research Institute of Translational Neuroscience, Aarhus, Denmark*

Az idegsejtek miliszekundumos pontosságú akciós potenciálokkal kommunikálnak egymással, ezért csak precízen időzített felvételekből következtethetünk a működésükre. Ezen a módon vizsgálható, hogy a neuronok hogyan reprezentálják a külső ingerekre vagy belső változókra vonatkozó specifikus információkat az állatok különböző viselkedési formái alatt. Ahhoz, hogy az eredmények statisztikailag is alátámaszthatóak legyenek, az állatokkal sokszor meg kell ismételtetni a standardizált viselkedési feladatokat. Tehát a viselkedés neurofiziológiájának kettős célja van: mérni az állatok viselkedési tesztben nyújtott teljesítményét és regisztrálni a neuronális aktivitásukat.

A neuronális aktivitás időbeli pontossága jelentősen befolyásolja az alkalmazandó viselkedési feladatok körét. Csak akkor remélhetjük, hogy az akciós potenciálok időzítéséből ki lehet nyerni specifikus információkat, ha a viselkedés szempontjából releváns események - a célzott stimulálások, go-stop utasítások, jutalom-büntetés - hasonlóan precíz időbeli szabályozás alatt állnak.

Célunk, hogy bemutassunk egy megfizethető, nyílt forráskódú rendszert, amely rugalmasan alkalmazható különböző viselkedési tesztek tervezéséhez, kivitelezéséhez, neuronális regisztrációhoz és optogenetikai stimulációhoz szubmiliszekundumos hardware kontrol alatt. A rendszer főbb komponensei: (i) egyedi tervezésű, kontrolálható környezet a viselkedési tesztekhez; (ii) egy nyílt forráskódú mikrokontroller által szabályozott viselkedést ellenőrző eszköz (BPod, Joshua I Sanders); (iii) egy nyílt forráskódú adatgyűjtő rendszer (open ephys, Joshua H Siegle és Jakob Voigts); (iv) egy nyílt forráskódú számítógép által vezérelt vizuális pozíció követés (Bonsai, Goncalo Lopes); (v) nyílt forráskódú pulzus generátor (PulsePal, Joshua I Sanders); (vi) fény forrás (lézer vagy LED) és egy fény továbbító rendszer az optogenetikai stimulációhoz; (vii) szabadon hozzáférhető Matlab szoftver-csomag az adatok tárolásához és kombinált elemzéséhez (viselkedés, elektrofiziológia és optogenetika kísérletekben) (CellBase, Adam Kepecs és Balázs Hangya).

A fenti eszközparkot egy egyszerű asszociatív tanulási tesztben szemléltetjük, amely a neurofiziológusok széles körében hasznos lehet.

# SODIUM CHANNEL INHIBITOR MECHANISMS: INVESTIGATION OF TRANSIENT CONFORMATIONS ALONG THE ACTIVATION PATHWAY

**Szabó AK<sup>1,2</sup>**, Lukács P<sup>1</sup>, Földi MC<sup>1</sup>, Málnási-Csizmadia A<sup>3,4</sup>, Mike Á<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Opto-Neuropharmacology Group, MTA-ELTE NAP B, Budapest, Hungary*

<sup>2</sup>*János Szentágothai Doctoral School of Neurosciences, Semmelweis University, Budapest, Hungary*

<sup>3</sup>*Department of Biochemistry, Eötvös Loránd University, Budapest, Hungary*

<sup>4</sup>*ELTE-HAS Molecular Biophysics Research Group, Budapest, Hungary*

Sodium channel inhibitors are important therapeutic agents as local anesthetics, antiepileptics, antiarrhythmics, analgesics, neuroprotective agents, etc. They exert their effect both by channel block and by channel modulation, i.e., stabilization of non-conducting states. The respective contribution of the two mechanisms is under debate. Sodium channel inhibitors can be classified into distinct types, based on their mechanism of action, and it is primarily their mechanism of action that determines their therapeutic applicability. For this reason it is important to study how individual sodium channel inhibitors act.

The local anesthetic lidocaine and the neuroprotective riluzole both have been shown to have an extremely fast onset of inhibition. In the case of lidocaine it has been proposed that preferential binding to a transient subconducting state may explain the rapid phase of onset. We investigated if this mechanism can explain the pattern of inhibition in the case of both drugs. We performed kinetic simulations using different kinetic models of the sodium channel. Parameters were fitted to the results of whole-cell patch clamp experiments with an Nav1.2 expressing cell line.

We found that for lidocaine the preferential binding to the subconducting state improved performance of the kinetic model, resulting in a more accurate reproduction of experimental data in simulations. However, the same mechanism failed to explain the experimentally observed inhibition pattern for the case of riluzole. In that case we had to suppose two distinct binding sites: a low-affinity-low-accessibility site, which was available at all membrane potentials; and a high-affinity-high-accessibility site, which was being formed upon depolarization.

It is problematic to distinguish between voltage-dependent binding of a drug and modulation of voltage-dependent gating by the bound drug. We therefore used a photoactivatable riluzole analog, which could be covalently bound to the channel. In the absence of UV light the compound caused an inhibition which involved modulation of gating similarly to riluzole. After photo-activation, a fraction of the channels was constantly inhibited (probably blocked) by the covalently bound riluzole analog, but another fraction could be relieved of the inhibition by strong hyperpolarization, indicating that part of the inhibition was due to modulation of gating.

# A KÉNHYDROGÉN ÉLETTANI ES KÓRÉLETTANI SZEREPE A MITOKONDRIÁLIS FUNKCIÓ SZABÁLYOZÁSÁBAN

**Szabó Csaba**

*Department of Anesthesiology, University of Texas Medical Branch, Galveston, Texas, USA*

**Bevezetés:** A kénhidrogén (H<sub>2</sub>S), a nitrogén monoxiddal és a szénmonoxiddal együtt, a gázhalmazállapotú biológiai mediátorok („gasotransmitterek”) csoportjába tartozik. A jelen előadásban a H<sub>2</sub>S élettani es kórélettani szerepe kerül áttekintésre a mitokondriális funkció szabályozásában.

**Anyag és módszer:** Eredeti kísérletek és az irodalomban, mások által közölt publikációk áttekintése, összegzése, kritikus analízise.

**Eredmények:** Az elmúlt tíz év kísérletes munkái kimutatták, hogy a H<sub>2</sub>S, élettani körülmények között, számos biológiai folyamatot szabályoz a kardiovaszkuláris rendszerben, az idegrendszerben, és az immunrendszerben. Jelentősen átértékelődött a H<sub>2</sub>S szerepe a sejtbioenergetika szabályozásában. Míg korábban toxikus molekulaként jellemezték (a 4. sz. mitokondriális komplex gátlása révén), ma már bizonyított, hogy alacsonyabb koncentrációban (endogén enzimrendszerek által termelve) a H<sub>2</sub>S fokozza a mitokondriális elektrontranszportot, mert elektronokat ad a 2. sz. komplexhez, valamint gátolja a mitokondriális cAMP foszfodiestert. E folyamatok kórélettani jelentősége hogy egyes kórállapotokban (pl. cukorbetegség) a mitokondriális H<sub>2</sub>S szint lecsökken, és ez sejt-diszfunkciót okoz. Fiziológias öregedésben is hasonló folyamatok zajlanak. Más betegségekben (pl. bélrák, petefészekrák) a ráksejtekben megemelkedik a H<sub>2</sub>S-termelő enzimek szintje, és ezen sejtek a H<sub>2</sub>S-t „használják” bioenergetikájuk és proliferációjuk támogatására.

**Következtetés:** Egyes kórállapotokban (pl. cukorbetegség) a H<sub>2</sub>S donációja lehet terápiás hatású (az előadásban bemutatásra kerül a mitokondriális H<sub>2</sub>S donor molekula hatása in vitro és in vivo), míg más kórállapotokban (egyes rákok) a H<sub>2</sub>S szintézisének gátlása lehet terápiás hatású (az előadásban bemutatásra kerül a ráksejtekben felhalmozódó H<sub>2</sub>S-termelő enzim, a cisztation-béta-szintetáz gátló molekulák hatása in vitro és in vivo).

# INGERGAZDAG KÖRNYEZET KÉSŐI HATÁSA RETINÁLIS KÁROSODÁSBAN PRENATALIS STRESSZHATÁST KÖVETŐEN

**Szabó Edina**<sup>1</sup>, Kvárik Tímea<sup>1,2</sup>, Reglődi Dóra<sup>1</sup>, Farkas Kinga<sup>1</sup>, Ertl Tibor<sup>2</sup>, Gyarmati Judit<sup>2</sup>,  
Váczy Alexandra<sup>1</sup>, Atlasz Tamás<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>MTA-PTE ÁOK Anatómiai Intézet, PACAP „Lendület” Kutatócsoport, Pécs

<sup>2</sup>PTE ÁOK Szülészeti és Nőgyógyászati Klinika, Pécs

<sup>3</sup>PTE TTK Sporttudományi és Testnevelési Intézet, Pécs

A várandós időszak alatti stressz a magzat testi és szellemi fejlődésére is hatással van. A prenatális stressz nagy valószínűséggel befolyásolja az utód idegrendszeri, cardiovascularis és metabolikus fejlődését. Az ingergazdag környezet jótékony hatásával már számos kutatás foglalkozott. Kimutatták védő hatását traumás, ischémiás és toxikus idegrendszeri károsodás esetén is. Kutatásunk célja az ingergazdag környezet retinoprotektív hatásának vizsgálata ischaemiás károsodáson átesett prenatális stressznek kitett állatokon. Kísérleteinkben vemhes Wistar patkányokat restraint stressznek tettük ki naponta kétszer, 7 napon át a vemhesség időszakában. A restraint stresszt a patkány mozgásának korlátozásával értük el. Az utódok egy részén 3 hónapos korban kétoldali a. carotis communis okklúziós (BCCAO) műtétet hajtottunk végre, majd a műtött állatok egy részét ingergazdag környezetbe helyeztük 2 hétre. Összesen 8 csoportot vizsgáltunk: kontroll vagy prenatálisan stresszelt állat és BCCAO műtött vagy nem műtött, illetve ingergazdag környezetbe helyezett vagy nem helyezett. Ezután a retinából szövettani metszeteket készítettünk és meghatároztuk a teljes retinavastagságot (OLM-ILM), valamint a különböző rétegek (ONL, OPL, INL, IPL) vastagságát. Az így nyert adatok statisztikai analíziséhez MANOVA módszert alkalmaztunk. Eredményeink azt mutatják, hogy a prenatálisan stresszelt állatok ugyanolyan mértékű retinális károsodást szenvedtek a BCCAO modellben, mint a nem stresszelt csoport. Morfológiai és morfometriai vizsgálataink alapján igazoltuk, hogy az ingergazdag környezet BCCAO indukálta károsodásban retinoprotektív hatással rendelkezik (OLM-ILM, IPL tekintetében). Méréseink alapján elmondhatjuk, hogy a méhen belül történt stresszhatás nincs közvetlen kihatással a retina szerkezetére, azonban az ingergazdag környezet protektív hatása bizonyított.

Támogatók: OTKAK104984, KTIA\_NAP\_13-1-2013-0001, PTE ÁOK Kutatási Grant, Bolyai János Kutatási Ösztöndíj, Astellas Pályázat



# A GLUKÓZ-MONITOROZÓ NEURONOK KOMPLEX FUNKCIONÁLIS SAJÁTÓSSÁGAI A MEDIALIS ORBITOFRONTALIS KÉREGBEN

**Szabó István<sup>1</sup>**, Hormay Edina<sup>1</sup>, Csetényi Bettina<sup>1</sup>, Nagy Bernadett<sup>1</sup>, Karádi Zoltán<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Pécsi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Kar, Élettani Intézet, Pécs

<sup>2</sup>Pécsi Tudományegyetem Szentágotthai János Kutatóközpont, Pécs

Az előagyi limbikus rendszer részeként a medialis orbitofrontalis kéreg (mOBF) fontos szerepet tölt be a táplálkozás és az anyagcsere központi szabályozásában. A glukóz intracerebrális extracelluláris szintjét érzékelő, és ezáltal tüzelési frekvenciájukat megváltoztató glukóz-monitorozó (GM) neuronok ezen funkciókban sokrétűen érintettek. Jelen vizsgálatainkban a mOBF GM idegsejtjeinek endogén és exogén kémiai érzékenységét tanulmányoztuk, valamint ezen neuronok elpusztítását követő metabolikus és magatartási hatásokat vizsgáltuk.

Elektrofiziológiai kísérleteink során altatott hím Sprague-Dawley patkányok mOBF-ből extracelluláris egysejt-tevékenységet vezettünk el wolfram szálalású multibarrel mikroelektrodával 1) kémiai anyagok (D-glukóz, noradrenalin, dopamin, GABA, acetilkolin) mikroelektroforetikus beadása, valamint 2) az öt alapízzel (szukróz, NaCl, kinin, HCl, nátrium-glutamát) és egy komplex ízzel (narancslé) végzett gusztatórikus stimuláció során.

Metabolikus és magatartási kutatásainkban hím Wistar patkányok mOBF-ébe a D-glukóz-hoz hasonló szerkezetű, a GM sejteket szelektíven elpusztító streptozotocint (STZ) injektáltunk. Ezt követően metabolit méréseket, valamint glukóz tolerancia, kondicionált íz-averziós és íz-reaktivitási teszteket végeztünk. A vizsgált sejtek ötöde bizonyult GM neuronnak a mOBF-ben, vagyis ezen sejtek megváltoztatták tüzelési frekvenciájukat D-glukóz intracerebrális beadására. Ezen struktúrában az Ach-ra volt a legnagyobb az idegsejtek válaszkészsége, míg DA-ra kb. 40%-ban változott az aktivitás. GABA adásakor a neuronok több mint fele gátlódott, a NA-ra negyedrészüket változtatta meg tüzelési frekvenciáját. Az íz-ingerlések hatására a vizsgált sejtek 60%-ában módosult az aktivitás a savanyú, az umami, a keserű ízre és a narancslére, a sós ízre a neuronok harmada, az édesre negyede válaszolt.

A mOBF GM idegsejtjeinek STZ-nal való elpusztítása után a kontroll csoporthoz viszonyítva a vér általunk vizsgált metabolit értékei (vércukor, húgysav, HDL, triglicerid, albumin) között nem találtunk jelentős eltérést. A glukóz tolerancia tesztben a STZ kezelt állatok vércukor szintváltozásának a dinamikája eltérő, lassabb volt a vivőanyagot kapott állatokéinál. Kondicionált íz-averzió kialakulásában nem volt kimutatható különbség a két csoport között. Az íz-reaktivitási tesztben a STZ kezelt állatok mind a kellemes, mind a kellemetlen ízek esetében több ingerstívet és kevesebb averzív mintázatot mutattak a kontroll csoporthoz viszonyítva.

Eredményeink arra utalnak, hogy a mOBF GM neuronjai az endogén és exogén környezetből származó kémiai és egyéb jelek integrációjával kulcsszerepet játszanak a táplálkozás és a metabolizmus központi idegrendszeri szabályozásában.

Támogatás: Ajinomoto 51064/2009, PTE ÁOK KA 2013/34039/1.

# METABOLIKUS, GYULLADÁSOS ÉS KARDIOVASZKULÁRIS ELTÉRÉSEK VIZSGÁLATA ÖSZTROGÉNHIÁNYOS ÁLLAPOTOKBAN

**Szabó Renáta**, Veszélka Médea, Csonka Anett, Kupai Krisztina, Börzsei Denise, Szűcs Gergő, Török Szilvia, Amin Al-Awar, Magyariné Berkó Anikó, Varga Csaba, Pósa Anikó  
*Szegedi Tudományegyetem, Természettudományi és Informatikai Kar, Élettani, Szervezettani és Idegtudományi Tanszék, Fiziológiai és GLP toxikológiai labor*

**Bevezetés:** A kardiovaszkuláris megbetegedések és metabolikus rendellenességek incidenciájának növekedése szoros összefüggést mutat a posztreproduktív időszak ösztrogénszint csökkenésével. A posztmenopauzális panaszok kezelésére irányuló megoldások keresése az elmúlt évtizedek óta intenzív kutatás alatt áll.

**Célkitűzések:** Munkánk célja a csökkent ösztrogén szint keringési és gyulladásos paraméterekre gyakorolt hatásának meghatározása állatkísérletes modellekben, továbbá az ösztrogénhiány és az életmód (táplálkozás, testmozgás) kapcsolatának vizsgálata kísérletes menopauzában.

**Módszerek:** A természetes és kísérletes menopauza hatásait 24 hónapos ovárium-intakt (idős); 4 hónapos, sebészi ovariektómián (OVX) és 4 hónapos, farmakológiai ovariektómián (POVX, 750 µg/kg triptorelin, i.m.) átesett nőstény Wistar patkányokon vizsgáltuk. Meghatároztuk az interleukin-6 (IL-6) és a tumor nekrozis faktor-alfa (TNF-α) gyulladáskeltő citokinek expresszióját; a mieloperoxidáz (MPO) és hem-oxigenáz (HO) enzimek aktivitását; a HO-1/ HO-2 izoenzimek expresszióját; valamint az ST depresszió alapján a szívizom iszkémiára való hajlamot. Továbbá, 12 hetes periódus során, OVX nőstényekben vizsgáltuk a szabadidős testmozgás és a diéta (CTRL, normál táp; HT, magas triglicerid tartalmú diéta; CR, kalóriamegvonás) befolyásoló hatásait a metabolikus (vércukor, inzulin, leptin, triglicerid) és gyulladásos (MPO aktivitás, TNF-α) paraméterek tekintetében. Keringési paraméterek közül meghatároztuk a HO enzim aktivitását és a HO-1 izoforma expresszióját, valamint 30 perces koronária lekötést követő 120 perc reperfúzió után az infarktusos terület nagyságát.

**Eredmények:** Természetes és kísérletes menopauzát követően emelkedtek az IL-6, TNF-α és MPO gyulladásos markerek értékei; csökkent a HO enzim aktivitása és a HO-1/ HO-2 izoformák expressziója, valamint súlyosbodott a szívizom iszkémiára való hajlam. Az OVX és zsírdús diéta következtében emelkedtek a metabolikus és gyulladásos paraméterek értékei, azonban ezt a 12 hetes szabadidős testmozgás és CR diéta jelentősen csökkentette. A 12 hetes rekreatív testmozgás kedvezően befolyásolta a HO enzim aktivitását és expresszióját, valamint szignifikánsan csökkent az infarktusos terület nagysága.

**Összefoglalás:** Eredményeinkkel igazoltuk, hogy az ösztrogénhiány és a magas triglicerid tartalmú diéta következtében kialakuló kardiovaszkuláris rizikó szoros összefüggésbe hozható a gyulladásos folyamatok kialakulásával, valamint az antioxidáns rendszerek csökkent működésével. Ezen hatások nem-farmakológias kezelési módszere lehet a rendszeres testmozgás, illetve a csökkentett kalóriabevittel történő életmódváltás.

A kutatás a TÁMOP 4.2.4.A/2-11-1-2012-0001 Nemzeti Kiválóság Program című kiemelt projekt keretében zajlott. A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.

# TRAUMATIC BRAIN INJURY IMPAIRS MYOGENIC CONSTRICTION OF RAT CEREBRAL ARTERIES BY MITOCHONDRIA- DERIVED H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-DEPENDENT ACTIVATION OF CALCIUM-ACTIVATED POTASSIUM (BK) CHANNELS

**Nikolett Szarka**<sup>1,2</sup>, Krisztina Amrein<sup>1</sup>, Endre Czeiter<sup>1</sup>, Zoltan Ungvari<sup>5</sup>, Andras Buki<sup>1</sup>, Akos Koller<sup>1,3,4</sup>, Peter Toth<sup>1,2,5</sup>

<sup>1</sup>*Department of Neurosurgery and Szentagothai Research Center, University of Pecs, Hungary*

<sup>2</sup>*Department of Translational Medicine, University of Pecs, Hungary*

<sup>3</sup>*University of Physical Education, Budapest, Hungary*

<sup>4</sup>*Department of Physiology, New York Medical College, Valhalla NY, USA*

<sup>5</sup>*Reynolds Oklahoma Center on Aging, University of Oklahoma HSC, Oklahoma City OK, USA*

Traumatic brain injury (TBI) impairs pressure-induced myogenic constriction of cerebral arteries which contributes to TBI-related autoregulatory dysfunction and the development of secondary brain injury. TBI has been shown to lead to mitochondrial oxidative stress in cerebral vessels, which likely contributes to secondary brain injury, as well. Despite of these findings the TBI- induced mechanisms responsible for impaired myogenic responses of cerebral arteries are not well understood. We hypothesized that TBI-induced mitochondrial oxidative stress activates dilator mechanisms within the vascular wall which impair pressure-induced constriction. We generated brain injury in WKY rats using the weight-drop technique, and 24 hours after severe TBI we found that myogenic responses of isolated middle cerebral arteries (MCAs) of TBI rats were blunted compared to control. The impaired myogenic responses of MCAs were restored after inhibiting mitochondrial oxidative stress (mitoTEMPO), eliminating H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (PEG catalase) and blocking large-conductance calcium-activated potassium (BK) channels by paxilline. Paxilline diminished H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced dilations of MCAs from TBI rats, as well. Our results suggest that after TBI mitochondria-derived H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> activates BK channels in the cerebrovascular wall, which diminishes pressure-induced constriction of cerebral vessels. Future studies should explore the link between H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and BK channels, as well as further studies should elucidate the potential of inhibiting these vascular pathways in prevention of TBI-related secondary brain damage and in the therapy of patients suffered traumatic brain injury.

Keywords: TBI, myogenic response, autoregulatory dysfunction, intracranial hypertension

# FIZIKAI TERHELÉS ÉS ÉRFAL REMODELING: KÉRDÉSEK ÉS AKTUALITÁSOK

**Szekeres Mária**, Nádas György, Dörnyei Gabriella, Koller Ákos

*Morfológiai és Fiziológiai Tanszék, Semmelweis Egyetem, ETK, SE-MTA Molekuláris Élettani Kutatócsoport, Élettani Intézet, Semmelweis Egyetem, ÁOK, Budapest, Természettudományi Intézet, Sportgenetikai és Sportgerontológiai Csoport, Testnevelési Egyetem, Budapest*

A kardiovaszkuláris megbetegedések (KVM) a halálozási okok jelentős részét teszik ki a népességben, melyek kockázati tényezőit jelentősen növeli a rendszeres fizikai aktivitás (RFA) hiánya. A mozgáshiányos életmód kimutathatóan növeli az erek falának merevséget és rontja az erek vasomotor működését. Izommunka hatására a vérkeringés jelentősen átrendeződik. A megnövekedett kardiális oxigén igényt a koszorúerek áramlásának fokozódása elégíti ki, ami a fizikai megterhelés után is kedvezően befolyásolja a szívizom működését és vérkeringését. Állatkísérletekben kimutatták, hogy már néhány hétig végzett rendszeres fizikai aktivitás a koszorúerekben csökkenti az oxidatív stresszt, csökkenti az  $\alpha$ -adrenerg receptor aktivitást és javítja a nitrogén monoxid (NO)-függő vazodilatátor kapacitást. Továbbá, RFA-ban fokozódik a koronária arteriolák miogén tónusa a megnövekedett PKC-függő jelátvitel következtében. Ezen folyamatok által az erekben csökken a falfeszülés, a megnövekedett miogén tónus és NO-függő vazodilatációs képesség által pedig javul a koszorúerek dilatációs és konstriktív rezerve. A perifériás erekben csökken a nyugalmi vasomotor tónus, aminek hatására csökken a nyugalmi vérnyomás. A RFA tovább fokozza a koszorúerek angiogenezisét, ezáltal a szívizom kapilláris ellátottságát és a szöveti tápanyag- és folyadék kicserélődés hatékonyságát. Ezen tényezők egyaránt fokozzák, kóros esetekben pedig javítják a koszorúerek és a szívizom funkcionális működését. A RFA hatására a vázizmok ereiben is megnő a vazodilatációs rezerv kapacitás, mely során növekszik az áramlás és az NO-, illetve a vazodilatátor prosztanoidok szerepe, valamint megváltoznak a génexpressziós folyamatok. RFA nemcsak az aktív izmokban (szív és működő vázizmok) gyakorol kedvező érhatásokat, hanem a passzív érterületeken is. A RFA tovább csökkenti a KVM rizikótényezőit azáltal, hogy az egészséges életmód komplex hatásaként csökken az obesitas és a metabolikus szindróma kialakulásának lehetősége is. Diabetes mellitusban RFA kedvezően befolyásolja az izomzat ereinek inzulin-függő jelátvitelét és glükóz felvételét.

Összességében, a KVM rizikótényezőinek csökkentése nemcsak egészségesek esetében, hanem KVM-ben szenvedő betegekben is kedvezően befolyásolja a szív- és érrendszer állapotát, ezért a RFA egyes rehabilitációs programok kiegészítő terápiájaként is alkalmazható. Jelen előadás - a legújabb kutatási eredmények tükrében - összefoglalja a RFA hatását az egyes érterületek szerkezeti és funkcionális adaptációjára.

Támogatás: OTKA 116954, NFKI-OTKA K-108444

# CB1 KANNABINOID RECEPTOROK HIÁNYA KIVÉDI AZ ÉRFUNKCIÓ ROMLÁSÁT ANGIOTENZIN II-INDUKÁLTA HIPERTÓNIÁBAN

**Szekeres Mária**<sup>1,2</sup>, Dézsi László<sup>3</sup>, Szénási Gábor<sup>4</sup>, Bukosza Nóra<sup>4</sup>, Nádasy György<sup>5</sup>, Soltész-Katona Eszter<sup>5</sup>, Buday Anna<sup>4</sup>, Réti Csaba<sup>5</sup>, Tóth Annamária<sup>4</sup>, Tod Pál<sup>4</sup>, Hamar Péter<sup>4</sup>, Hunyady László<sup>1,5</sup>

<sup>1</sup>SE-MTA Molekuláris Élettani Kutatócsoport

<sup>2</sup>Morfológiai és Fiziológiai Tanszék, Semmelweis Egyetem, ETK

<sup>3</sup>Nanomedicina Kutató és Oktató Központ

<sup>4</sup>Kórélettani Intézet

<sup>5</sup>Élettani Intézet, Semmelweis Egyetem, ÁOK, Budapest

A hipertónia népbetegség, amelynek számos formájában az angiotenzin II (AngII) fontos szerepet játszik. Korábban kimutattuk, hogy az AngII vazokonstriktós hatását a jelátvitel során felszabaduló endokannabinoidok a CB1 kannabinoid receptorokon (CB1R) mérsékelik. Ismert továbbá, hogy az AngII hosszabb távú érhatásaiban a NADPH oxidáz (NOX)-függő szuperoxid termelése is részt vesz. Jelen kérdéseink a következők: 1. Milyen szerepet játszanak az AngII-indukálta hipertónia patomechanizmusában a CB1 receptorok? 2. CB1R jelenléte befolyásolja-e a NOX-függő érelváltozásokat? Kísérleteinket hím C57BL/6N, CB1R knockout (KO) és vad típusú (VT) egereken végeztük. Az egerekben szubkután ozmotikus pumpa beültetéssel két hétig egyenletes AngII leadást (800 ng/kg/min) biztosítottunk. Az állatok vérnyomásának változását telemetriás módszerrel követtük. Altatás után (ketamin/xylazin) az egerek aortáit miográfiás vizsgálatok céljára eltávolítottuk. Az aorták kontrakciós képességét fenilefrin (Phe), AngII, arginin-vazopresszin (AVP), az endotél-függő vazorelaxációt acetilkolin (ACh) adásával teszteltük. A kontrakciós és relaxációs méréseket a NOX specifikus gátlása mellett (VAS2870) megismételtük. AngII-kezelés a vérnyomást szignifikánsan növelte (középnomás:  $104 \pm 1,6$ , kezelt:  $133 \pm 3,4$  Hgmm a VT csoportban,  $p < 0,01$ ). AngII kontrakciós hatása VT hipertóniás és CB1R-KO normotenzív egerek aortáiban egyaránt megnőtt, ami KO-hipertóniás állatokban elmaradt. ACh-relaxáció VT hipertóniás egerekben csökkent, de CB1R-hiány ezt kivédte. AVP-kontrakció CB1R-hiányban fokozódott, ami két hetes AngII-kezelés hatására a KO egerekben jelentősen csökkent. NOX-gátló kezelés normotenzív VT és hipertóniás KO egerekben egyaránt csökkentette a Phe-indukálta kontrakciót. Eredményeink arra utalnak, hogy az Ang II-indukálta hipertónia következtében romló érfunkciós elváltozásokat a CB1R-hiány javítja, ami felveti a szelektív CB1R gátlás terápiás alkalmazásának lehetőségét hipertóniában. Emellett a NOX-függő folyamatok szerepe Ang II-hipertóniában csökken, CB1R hiányban azonban megnő. Megfigyeléseink alátámasztják azt a hipotézisünket, hogy a kannabinoid rendszer befolyásolja az erek agonista-érzékenységét Ang II-indukálta hipertóniában.

Kutatási támogatás: OTKA 116954, OTKA-ANN-110810

# AZ AGYI VÉNÁS EREK VASOMOTOR SZEREPE: IRODALMI ÖSSZEFOGLALÓ

**Szénási Annamária<sup>1</sup>, Koller Ákos<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>*Kórleletani Intézet, ÁOK, Semmelweis Egyetem, Budapest*

<sup>2</sup>*Természettudományi Intézet, Sportgenetikai és Sportgerontológiai Kutatócsoport, Testnevelési Egyetem, Budapest*

Az agyi artériák szerepét és fontosságát az agyi vérkeringés szabályozásában már számos kutatás feltárta. S bár a vénás betegségek előfordulása és az abból adódó komplikációk meghaladják az artériás betegségekét, kevés adat van az agyi vénás erek működésével kapcsolatban. Az eddigi ismerteket a szakirodalom áttekintésével összegeztük (Hardebo JE et al, Ivanon AI et al, stb. alapján): Macska agyi vénán fluoreszcenciás hisztokémiai, elektronmikroszkópos, és in vitro vizsgálattal megállapították, hogy a pialis vénák, choroid plexus vénák és a cerebri magna (Galenus-féle véna) fala folytonos endotheliális rétegből áll, amely nagy mennyiségben tartalmaz kollagént és megfigyelhetőek voltak rajta periciták. Simaizom sejteket csak a magna cerebri vénában figyeltek meg. Izolált magna cerebri vénák in vitro körülmények között KCl és noradrenalin hatására összehúzódtak, míg a piális vénák esetében ez a konstriktó jóval kisebb volt. Az agyi vénákat adrenerg idegrostok hálózják be és körülöttek, a perivaszkuláris idegrostokban neuropeptid Y (NPY) -szerű immunreaktivitást azonosítottak. Az agyi vénákat beidegző idegrostokban noradrenalin és vazóaktív intesztinális polipeptid beidegzést (VIP) kimutattak. A hisztamin receptor mechanizmusok befolyásolják az agyi venodilatációt, a kísérlet során megállapították, hogy a pialis vénák esetében a hisztamin termelés megfigyelhető a nyugalomban lévő vénáknál, H2 receptorok által, melyek megtalálhatóak valószínűleg a simaizomban, a hisztamin H1 és H3 receptor nem vesz részt a mechanizmusban (az endothelium, a nitrogén-monoxid és a prosztanoidok közvetítése nélkül). In vivo vizsgálták a Ca<sup>2+</sup> blokkoló nilvadipin hatását az agyi felületi mikroerekre patkányokban. Az eredmények azt sugallják, hogy lehetséges a nilvadipin-indukált agyi véráramlás növekedés fiziológiás körülmények között. Vasomotor reaktivitás vizsgálatát is elvégezték humán piális vénákon in vitro tanulmányok és neurológiai műtétek összehasonlításával. Mely esetben megállapították, hogy a vénáknak több szenzitív adrenerg receptora van, mint az artériáknak. Az acetilkolin endothelium függő dilatációt okoz a piális artériában, és kontrakciót okozott a vénákban, annak ellenére, hogy az endothelium sértetlen volt. A dilatációs válaszokat a vazóaktív intesztinális polipeptidnek és a P anyagnál mutattak ki, mely azonban kevésbé volt jelentős a vénákban, mint az artériákban.

Mindezek alapján elmondható, hogy az agyi vénák vasomotor működését szabályozó mechanizmusokról vannak kutatási eredmények, azonban fontos a további kutatások végzése az élettani jelentőségük megalapozására.

Támogatás: Országos Tudományos Kutatási Alap (NFKI-OTKA K-108444).

Kulcsszavak: agyi keringés, véna, vasomotor válaszok, neurális szabályozás

# AZ ÉP VESE KÉSŐI ELTÁVOLÍTÁSA LEÁLLÍTJA A FIBRÓZIS PROGRESSZIÓJÁT A KÁROSODOTT VESÉBEN EGYOLDALI ISCHEMIA-REPERFÚZIÓ UTÁN

**Szénási Gábor**, Bukosza É. Nóra, Kaucsár Tamás, Godó Mária, Hamar Péter  
*Kórélettani Intézet, Semmelweis Egyetem, Budapest*

**Bevezetés:** A nefrektómiával kombinált egyoldali vagy mindkét vesét érintő ischemia-reperfúzió (IR) után a vesefunkció néhány nap alatt helyreáll, de elindul egy lassú fibrotikus folyamat, ami végül veseelégtelenséghez vezet. Egyoldali IR után a vesefibrózis rendkívüli mértékben felgyorsul a károsodott vesében. Kísérletünkben azt vizsgáltuk, hogy ha jelentős fibrózis kialakulása után eltávolítjuk az ép vesét egyoldali IR után, akkor javul-e a károsodott vese működése és a megváltozik-e a fibrózis progressziója.

**Módszerek:** Hím BALB/c egerekben 30 perces IR károsodást okoztunk a bal vesében. Hét nappal később az állatok egy csoportját túlaltattuk és a veséket eltávolítottuk (A, n=8), további két csoportban jobb oldali nefrektómiát (NX, n=8) vagy álműtétet végeztünk (Sh, n=7). A 7., 8. és 14. napon vért vettünk az NX és Sh csoportokban, és az állatokat a 14. napon áldoztuk fel. Megmértük a plazma urea koncentrációt, a vese metszeteket Masson's trikrómmal festettük, valamint vizsgáltuk a vesetubulus károsodás (NGAL), fibrózis (FN1, TGF $\beta$ ), gyulladás (TNF $\alpha$ ) és oxidatív stressz (NRF2) markerek mRNS expresszióját a vesében.

**Eredmények:** Hét nappal az IR után a mRNS expressziók alapján jelentős mértékű vesetubulus károsodást (NGAL mRNS expresszió 52x), fibrózist (FN1 10x, TGF $\beta$  6x), gyulladást (TNF $\alpha$  12x) és oxidatív stresszt (NRF2 2x magasabb volt a bal, mint a jobb vesében;  $p < 0.001$ ) figyeltünk meg. A 7. napi jobb oldali NX hatásra a plazma urea koncentráció  $52 \pm 7$  mg/dL-ről  $211 \pm 87$  mg/dL-re emelkedett a 8. napon, de a 14. napra jelentős javulást tapasztaltunk ( $100 \pm 25$  mg/dL;  $p < 0.001$ ). A tubulointersticiális fibrózis pontszám a 7. és 14. nap között emelkedett a két veséjű állatok bal veséjében ( $0.94 \pm 0.50$  vs.  $2.06 \pm 0.56$ ;  $p < 0.001$ ), miközben a vesetubulus károsodás, fibrózis, gyulladás és oxidatív stressz markerek mRNS expressziója hasonló maradt. Ezzel szemben a tubulointersticiális fibrózis pontszám az NX csoportban hasonló volt a bal vesében a 14. napon ( $0.89 \pm 0.35$ ), mint a két veséjű állatokban a 7. napon. A fibrózis és gyulladás markerek mRNS expressziója szignifikánsan alacsonyabb volt az NX csoportban a 14. napon (FN1, TGF $\beta$ :  $p < 0.05$ , TNF $\alpha$ :  $p < 0.001$ ), mint a két veséjű állatok bal veséjében a 7. és 14. napon.

**Konklúzió:** Egyoldali ischemia-reperfúzió gyorsan progrediáló fibrotikus folyamatot okoz a károsodott vesében. Késői nefrektómia után a beszűkült funkciójú vese részben visszanyerte működését, miközben a károsító tényezők egy részének expressziója csökkent és a fibrózis progressziója megállt.

# AZ OMECANTIV MECARBIL HATÁSAI IZOLÁLT KAMRAI SZÍVIZOMSEJTEK ELEKTROFIZIOLÓGIAI ÉS KONTRAKTILIS TULAJDONSÁGAI

**Szentandrásy Norbert**<sup>1,2</sup>, Horváth Balázs<sup>1,3</sup>, Váczi Krisztina<sup>1</sup>, Kistamás Kornél<sup>1</sup>, Veress Roland<sup>1</sup>, Bányász Tamás<sup>1</sup>, Magyar János<sup>1,4</sup>, Nánási Péter<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Debreceni Egyetem, ÁOK, Élettani Intézet

<sup>2</sup>Debreceni Egyetem, FOK, Fogorvosi Élettani és Gyógyszertani Tanszék

<sup>3</sup>Debreceni Egyetem, GYTK

<sup>4</sup>Debreceni Egyetem, ÁOK, Élettani Intézet, Sportélettani Nem Önálló Tanszék

A bal kamrai szívizomzat kontraktilitása szisztolés szívelégtelenség kapcsán csökken. Az omecantiv mecarbil (OM) a szívelégtelenség kezelésében napjainkban alkalmazni kezdett szívspecifikus miozin aktivátor. A miokardiális miozin ATP-áz aktiválásával és ezáltal a foszfát felszabadulás sebességének növelésével az OM növeli a bal kamrai szívizom kontraktilitását. Emiatt a pulzustérfogat és az ejekciós idő is fokozódik az intracelluláris kalciumszint növekedése nélkül.

Kísérleteink célja az OM emlős szívizomra kifejtett elektrofiziológiai és kontraktilis hatásainak vizsgálata volt. Az ionáramokat a feszültség-clamp technika teljes-sejtes konfigurációjával, míg az akciós potenciálokat (AP) hegyes mikroelektrodákkal mértük. A kontraktilitást sejtrövidülés mérésével, az intracelluláris kalciumszintet pedig fluoreszcens festékekkel vizsgáltuk. Minden kísérletet enzimatikusan izolált kutya bal kamrai szívizomsejteken végeztünk 37 °C-on. A szignifikancia vizsgálatára önkontrollos t-próbát használtunk.

1 11M OM nem változtatta meg az 1 Hz-es stimulációval kiváltott akciós potenciálok egyetlen paraméterét sem. Az AP 90%-os repolarizációjához tartozó időtartam (APD90) értéke 10 μM OM jelenlétében 10,0±4,0 ms-mal csökkent. Az AP korai repolarizációja 10 μM OM hatására a kiindulási érték 82,6±3,4 %-ára csökkent, az APD90 feléhez tartozó plató potenciál pedig 2,9±1,6 mV-tal mérséklődött. 10 μM OM jelenlétében a befelé egyenirányító K<sup>+</sup>-áram 10,9±1,4%-kal, a tranziens kifelé irányuló K<sup>+</sup>-áram 19,1±3,7%-kal, a késői egyenirányító K<sup>+</sup>-áram 18,0±3,7%-kal, az L-típusú Ca<sup>2+</sup>-áram pedig 30,2±9,1%-kal csökkent. Az OM ezen hatásai statisztikailag szignifikánsnak bizonyultak, de kevésbé voltak visszafordíthatóak a szer kimosásával. Az 1 Hz-es ingerléssel kiváltott kalciumtranziensek esetében 10 μM OM a tranziensek egyetlen paraméterére sem volt hatással. Sejtrövidülés mérésekben a szívizomsejtek diasztolés hossza dóziszfüggő módon csökkent. 1 μM OM mindhárom vizsgált ciklushossz (2000, 1000 és 500 ms) esetén növelte a sejtrövidülés mértékét, míg 10 μM OM esetében ezen hatás már nem volt megfigyelhető, sőt 500 ms-os ciklushossz esetében szignifikáns csökkenést tapasztaltunk. 1 és 10 μM OM lassította a kontrakciót és a relaxációt. Néhány rövid ciklushosszú ingerlés során a relaxáció befejeződését megelőzően már elkezdődött a következő kontrakció már 1 μM OM jelenlétében.

Eredményeink alapján elmondhatjuk, hogy az OM ionáramokra kifejtett hatásai magyarázhatják az AP alakjában bekövetkező változásokat. Eredményeink megerősítették, hogy az OM nem az intracelluláris kalciumszintet növelve hozza létre a kontraktilitás fokozódását, de megkérdőjelezhetik az OM terápiás alkalmazását a lehetséges káros elektrofiziológiai mellékhatásai miatt. Azt azonban érdemes szem előtt tartani, hogy az OM terápiás koncentrációja valószínűleg nem haladja meg az 1 μM-t, de a sejtrövidülésnél tapasztalt, már ilyen dózisban is előforduló hatásai miatt kérdéses az OM klinikai alkalmazhatósága.



# TASK-3 CSATORNÁK ÉS MELANÓMA SEJTEK MITOKONDRIUMAI

**Gönczi Mónika**<sup>1</sup>, Nagy Dénes<sup>2</sup>, Bai Péter<sup>2,3</sup>, Pál Balázs<sup>4</sup>, Kis Gréta<sup>5</sup>,

Antal Miklós<sup>5</sup>, Csernoch László<sup>4</sup>

<sup>1</sup>MTA-DE Lendület Fehérjedinamikai Kutatócsoport, Biokémiai és Molekuláris Biológiai Intézet, Debreceni Egyetem

<sup>2</sup>Orvosi Vegytani Intézet, Debreceni Egyetem

<sup>3</sup>MTA-DE Lendület Sejtmetabolizmus Kutatócsoport, Debreceni Egyetem

<sup>4</sup>Élettani Intézet, Debreceni Egyetem

<sup>5</sup>Anatómiai, Szövet- és Fejlődéstani Intézet, Debreceni Egyetem

A TASK-3 csatornák mitokondriális kifejeződését sejtenyészletben fenntartott melanóma sejtvonalon már számos vizsgálati módszerrel kimutattuk. Mind sejtalkotó- (mitokondriális membránpotenciál és RNS szint), mind sejt- (életképesség, proliferáció, apoptózis és kaszpáz 3 aktivitás), valamint szöveti szinten (tumorindukció) kimutattuk, hogy a TASK-3 géncsendesítés jelentős hatást gyakorol a melanóma sejtek biológiai folyamataira.

A funkcionális csatorna nem sejtmembránban történő expresszióját, illetve stabil géncsendesítésének hatását igyekeztünk további módszerekkel is alátámasztani. Kísérleteink során vizsgáltuk a funkcionális TASK-3 csatornák jelenlétét melanóma sejtek mitokondriális frakciójából izolált mitoplasztokon. Célul tűztük ki WM35 melanóma sejtvonalon a TASK-3 expresszió csökkentésének hatását megvizsgálni a metabolizmusra és az abban szerepet játszó egyes szabályozó faktorokra. Ozmium-tetroxidos membránstruktúra jelölést követően elektronmikroszkóppal tanulmányoztuk a kontroll és TASK-3 géncsendesített sejtek mitokondriális hálózatának tulajdonságait.

Eredményeink szerint mind abszolút kontroll, scrambled-shRNS transzfektált és stabilan géncsendesített sejtvonalból izolált mitoplasztokon jelen vannak a funkcionális TASK-3 csatornák, melyek nyitvatartási valószínűsége szignifikánsan csökken a mérőoldat pH-jának savas irányba történő elmozdításával.

Knockdown sejtekből izolált mitoplasztokon a csatornák átlagos nyitvatartási valószínűsége szignifikánsan alacsonyabb volt a két kontroll minta értékeivel összehasonlítva. A TASK-3 csatorna géncsendesítésének mitokondriális oxidatív funkcióra kifejtett hatásának vizsgálata során megállapítottuk, hogy a csökkent csatorna expresszió növelte a mitokondriális oxigén fogyasztást a megnövekedett glükóz- és aminosav- oxidáció által, míg a zsírsavoxidáció lényegesen nem változott. A megnövekedett oxigénfogyasztás mellett, a KD sejteken megfigyelhető csökkent ATP-felszabadulás és szuperoxid-produkció sejtszintű energiakrízisre és mitokondriális szétkapcsolásra utal. Melanóma sejtek szuszpenziójának elektronmikroszkópos vizsgálatával megállapítottuk, hogy a TASK-3 KD sejtek szignifikánsan alacsonyabb számú mitokondriumot tartalmaznak, ezek belső struktúrája azonban lényeges különbséget nem mutat a kontroll sejtekhez viszonyítva.

Eredményeinket összegezve elmondhatjuk, hogy a TASK-3 csatornák expressziójának csökkentése szignifikánsan megváltoztatja a melanóma sejtek mitokondriális aktivitását és számát, amely jelentős mértékben hozzájárul az életképességben, proliferációban és tumorgenitásban megfigyelhető különbségekhez.

Jelen munkát a TÁMOP-4.2.2.A-11/1/KONV-2012-0025 program finanszírozta. GM munkáját a Bólyai János Kutatói Ösztöndíj is támogatta.

# A VÁZIZOM TELJESÍTMÉNYÉNEK ÉS KALCIUMHOMEOSZTÁZISÁNAK MEGVÁLTOZÁSA AZ ÖREGEDÉS SORÁN EGEREKBEN

**Szentesi Péter**, Fodor János, Al-Gaadi Dána, Czirják Tamás, Oláh Tamás, Csernoch László  
*Debreceni Egyetem ÁOK Élettani Intézet*

Időskorban az izomműködés romlása és az izomtömeg csökkenése (sarcopenia), csökkent izomerőt és fokozott izomfáradást eredményeznek. Az öregedés kapcsán bizonyított, hogy az elektromechanikai kapcsolat csökkent működése következtében kevesebb kalcium szabadul fel a vázizom szarkoplazmatikus retikulumából (SR). A szelén nyomelemként alapvetően fontos a vázizom megfelelő működéséhez, szelénhiányos táplálkozás következtében fáradékonyság, proximális izomgyengeség alakul ki.

Kísérleteinkben 22 hónapos korukig követtük nyomon kontroll és miosztatin-hiányos (MSTN-KO) egerek in vivo fizikai aktivitását. Grip teszt és önkéntes futó malom vizsgálataink alapján az egerek teljesítménye 3 hónapos korukban elérte maximumát, majd 10 hónapos koruktól fokozatosan csökkent, ami a MSTN-KO egerekben gyorsabban ment végbe. Az átlagosan megtett napi futási távolság kontrollállatokban idős korokra 37%-ra, míg MSTN-KO egerekben 25%-ra csökkent. Hasonló különbséget találtunk a maximális és az átlagos futási sebesség csökkenésében is.

In vitro kísérleteinkben átlagosan 20 hónapos kontroll, MSTN-KO és szelén diétán tartott egerek izomerejét vizsgáltuk soleus és extensor digitorum longus (EDL) izmokon. Habár a MSTN-KO állatok izmainak maximális ereje nagyobb volt, az izmok keresztmetszetére történő normalizálás után EDL izmainak ereje szignifikánsan kisebb volt, mint a kontrollegereké ( $7,61 \pm 0,96$  vs  $4,70 \pm 0,88$  mN/mm<sup>2</sup> kontroll és MSTN-KO egerekben  $p < 0,05$ ). Szelénnel dúsított diéta szignifikánsan javította az EDL izmok maximális erejét ( $10,89 \pm 0,60$  mN/mm<sup>2</sup>). A MSTN-KO állatok mindkét típusú izmának tetanusz-sorozattal kiváltott fáradása felgyorsult.

Az intracelluláris kalciumkoncentráció változását a három idős egér populáció flexor digitorum brevis (FDB) izmaiból enzimatikusan izolált intakt izomrostokon mértük Fura-2 fluoreszcens festékekkel PTI DeltaScan rendszeren. A KCl depolarizációval kiváltott kalciumtranziensek tekintetében a szelén diéta jelentősen növelte a SR-ből időegység alatt felszabaduló kalcium mennyiséget (fluxus:  $481 \pm 33$  vs  $691 \pm 100$   $\mu$ M/s kontroll és szelén diétán tartott egerekben  $p < 0,05$ ). Ugyanakkor a vázizom hipertrófiát mutató MSTN-KO egerekben a tranziensek jellemző paraméterei (felszálló szár meredekség, amplitúdó, fluxus) jelentős csökkenést mutattak a kontroll állatokhoz képest.

A protein szintű expresszió változásokat Western-blot technikával detektáltuk. A feszültségérzékeny dihidropiridin receptor (DHPR) expressziója a három populáció esetében nem mutatott változást. Az idős állatok vázizmából szatellita sejtekből indított primer tenyészetet nem sikerült létrehozni, és ezt sem a szelén diéta, sem a vázizom hipertrófia nem módosította.

Eredményeink szerint a szelén tartalmú táplálék javíthatja az idős kori vázizom-gyengeséget. Viszont a MSTN-KO egerek egész élettartam alatt jelen levő emelkedett izomtömege nem javítja a fizikai teljesítményüket öregkorban.

Támogatta: OTKA-K-115461

# A PACAP ÉS MECHANIKAI INGER KAPCSOLATA HIGH DENSITY PORCOSODÓ SEJTKULTÚRÁKBAN

**Szentlélek Eszter<sup>1</sup>, Veres Flóra<sup>1</sup>, Tamás Andrea<sup>2</sup>, Reglődi Dóra<sup>2</sup>, Zákány Róza<sup>1</sup>, Juhász Tamás<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Debreceni Egyetem ÁOK - Anatómiai, Szövet-és Fejlődéstani Intézet

<sup>2</sup>Pécsi Orvostudományi Egyetem ÁOK - Anatómia Intézet

A PACAP (hypophysis adenilát-cikláz aktiváló polipeptid) a hypothalamus által termelt neuropeptid, mely a központi idegrendszer (KIR) mellett számos perifériás szövetben is kimutatható. A neuropeptid általános sejt-védő hatását, anitapoptotikus tulajdonságait nemcsak a KIR-ben, de egyéb, nem ingerelhető szövetekben is bizonyították. Az ízületi porc elfajulásának hátterében állhat túlzott mechanikai igénybevétel, mint szöveti stresszor. Jelen kísérleteink során azt vizsgáltuk, hogy befolyásolja-e a PACAP a mechanikai stressz porcképződésre kifejtett hatásait.

Kísérleteinkben csirkeembriók végtagtelepeiből izolált chondroprogenitor sejtekből előállított porcosodó primer sejt kultúrákban követtük nyomon a PACAP mechanikai stresszben betöltött szerepét. A sejteket két tenyésztési napon 30-30 percig tartó, intermittáló nyomóerőt és tápfolyadék-áramlást generáló mechanikai kezelésnek tettük ki a laboratóriumunkban kifejlesztett műszer segítségével. A mechanikai inger MS a keletkező metakromáziásan festődő porc mértékét növelte, valamint hatására az endogén PACAP, valamint a PAC1 receptor expressziója is megemelkedett. Bár a PACAP 100 nM-os koncentrációban történő adagolása a kultúrák médiumához önmagában is porcképződés serkentő hatású volt, azonban a két kezelés hatása nem adódott össze. A differenciáció nyomon követésére alkalmas II-es kollagén fehérje expressziója mind PACAP kezelés, mind mechanikai ingerlés hatására megemelkedett. A mechanikai stimulus fokozta a porcsejtek hipertrófiás átalakulását jelző X-es típusú kollagén Western blotlalt detektálható fehérjemennyiségét is, míg a neuropeptid adagolása ezt közel a kontrol értékre csökkentette. A Hedgehog (HH) jelátviteli útvonal tagjainak expressziós változása fontos szerepet játszik a porcsejtek differenciációjában, így hipertrófiás átalakulása során is. A Sonic hedgehog (SHH) és Indian hedgehog (IHH) expressziója mechanikai inger hatására megemelkedik, míg a PACAP adagolása jelentős csökkenést okozott. A jelátviteli útvonal célmolekulái közül a Gli1 expresszió jelentős emelkedést mutat mechanikai stimulusra, míg PACAP kezelés gátló hatással van rá. Az alkalmazott mechanikai inger a matrix metalloproteinázok (MMP) és hyaluronidázok expresszióit megemelte, melyet a PACAP jelenléte redukált. Zymographiával végzett MMP aktivitásmérés alapján a jelen lévő MMP1 aktivitása fokozódik mechanikai inger hatására, melyet a PACAP jelenléte normál értékre csökkent.

Eredményeink azt jelzik, hogy a PACAP a porcszövet differenciációjára pozitív hatással van és kivédi a mechanikai inger káros hatásait, csökkenti a hipertrófiás irányba való eltolódást, melyet részben az extracelluláris matrix lebontását végző enzimek szabályozásával ér el. Ezek alapján úgy gondoljuk, hogy e neuropeptid intraartikuláris alkalmazása porcmegebetegedések során segíthet megóvni az ízületi porcfelszín fiziológiás szerkezetét.

Támogatók: Debreceni Egyetem (RH/751/2015)

# ZAJVÉDŐ GYÓGYSZERHATÁS TESZTELÉSE ÉS KIMUTATÁSA

**Szepesy Judit**<sup>2,3</sup>, Humli Viktória<sup>3,1</sup>, Dienes Tamás<sup>1</sup>, Gáborján Anita<sup>2</sup>, Tamás László<sup>2</sup>,  
Vizi E. Szilveszter<sup>3,1</sup>, Zelles Tibor<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>*Semmelweis Egyetem, Farmakológiai és Farmakoterápiás Intézet, Budapest*

<sup>2</sup>*Fül-Orr-Gégészeti és Fej-Nyaksebészeti Klinika, Budapest*

<sup>3</sup>*Magyar Tudományos Akadémia, Kísérleti Orvostudományi Kutatóintézet, Budapest*

A zaj okozta halláscsökkenés (NIHL, noise-induced hearing loss) a szenzorineurális típusú halláskárosodások (SNHLs) egyik formája, amely ellen – a többi SNHL-hez hasonlóan – nem rendelkezünk specifikus, hatékony gyógyszeres terápiával. Kialakulásában szerepet játszik a glutamát excitotoxicitás és a redox homeosztázis zavara. A leggyakoribb foglalkozási megbetegedés. Európában több mint 30 millióan dolgoznak káros zajterhelés mellett. A fiatalok halláskárosodása is – köszönhetően a személyi szórakoztató zenelejátszók elterjedésének – egyre gyakoribbá válik a modern társadalmakban.

Potenciálisan zajvédő vegyületek vizsgálatára beállítottunk egy egérmodellt. A Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem Hálózati Rendszerek és Szolgáltatások tanszékének közreműködésével elkészítettünk egy homogén hangtérrel rendelkező „zajdobozt”, amely egyszerre akár 20 egér zajkárosítására alkalmas. CD1 és BALB/c egereket tettünk ki 90, 98 és 110 dB-es, 8 – 16 kHz-es fehér zajnak 15 és 30 perc időtartamra. Az objektív hallásküszöb mérés agytörzsi kiváltott válasz (ABR) módszerrel történt széles frekvencia tartományban. Az előkísérletek eredményei alapján a vegyületek védő hatását BALB/c egereken, 30 percig tartó 98 dB SPL erősségű, 8-16 kHz fehér zaj expozíciót követő hallásvesztéssel szemben teszteltük.

A modell validálására, pozitív kontrollként megvizsgáltuk az irodalom szerint hallásvédő D-metionin (D-Met) és az N-acetilcisztein (NAC) hatását. Az ott alkalmazott legnagyobb dózisban és protokoll szerint (zaj előtt, majd után 1 órával, ill. azt követően még 3 napig naponta kétszer, 400 mg/kg, i.p.) a D-Met nem mutatott szignifikáns védő hatást. A NAC otoprotektív volt az alacsony frekvenciatartományban, a zajterhelést követő 1. napon.

Vizsgálandó propargylamin vegyületünket (6 mg/kg, s.c) a NAC esetében is alkalmazott kezelési sémában adagoltuk. A hallásküszöböket közvetlenül a zaj-expozíció előtt és után, majd a 4., 10., 15. (átmeneti halláskárosodás, TTS) és 30. napon (maradandó halláskárosodás, PTS) mértük meg. A kezelés hatására a hallásküszöb eltolódás tendenciózusan alacsonyabb volt minden frekvenciatartományban. Statisztikailag szignifikáns különbséget 4.1 kHz-en (TTS) és 16.4 kHz-en (PTS) tapasztaltunk.

Időskorban a presbycusis gyakran kapcsolódik össze károsító zajexpozícióval. Megvizsgáltuk, hogy a propargylamin vegyületünk mutat-e védő hatást ebben az esetben. Krónikus (1.5 mg/kg) kezelést kapott idős (38 hetes) BALB/c egereket zajterhelésnek tettünk ki. A propargylamin vegyületünkkel kezelték kisebb mértékű átmeneti halláskárosodást (TTS) szenvedtek el, mint kontroll társaik.

A NIHL hatékony terápiája, komplex és multifaktoriális patomechanizmusa miatt, valószínűleg több támadáspontú gyógyszerek alkalmazásától remélhető. Vizsgálataink alapján az antioxidáns, neuroprotektív és antiapoptotikus hatással is rendelkező propargylamin vegyület alkalmas otoprotektív gyógyszerjelölt lehet.

# AZ APELIN RECEPTOR JELÁTVITELI MECHANIZMUSAI A SZÍVBEN

**Szokodi István**

*Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvosi Kar, Szívgyógyászati Klinika*

A szívizom által termelt és szekretált fehérjék, az ún. kardiokinek számát megközelítőleg hatvanra teszik, azonban az ismert kardiokinek töredéke esetén tisztázott, hogy pontosan milyen biológiai funkcióval bírnak. Célunk a G-protein kapcsolt apelin receptor és endogén ligandja, az apelin, szerepének tisztázása volt a szív homeosztázisában fiziológias és patofiziológias viszonyok között. Vizsgálataink elsőként fedték fel az apelin-apelin receptor rendszer funkcionális jelentőségét a miokardiumban. Eredményeink szerint az apelin receptor a T-tubulusoknak/Z-vonalaknak és az interkaláris lemezeknek megfelelő lokalizációt mutat a szívizomban. Funkcionális vizsgálataink felderítették, hogy az apelin a legpotensebb endogén pozitív inotrop anyagok közé tartozik. A peptid szubnanomoláris koncentrációk mellett tartósan serkenti a kontraktilitást, valamint fokozza a Frank-Starling-választ izolált patkányszív-preparátumon. Továbbá, az apelin növeli a kontrakciós erőt patkány eredetű izolált szívizomsejteken, mely hatás szívelégtelen egyedekből származó sejteken is megtartott. Részleteiben feltártuk az apelin inotrop hatását közvetítő mechanizmusokat. Kimutattuk, hogy *ex vivo* az apelin effektusához jelentősen hozzájárul a foszfolipáz-C-proteinkináz-C kaskád és a mitogén által aktivált proteinkináz 1/2-extracelluláris szignál által regulált kináz 1/2 kaskád párhuzamos és egymástól független aktivációja. Disztális komponensként a Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup>-cseremechanizmus illetve a miozin könnyű lánc kináz aktivációját mutatuk ki, melyek révén a peptid feltehetőleg növeli a miofilamentumok Ca<sup>2+</sup> iránti érzékenységét. Továbbá, eredményeink szerint az apelin hatással van az intercelluláris kommunikációra. Patkány eredetű, neonatális szívizomsejt-tenyészetben kimutattuk, hogy az apelin fokozza a szívizomsejtek spontán tüzelési frekvenciáját, vezetési sebességét és csökkenti a mezőpotenciál időtartamát. Kimutattuk, hogy neonatális patkány szívizomsejtek ciklikus mechanikai feszítése során jelentősen csökken az apelin és az apelin receptor mRNS szintje. Továbbá megmutattuk, hogy krónikus nyomásterhelés állatmodelljeiben mérséklődik az apelin bal kamrai génexpressziója, míg az apelin receptor mRNS szintje nem változik. Összegezve, vizsgálataink egy ígéretes kardiokin rendszer létét igazolták a miokardiumban. A feltárt molekuláris célpontok potenciálisan új lehetőséget teremthetnek a szívelégtelenség kezelésében.

# AZ ÖSZTRADIOL SZEREPE A TRANZIENS RECEPTOR POTENCIÁL VANILLOID 1 IONCSATORNA AKTIVÁCIÓJÁBAN SENZOROS NEURONOKON ÉS IN VIVO ÁLLATKÍSÉRLETEKBEN

**Szőke Éva**<sup>1,2,3</sup>, Payrits Maja<sup>1,2</sup>, Sággy Éva<sup>1,2</sup>, Bíró-Sütő Tünde<sup>1</sup>, Pohóczky Krisztina<sup>1,2</sup>, Csekő Kata<sup>1,2</sup>, Bölcskei Kata<sup>1,2</sup>, Ernszt Dávid<sup>2,4</sup>, Barabás Klaudia<sup>2,5</sup>, Ábrahám István<sup>2,5</sup>, Szolcsányi János<sup>1</sup>, Helyes Zsuzsanna<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup>PTE ÁOK Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet

<sup>2</sup>Szentágothai János Kutatóközpont

<sup>3</sup>MTA-PTE Krónikus Fájdalom Kutatócsoport

<sup>4</sup>PTE GYTK Gyógyszerészi Biotechnológia Tanszék

<sup>5</sup>PTE ÁOK Élettani Intézet, Pécsi Tudományegyetem, Pécs

A Tranziens Receptor Potenciál (TRP) kation csatornák, mint a TRP Vanilloid 1 (TRPV1) fontos szerepet játszanak a fájdalom transzmissziójában. A TRPV1 termoszenzor molekula, melyet számos exogén (kapszaicin, reziniferatoxin (RTX)) és endogén kémiai ligand aktivál. Kapszaicin ismételt adása a receptor deszenzitizációját okozza, melyet az idegnövekedési faktor (NGF) a tirozin kináz A (TrkA) receptoron keresztül eltörölni képes. Klinikai és kísérletes vizsgálatok bizonyítják, hogy a nők nagyobb számban szenvednek krónikus fájdalommal járó betegségekben, mint a férfiak. Azonban az ösztrogén pronociceptív vagy antinociceptív hatásai ellentmondásosak az irodalomban. A TRPV1 és az ösztrogén receptor interakcióira funkcionális adatok utalnak. Menstruáció alatt lecsökken a fájdalomküszöb, patkányokban is igazolták a fájdalom és az ösztusz ciklus összefüggéseit. Célunk az ösztradiol hatásának vizsgálata a TRPV1 receptor aktivációjában trigeminális neuronokon és in vivo egér modellekben.

Mechanonociceptív küszöböt mértünk dinamikus plantáris eszteziométerrel valamint hőküszöböt emelkedő hőmérsékletű forró lap segítségével C57Bl/6 (vad) nőstény egerekben ösztusz és proösztusz fázisban, hímekben és ovariectomizált (OVX) nőstény egerekben, vagy TRPV1 génhiányos társaikban. Intracelluláris szabad kalciumszintet mértünk mikrofluorimetriával egér trigeminális érző neuronokon. 17- $\beta$ -ösztradiol hatását vizsgáltuk a TRPV1 receptor expresszióra az érző neuronokon real-time PCR-al.

A mechanonociceptív küszöb és a hőküszöb is szignifikánsan alacsonyabb vad típusú proösztusz fázisban lévő egerekben (magas ösztrogén szintnél) mint ösztusz fázisban lévő társaikban vagy hímekben. TRPV1 génhiányos egerekben nem volt különbség a küszöbértékekben ösztusz és proösztusz között. 17- $\beta$ -ösztradiol megnöveli a TRPV1 receptor expressziót az érző neuronokon. A kapszaicin hirtelen kalciumszint emelkedést okoz a neuronokban melyet deszenzitizáció követ. Egy éjszakás, de akár tíz perces 17- $\beta$ -ösztradiol kezelés képes eltörölni a deszenzitizációt, hasonlóan mint az NGF. TrkA gátló AG879 használata után a deszenzitizáció visszatér. A 17- $\beta$ -ösztradiol TRPV1-et szenzitizáló hatását in vivo is sikerült bizonyítani OVX és OVX+33 ng/g 17- $\beta$ -ösztradiol visszapótoló állatokban. A mechanonociceptív küszöb jelentősen csökkent talpba adott reziniferatoxin után, mely szignifikánsan nagyobb volt az OVX+ 17- $\beta$ -ösztradiol visszapótoló állatokban.

Összegezve tehát mind in vitro mind in vivo bizonyítottuk a 17- $\beta$ -ösztradiol TRPV1-et stimuláló hatását, melyben a TrkA receptor szerepet játszik.

Támogatók: Richter Gedeon Talentum Alapítvány és KTIA\_NAP\_13-2-2014-0022 MTA-PTE NAP B Krónikus Fájdalom Kutatócsoport

# AZ ANGIOTENZIN-II ÉS AZ AUTOFÁGIA KAPCSOLATÁNAK VIZSGÁLATA H9C2 SEJTEKEN

**Szőke Kitti**, Kiss Attila István, Gyöngyösi Alexandra, Czompa Attila, Zilinyi Rita,  
Tósaki Árpád, Lekli István

*Debreceni Egyetem Gyógyszerésztudományi Kar Gyógyszerhatástani Tanszék*

Az angiotenzin-2 (AT-II) a vérnyomás és elektrolitháztartás szabályozása mellett szerepet játszik a sejtek hipertrofiájának kialakulásában. Számos kutatás szerint a hipertrofiában fontos szerepet tölt be az autofágia. Vizsgálataink során ezen két folyamat közötti kapcsolatot tanulmányoztuk.

Kísérleteink során H9c2 kardiomioblaszt sejteket használtunk, amelyeket alacsonyabb és magasabb koncentrációjú AT-2-vel kezeltünk a hipertrofia kiváltásához. Korábbi vizsgálataink kiterjesztéseként több dózisban kezeltük a sejteket AT-II-vel. Az I. csoporton 100 nM, II. csoporton 400 nM, III. csoporton 1000 nM, IV. csoporton 10000 nM AT-II kezeléseket végeztünk, melyekkel a sejtek hipertrofiáját kívántuk indukálni. Kontrollként kezeletlen csoportot használtunk. A sejtek életképességének vizsgálatát MTT módszer segítségével, a méretbeli változást fluoreszcens festéssel konjugált falloidinnel határoztuk meg. Az autofágiás vakuólumok detektálására CytolD festést alkalmaztunk a vizsgált csoportok esetében. Az autofágia tanulmányozása céljából Western blot analízissel követtük nyomon a Beclin-1 és LC3BII fehérje expressziójának változását.

MTT assay során a legnagyobb dózisu AT-II kezelésnél csökkent a sejtek életképessége. A sejtméret meghatározása során ugyancsak a 10000 nM AT-II-vel kezelt sejteken mértünk a legnagyobb növekedést, azonban a többi csoportban is 20-25 % sejtméret változást detektáltunk. CytolD festés során az alacsonyabb dózisu csoportoknál figyeltük meg a legintenzívebb autofagoszóma képződést. Western blot analízis során az AT-II kezelt csoportokban volt fokozottabb az LC3BII és a Beclin-1 expressziója, ezen belül is a II. csoport mintáiban volt a leghangsúlyosabb. Érdekesképpen megjegyzendő, hogy előzetes vizsgálataink alapján rapamicinnel előkezelt sejteken az AT-II kisebb mértékben növelte meg a sejtméretet.

Eredményeink arra engednek következtetni, hogy az angiotenzin-2 által indukált hipertrofia esetén az autofágia aktivitása fokozódik, amely segíthet lebontani a károsodott, nem megfelelő funkciójú fehérjéket. Összegezve megállapítható, hogy az AT-II dózisfüggő módon modulálja az autofágiás folyamatokat.

Támogatás: OTKA PD 111794, K 104017, TÁMOP-4.2.2.B-15/1/KONV-2015-0001

# VISZKETÉST KELTŐ ANYAGOK HATÁSA KERATINOCYTÁK ÁLTAL TERMELT FAKTOROKRA

**Szöllősi Attila Gábor**<sup>1</sup>, Szabó Imre Lőrinc<sup>2</sup>, Ian McDonald<sup>2</sup>, Alex Von Kriegsheim<sup>3</sup>, Walter Kolch<sup>3</sup>, Martin Steinhoff<sup>2</sup>

<sup>1</sup>DE-MTA „Lendület” Sejtélettani Kutatócsoport, Debreceni Egyetem, ÁOK, Élettani Intézet, Debrecen

<sup>2</sup>UCD Charles Institute of Dermatology, UCD School of Medicine and Medical Science

<sup>3</sup>Systems Biology Ireland, University College Dublin, Dublin, Írország

A viszketés a dermatológiai praxis leggyakoribb tünete, melynek élettartam-prevalenciája a populáció 22%-a. Az utóbbi évek kutatásai számos új mechanizmust tárt fel a nem-hisztaminerg, krónikus (6 hétnél tovább tartó) viszketés hátterében; mely számos bőrgyógyászati és szisztémás betegség tünete (pl. atópiás dermatitisz, psoriasis, vese és máj betegségek). A krónikus viszketés hátterében álló mediátorok jelenleg ismeretlenek, bár bizonyos jelátviteli útvonalak szerepe feltételelezhető (pl. proteináz-aktivált receptorok, endothelinek). Ezen útvonalak egyik kulcslépése a neurális és nem-neuronális epidermális sejtek közötti interakció. Ezért kutatásaink a keratinocytá-neuron kommunikációra irányult: olyan novel mediátorokat kerestünk melyek a hámsejtekből felszabadulva pruriceptív neuronok aktiválására képesek. Proteomikai technikákat alkalmazva pruritogénnel kezelt primer humán keratinociták szekretómját vizsgáltuk. Eredményeink alapján a keratinocyták felülúszójából több mint 2000 proteín azonosítható, melyekből 160-tól 1000 fehérje expressziója változik szignifikánsan pruritogén kezelés hatására. Érdekes módon ezen fehérjék többsége az irodalom szerint intracellulárisan helyezkedik el, mely felveti annak lehetőségét hogy ezek sejttermelékéből származnak. Ennek ellenére az eredmények értékelése számos új pruritogén marker felfedezéséhez vezethet.



# POST-MORTEM IMMUNOHISTOCHEMICAL ALTERATIONS IN THE GLIOVASCULAR CONNECTIONS FOLLOWING CEREBRAL LESIONS

**Dávid Szöllősi**, László Tóth, Mihály Kálmán

*Dept. of Anatomy, Histology and Embryology, Semmelweis Univ., Budapest, Hungary*

Dystroglycan has pivotal functions in the maintenance of gliovascular connections. Its transmembrane beta subunit forms a complex (with dystrobrevin, dystrophin or utrophin, syntrophin, etc.) connecting receptors and channels (e.g. aquaporin) to the cytoskeleton. Its alpha subunit anchors this complex to basal lamina components, e.g. laminin. The beta-dystroglycan immunoreactivity delineates the cerebral vessels, although dystroglycan is localized in the vascular astroglial end-feet. Previous studies (Kálmán et al, 2011) have demonstrated that the dystroglycan complex shows characteristic immunohistochemical alterations following cerebral injury (stab wound and cryogenic lesion): beta-dystroglycan and alfa-dystrobrevin disappear, utrophin and syntrophin - as well as laminin - appear along the vessels of the area of lesion. Major alterations were observed in 7-14 days post-lesion. The aims of the present study are: i) are the post-lesion alterations influenced by the method of fixation and are they resistant to a post-mortem delay of fixation? ii) are they to be attributed to a direct freezing effect, or are they mediated by processes that manifest only in the living brain? The cryogenic lesions were performed by a dry ice cooled copper rod contacted to the brain surface of ketamine-xy-lazine anaesthetized rats for 20 seconds. Three models were investigated: i) at 30 min post-lesion some brains were fixed by transcardial perfusion others with immersion for 3 days (both with 4% phosphate-buffered paraformaldehyde); ii) following survival periods 7 or 14 days, the heads of the animals were left at room temperature for 8 and 16 hours before an immersive fixation; iii) the cryogenic lesion was performed after decapitation, followed by an immediate immersive fixation. The immunohistochemical reactions were performed on free-floating sections cut by vibratome. Both immunoperoxidase and -in the case of double labelling- fluorescent methods were used. The fixation method - perfusive or immersive - did not change the post-lesion phenomena investigated. The post-mortem delay did not influence the beta-dystroglycan immunoreactivity, i.e. its lack delineated the area of lesion. In the other cases, various lengths of post-mortem delay rendered the immunohistochemistry uninterpretable. Post-mortem cryogenic lesions did not result in immunohistochemical alterations. The results indicate that beta-dystroglycan immunohistochemistry could be applied in the field of neurovascular pathology.

# DEVELOPMENT OF BEHAVIOURAL TEST BATTERY FOR QUANTIFYING FUNCTIONAL EFFECTS OF MILD TRAUMATIC BRAIN INJURY IN RATS

**Tadepalli, Sai Ambika;** Nagy, Lili Veronika; Bali, Zsolt Kristóf; Czeiter, Endre; Amrein, Krisztina; Buki, András; Hernádi, István

*Translational Neuroscience Research Group and Neurotrauma Research Group, Szentagothai Res. Center, and Department of Experimental Neurobiology, Faculty of Sciences, University of Pécs, Hungary*

Mild traumatic brain injury (mTBI) is the most common form of head trauma, and causes minor symptoms that usually resolve on their own. Previous studies have shown that TBI causes cognitive impairment, and acts as an onset of dementia in humans. Our aim was to develop a novel rodent model of mTBI in order to test treatment regime possibilities in behavioural pharmacology, and to find out how mTBI affects memory in rodents.

In the present pilot study TBI was caused under general anaesthesia using the Marmarou weight-drop injury model, where a weight of 450 grams is dropped from a pre-determined height onto a metallic disc fixed to the intact skull of the animal which is supported on a foam bed. Sixteen male Wistar rats were divided into 3 groups: Sham (no injury), Mild (weight is dropped from a height of 25 cm) and Moderate (weight is dropped from a height of 150 cm). The moderate injury group served as a positive control, while sham injury group served as a negative control. Tasks such as Open-field (OF), Elevated-plus Maze (EPM) and Novel Object Recognition (NOR) were performed to assess general behaviour, anxiety levels and recognition memory respectively. A Beam Balance task was also performed to observe any motor coordination defect that may occur from TBI. All the tasks, except EPM, had a pre-injury and post-injury session.

In the Beam Balance task performed post-injury day 1, prelim results have shown that 1) in the post-injury session, there was no significant difference in the average time spent on the beam, between the groups, and 2) no notable decline in time was observed between pre-injury and post-injury test sessions. In OF task (post-injury day 4 and 5) animals in sham-injured group were more active than the others according to the number of crossings. In moderate injury group grooming and rearing activity was reduced in post-injury session. In contrary the mild injury group showed no change in task performance. In EPM (post-injury day 4 and 5) the moderate injury group spent more time in the open arm compared to others, indicating risk-taking behaviour and less anxiety levels. In the NOR task (post-injury day 8 and 9) the Moderate group (1.5 m) was unable to discriminate between the old and new object in the post-injury session, i.e. the discrimination index was lower than 0. Mild injury group (25 cm) did show slight decline in the discrimination index, suggesting there may have been some impairment in recognition memory due to mTBI. These results indicate that a 25 cm injury causes some but no severe cognitive impairment or behavioural change.

Furthermore, we would like to observe if this slight impairment in 25 cm injury persists over time. If yes, then other Mild injury groups can be utilised. Also, the observed functional deficits may be suitable for assessing additive behavioural effects of repetitive mTBI in the future in quantifying the extent of impairment in cognition and also in corresponding brain tissue and axon injury.

# A SZÉRUM ASZIMMETRIKUS DIMETILARGININ (ADMA) KONCENTRÁCIÓ HATÁSA ASTHMA BRONCHIALE-S BETEGEK LÉGZÉSFUNKCIÓJÁRA

**Tajti Gábor**<sup>1,2</sup>, Mikáczó Angéla<sup>1</sup>, Fodor Andrea<sup>1</sup>, Pák Krisztián<sup>3</sup>, Erdei Tamás<sup>3</sup>, Képes Zita<sup>3</sup>, Szabados-Fürjesi Annamária<sup>3</sup>, Juhász Béla<sup>4</sup>, Gesztelyi Rudolf<sup>3</sup>, Szilasi Mária<sup>1</sup>, Zsuga Judit<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Debreceni Egyetem, KK, Tüdőgyógyászati Klinika

<sup>2</sup>Debreceni Egyetem, NK, Egészségügyi Menedzsment és Minőségirányítási Tanszék

<sup>3</sup>Debreceni Egyetem, GYTK, Gyógyszerhatástani Tanszék

<sup>4</sup>Debreceni Egyetem, ÁOK, Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet

A nitrogén monoxid (NO), melyet a légúti epitheliumban az indukálható és az endothelialis nitrogén monoxid szintáz (iNOS és eNOS) állít elő, fontos bronchodilatator transzmitter. Asthma bronchiale-ban megemelkedik az epithelium iNOS expressziója és ezáltal a NO termelése. Az NO többlet egyrészt ellensúlyozza a bronchoconstrictor gyulladásos mediátorok hatását, másrészt peroxinitritet képez, ami fokozza a gyulladást. Ez alapján az NO kettős szerepet tölt be az asthma patogenezisében.

A metilált magfehérjék proteolízise során keletkező aszimmetrikus dimetilarginin (ADMA) a NOS enzimek endogén inhibitora. Jelen kutatásunk során krónikus légúti obstrukcióban szenvedő betegek paramétereiből épített adatbázis elemzésével vizsgáltuk a szérumban lévő ADMA-szint kapcsolatát az asthmás állapottal.

Vizsgálatunkba a DE KK Tüdőgyógyászati Klinikán 2012. augusztus 15. és 2013. október 15. között megjelent asthma bronchiale-s járóbetegek adatait vontuk be (167 fő, 91 nő, 76 férfi, átlagéletkor  $46.64 \pm 14.89$  év). A légzésfunkciót teljes test-plethysmographiával mértük, az életminőséget pedig a Szent György Kórház Légzési Panaszokkal Kapcsolatos Kérdőívével (SGRQ) kvantifikáltuk. Az adatalemzést egyszerű, majd többszörös lineáris regresszióval végeztük. Először azonosítottuk azt az asthma szempontjából releváns paramétert, amelyik a legszorosabb kapcsolatot mutatta az ADMA-szinttel, ez a Raw% (referencia populációra normált légúti ellenállás). Ezután a Raw%-kal szignifikánsan korreláló paramétereket megkeresve felépítettük a kiindulási modellt, majd létrehoztuk azt a végső modellt, mely a Raw%-ot a kiindulási modellhez hasonlóan jól meghatározza.

A végső modellben szignifikáns pozitív korrelációt kaptunk a Raw% és a szérumban lévő ADMA-szint ( $p=0.003$ ), valamint a Raw% és az SGRQ aktivitási doménjének pontszáma között ( $p=0.003$ ), továbbá szignifikáns negatív korreláció volt a Raw% és a FEF 25-75% között ( $p<0.001$ ). A Raw% és az ADMA közötti erős pozitív korreláció (koefficiens = 57.1) arra utal, hogy az ADMA bronchoconstrictor hatású asthma bronchiale-ban, melyet a NOS gátlásának tulajdonítottunk. Eszerint az NO megőrzi bronchodilatator hatását az asthmás légutakban is. Ebből kiindulva a szérumban lévő ADMA koncentrációjának jelentősége van az asthma bronchiale kórlefolrásában (és potenciálisan a kezelésében is). Eredményeink azt is jelzik, hogy az asthma bronchiale-s betegek légútjainak állapotát a Raw% érzékenyebben mutatja, mint az áramlást jellemző légzésfunkciós paraméterek.

Témátámogatás: Debreceni Egyetem; TÁMOP 4.2.4.A/2-11-1-2012-0001; TÁMOP-4.2.2.A-11/1/KONV-2012-0045; TÁMOP-4.2.2.D-15/1/KONV-2015-0016; AGR\_Piac\_13-1-2013-0008; MPA Tudományos Pályázat (2015.)

# AZ ENDOKANNABINOID TÓNUS FOKOZÁSA KOMPLEX MÓDON BEFOLYÁSOLJA A HUMÁN Szebociták Biológiai Folyamatait

**Takács Erika**<sup>1</sup>, Oláh Attila<sup>1</sup>, Zákány Nóra<sup>1</sup>, Markovics Arnold<sup>1</sup>, Simon Nicolussi<sup>2</sup>, Jürg Gertsch<sup>2</sup>, Fabiana Piscitelli<sup>3</sup>, Vincenzo Di Marzo<sup>3</sup>, Christos C. Zouboulis<sup>4</sup>, Bíró Tamás<sup>1,5</sup>

<sup>1</sup>DE-MTA „Lendület” Sejtélettani Kutatócsoport, Debreceni Egyetem, ÁOK, Élettani és

<sup>5</sup>Immunológiai Intézetek, Debrecen

<sup>2</sup>Institute of Biochemistry and Molecular Medicine, NCCR TransCure, University of Bern, Bern Svájc

<sup>3</sup>Endocannabinoid Research Group, Institute of Biomolecular Chemistry, C.N.R., Pozzuoli, Olaszország

<sup>4</sup>Departments of Dermatology, Venereology, Allergology, and Immunology, Dessau Medical Center, Dessau, Németország

**Bevezetés:** A korábbiakban kimutattuk, hogy i) a faggyúmirigyekben lokálisan termelődő endokannabinoidok (eCB; pl. anandamid [AEA]) kulcsfontosságúak a bazális lipidtermelés fenntartásában; és ii) a szebociták eCB-kezelése drámai mértékben fokozza a sejtek lipidszintetikus aktivitását. Jelen kísérleteink során az eCB-tónus extracelluláris fokozásának hatásait kívántuk megvizsgálni, amihez az eCB-ok sejtekbe történő felvételét mediáló eCB membrántranszporter (EMT) egy inhibitorával, a VDM11-gyel kezeltünk humán immortalizált SZ95 szebocitákat.

**Módszerek:** Az életképesség vizsgálata MTT-assay-vel, a lipidszintézisé Nile Red, míg a sejthalálé DiI1(5)-SYTOX Green jelöléssel történt. Expressziós vizsgálatainkhoz kvantitatív, valós idejű polimeráz láncreakciót (Q-PCR) és Western blot-ot, a transzportaktivitás mérésére [<sup>3</sup>H]-AEA felvétel assay-t, az eCB-meghatározáshoz HPLC-MS-t használtunk.

**Eredmények:** Az EMT funkcionálisan aktív humán szebocitákon, gátlása jelentősen növelte több eCB koncentrációját. Megállapítottuk, hogy a VDM11-kezelés ( $\leq 10 \mu\text{M}$ ; 48h) nem befolyásolta a szebociták életképességét, és nem okozott korai, sejtszámváltozással még nem járó apoptotikus vagy nekrotikus sejthalált sem. Kimutattuk azt is, hogy az EMT gátlásával kiváltott extracelluláris eCB-szint-fokozódás jelentősen megnövelte a lipidszintézist (48h), bár ez a növekmény elmaradt az AEA-kezelés esetében általában tapasztalhatótól. Érdekes módon a VDM11  $10 \mu\text{M}$ -ban alkalmazva látszólag csökkentette az AEA lipogén hatását, melynek hátterében a két anyag kumulatív citotoxikus hatása állhatott. Végül több fontos gyulladáshoz vezető citokin (interleukin [IL]-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8 és tumornekrozis faktor- $\alpha$ ) expressziójának vizsgálatával megállapítottuk, hogy a VDM11 ( $1 \mu\text{M}$ ) kivédte a bakteriális fertőzést modellező lipopoliszacharid kezelés gyulladáskeltő hatását.

**Következtetés:** Eredményeink arra utalnak, hogy az eCB-szignalizáció komplex módon befolyásolja a humán szebociták biológiai folyamatait, ami felveti az eCB-diszreguláció esetleges szerepét az acnehoz vezető szeborrea kialakulásában. Az eCB-tónus extracelluláris fokozása ígéretes, új irány lehet a bőrszárazsággal és gyulladásokkal járó kórképek kezelésében.

**Támogatók:** „Lendület” LP2011-003/2015

# A SEPTINEK SZEREPE PORCOSODÓ ÖSSEJT KULTÚRÁKBAN

**Roland Takács<sup>1</sup>**, János Fodor<sup>2</sup>, Csaba Matta<sup>1</sup>, Tamás Juhász<sup>1</sup>, Judit Vágó<sup>1</sup>, László Csernoch<sup>2</sup>, Róza Zákány<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Anatómiai, Szövet- és Fejlődéstani Intézet, Debreceni Egyetem ÁOK, Debrecen, Magyarország

<sup>2</sup>Élettani Intézet, Debreceni Egyetem ÁOK, Debrecen, Magyarország

<sup>3</sup>Tissue Regeneration Group, Department of Prosthodontics, Georg-August-University Göttingen, Germany

A septinek egy olyan, eukariótákban erősen konzervált fehérjecsaládhoz tartoznak, amelynek tagjait egyre inkább a citoskeleton új komponenseiként tartják számon. Az összes septin GTP-kötő fehérje, jellemzően hetero-oligomer komplexeket alkotnak és magasabban szervezett struktúrákat, pl. filamentumokat és gyűrűket hoznak létre. A septinek plazmamembrán doméneket alkotnak az endoplazmás retikulum pontáinak közelében, amik a raktár által vezérelt kalciumbelépés (SOCE) kialakításában alapvető STIM1–ORAI1 szignalizációban jelentős szerepet játszanak. Bizonyos septin típusok csendesítése (2-es, 4-es és az 5-ös) vagy az átrendeződésük gátlása gátolja a SOCE-t, illetve az ahhoz képest downstream jelátviteli folyamatokat. A septinek szerepe különböző differenciációs folyamatokban kevésbé tanulmányozott. A laboratóriumunk fő érdeklődési területét képező a porcosodásban játszott esetleges szerepük ezidáig teljesen felderítetlen területet képvisel. Laboratóriumunk korábbi eredményei arra utalnak, hogy a SOCE elengedhetetlen a porcfejlődés folyamatában.

Az itt bemutatott munkánk célja a septinek SOCE koordinálásán keresztül a porcfejlődésben betöltött funkciójának vizsgálata.

Kísérleteinket humán mezenhimális őssejteken (hMSC) végeztük. A SOCE-vel összefüggésben leírt septin típusok (2, 4 és 5) valamint a SOCE folyamatában résztvevő komponensek expresszióját mRNS és fehérje szinten is megerősítettük. Forklorfenuron (FCF)-kezeléssel gátoltuk a septinek átrendeződését, ennek nyomán a high density hMSC sejtkultúrák porc irányú differenciálódása elmaradt. A fentebb említett septin típusok szimultán csendesítését egy korábbi tanulmányban közölt adatok alapján tervezett shRNS vektorral végeztük. Az így csendesített illetve FCF-kezelt sejtek SOCE folyamatait a Fura-2 nevű kalcium-szenzitív fluoreszcens festékkel térképeztük fel. Végezetül a kontroll, FCF- és shRNS-kezelt kultúrák porcosodási folyamatait vetettük össze kondrogenikus markergének analízisével illetve szövettani festésekkel.

Bemutatott eredményeink valószínűsítik a septinek, a SOCE és a kondrogenikus folyamatok között található kapcsolatot az általunk alkalmazott őssejt kultúrákban. Ezen összeköttetések további felderítésével a septin fehérjék családjának egy rendkívül érdekes új funkciója válik ismertté, ami a septinek további differenciációs és patológias folyamatokban betöltött szerepe felé is irányt mutathat.

Munkánkat a GOP-1.1.1-11-2012-0197 pályázat segítségével finanszíroztuk.

# PROTECTIVE EFFECTS OF PITUITARY ADENYLATE CYCLASE – ACTIVATING POLYPEPTIDE (PACAP) AGAINST OXIDATIVE STRESS IN ZEBRAFISH HAIR CELLS

Natalia Kasica<sup>1</sup>, Piotr Podlasz<sup>2</sup>, Maria Sundvik<sup>3</sup>, Dora Reglodi<sup>4</sup>, Magdalena Gral<sup>5</sup>,  
Anna Jakimiuk<sup>2</sup>, Natalia Nowik<sup>1</sup>, Gabor Toth<sup>4</sup>, Jerzy Kaleczyc<sup>1</sup>, **Andrea Tamas**<sup>4</sup>

<sup>1</sup>*Department of Animal Anatomy, Faculty of Veterinary Medicine, University of Warmia and Mazury in Olsztyn, Poland*

<sup>2</sup>*Department of Pathophysiology, Forensic Veterinary and Administration, Faculty of Veterinary Medicine, University of Warmia and Mazury in Olsztyn, Poland*

<sup>3</sup>*Neuroscience Center and Department of Anatomy, University of Helsinki, Finland*

<sup>4</sup>*Department of Anatomy, MTA-PTE „Lendulet” PACAP Research Team, University of Pecs, Hungary*

<sup>5</sup>*International Institute of Molecular and Cell Biology in Warsaw, Poland*

Pituitary adenylate cyclase-activating polipeptide (PACAP) is a pleiotropic neuropeptide, with known neuroprotective functions. Previous studies demonstrated the protective role of PACAP in oxidative stress conditions in hair cells *in vitro*. The reactive oxygen species, a main product of oxidative stress, play a pivotal role in ototoxicity and are involved in presbycusis due to hair cells deterioration. Therefore, the aim of this study was to investigate the protective role of PACAP in hair cells *in vivo*. For this purpose we used zebrafish (*Danio rerio*), whose inner ear and lateral line comprises a set of individual sense organs. Neuromasts, composed of hair cells, resemble hair cells of mammalian inner ear. In our study 5 day post fertilization (dpf) zebrafish larvae were used. To induce the oxidative stress the larvae were incubated in 1.5 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> solution for 1 hour or 15 min. To investigate the protective role of PACAP the larvae were incubated with 1.5 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and 100 nM PACAP together following the 1 hour preincubation with 100 nM PACAP only. The immunohistochemical staining of zebrafish neuromasts using antibodies against acetylated tubulin and caspase-3 indicated the significant decrease of caspase-3-positive hair cells after PACAP treatment. However, PACAP treatment had no influence on p-38 MAPK pathway. Moreover, the behavioral studies revealed that PACAP ameliorates the negative influence of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> on swim activity impaired by destruction of hair cells. Additionally, expression of SOD2 and caspase-8 was studied using qPCR. However, no statistically significant differences were revealed. In conclusion, our results demonstrate the protective role of PACAP in hair cells against the oxidative stress *in vivo*.

This work was supported by OTKA K104984, TAMOP 4.2.4.A/2-11-1-2012-0001 „National Excellence Program”, Bolyai Scholarship, MTA-PTE „Lendulet” Program, Hungarian Brain Research Program - KTIA\_13\_NAP-A-III/5.

# KÜLÖNBÖZŐ EDZETTSÉGŰ CSOPORTOK IZOM MIKROSÉRÜLÉSEINEK VÉRMARKEREI

**Tékus Éva<sup>1</sup>**, Váczi Márk<sup>1</sup>, Horváth-Szalai Zoltán<sup>2</sup>, Ludány Andrea<sup>2</sup>,  
Kőszegi Tamás<sup>2,3</sup>, Wilhelm Márta<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Pécsi Tudományegyetem Természettudományi Kar Sporttudományi és Testnevelési Intézet

<sup>2</sup>Pécsi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Kar Laboratóriumi Medicina Intézet

<sup>3</sup>Pécsi Tudományegyetem Szentágothai János Kutatóközpont

Kutatásunk során a plazma aktin, gelszolin és orozomukoid szintek változását vizsgáltuk különböző edzettségű csoportokban egy excentrikus edzést követően, valamint elemeztük az említett molekulák és az edzés hatására kialakuló mikrosérülések indirekt mutatói (CK, izomfájdalom intenzitása, maximális izometriás forgatónyomat) közötti korrelációkat.

A vizsgálatban résztvevő személyek egészséges, fiatal felnőttek (n=18) voltak, akiket két csoportba (rendszeresen sportoló, inaktív) soroltunk a sportolási szokásaik alapján. Az alanyok az edzés során 90 excentrikus m. quadriceps kontrakciót hajtottak végre a domináns végtaggal Multicont II dinamométeren. A plazma aktin, gelszolin, orozomukoid és CK szinteket az edzés előtt, közvetlenül utána, valamint 1, 6 és 24 órával a fizikai aktivitást követően mértük. Az izomfájdalom intenzitását az edzés előtt, illetve egy nappal utána vizuális analóg fájdalom skálán határoztuk meg. A statisztikai elemzéseket egyszempontos, ismétléses méréses ANOVA teszttel és Pearson-féle korrelációs analízissel végeztük.

A különböző edzettségű csoportok között a plazma markerek esetén nem találtunk különbséget a vizsgált időpontokban, azonban szignifikáns idő főhatást kaptunk a gelszolin, orozomukoid és CK szintek statisztikai elemzésekor. Jelentős ( $P < 0,05$ ) különbség volt az edzés előtt és az után mért legalacsonyabb gelszolin szint között, valamint az edzés előtt és utána mért legmagasabb orozomukoid szintek között.

A plazma gelszolin szintek és más mikrosérülés mutatók (6 h-val az edzés után mért CK és az összes gelszolin szint; edzés után mért fájdalom intenzitás és az edzés utáni legalacsonyabb gelszolin szint) között szignifikáns összefüggést találtunk, hasonlóan a gelszolin és orozomukoid szintek között. Miközben az aktin és gelszolin szintek között nem volt megfigyelhető kapcsolat.

Vizsgálataink alapján egy excentrikus edzést követően a plazma aktin, gelszolin, orozomukoid szintek nem bizonyultak az edzettségi szint megfelelő mutatóinak, a vizsgálati csoportok között nem találtunk különbséget. Annak ellenére, hogy korábban a plazma aktin szintjét a különböző izomsérülések mutatójaként már leírták, méréseink alapján az izom mikrosérüléseknek feltételezhetően nem tekinthető általános mutatójának. Ezzel szemben a gelszolin és mikrosérülések, valamint a sérülést követő gyulladáshoz vezető folyamatok között kapcsolat van.

# PERIFÉRIÁS GYULLADÁSOS ÉS CENTRÁLIS SZENZITIZÁCIÓS MECHANIZMUSOK VIZSGÁLATA A KOMPLEX REGIONÁLIS FÁJDALOM SZINDRÓMA (CRPS) PASSZÍV TRANSZFER TRAUMA EGÉRMODELLJÉBEN

**Tékus Valéria<sup>1</sup>**, Szentes Nikolett<sup>1</sup>, Pohóczky Krisztina<sup>1</sup>, Dénes Ádám<sup>2</sup>,  
Andreas Goebel<sup>3</sup>, Zsuzsanna Helyes<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet, Szentágothai János Kutatóközpont, Pécsi Tudományegyetem, Pécs*

<sup>2</sup>*Molekuláris Neuroendokrinológia Kutatócsoport, Kísérleti Orvostudományi Kutatóintézet MTA, Budapest*

<sup>3</sup>*Department of Translational Medicine and Walton Pain Center, University of Liverpool, Liverpool*

A CRPS egy krónikus fájdalomállapot, melynek etiológiája és pontos patofiziológiai mechanizmusai nem ismertek. Kialakulásának hátterében kisebb sérülés hatására az érzőideg-végződésekből felszabaduló antigének elleni túlzott immunválaszt és összetett neuro-immun interakciókat valószínűsítünk. Mivel a rendelkezésre álló terápia sok esetben nem hatásos, ezért jelen kísérleteink fő célja a betegség kialakulásában szerepet játszó mechanizmusok perifériás és centrális komponenseinek meghatározása volt az általunk kidolgozott egérmodellemben. C57Bl/6 törzshe tartozó nőstény egereket kezeltünk CRPS-ben szenvedő páciensek vagy egészséges önkéntesek tisztított IgG frakcióival naponta, míg a szöveti mikrosérülés modellezésére talpbőr-izom incíziót alkalmaztunk. Az érintési érzékenységet dinamikus plantáris észteziométerrel, a lábduzzadás mértékét pletizomométerrel, és a neutrofil mieloperoxidáz enzim aktivitását in vivo imaging technika alkalmazásával vizsgáltuk. A kísérlet végén meghatároztuk a lábak szövethomogenizátumaiból a szenzoros neuropeptid és gyulladásozó citokin szinteket, illetve megvizsgáltuk az agy és gerincvelő változásait immunhisztokémiai módszerekkel.

CRPS IgG-vel kezelt csoportban az incíziót követően szignifikáns mértékű mechanikai hiperalgéziát és lábduzzadást detektáltunk, míg a neutrofil mieloperoxidáz enzim aktivitás és a szöveti P anyag (SP) szint emelkedése a kísérlet késői fázisában volt megfigyelhető. Enyhe citokinszint emelkedést (Rantes, MCP-1) csak a kísérlet korai fázisában tapasztaltunk.

Mind a periaquaduktális szürkeállományban, mind a gerincvelő L4/L5 régiójában szignifikánsan több volt a GFAP antitesttel jelölt asztrocita sejtek száma a CRPS-IgG-vel kezelt csoportban, míg az IBA1 antitesttel jelölt gliasejtek száma nem különbözött az egyes kezelési csoportok között. A kapott eredmények a centrális szenzitizációs mechanizmusok jelentős szerepét valószínűsítik, és felhasználhatók transzlációs jellegük révén új gyógyszerjelölt molekulák hatékonyságának tesztelésére és nagymértékben segíthetik a CRPS kezelés új célpontjainak azonosítását.

Támogatás: KTIA\_NAP\_13-2014-0022(MTA PTE NAP B Fájdalom Kutatócsoport, 888819); Pain Relief Foundation; TÁMOP-4.2.4.A/ 2-11/1-2012-0001



# UROCORTIN 2 KRÓNIKUS CENTRÁLIS ENERGETIKAI HATÁSAI PATKÁNYBAN

**Tenk Judit**, Csernela Zsófia, Pagáts Rebeka, Mikó Alexandra, Pétervári Erika, Balaskó Márta  
*PTE ÁOK Transzlációs Medicina Intézet*

**Bevezetés:** Emberben és más emlősökben a testtömeg hosszú távú szabályozásában két fő, súlyos egészségügyi problémákat felvető tendencia figyelhető meg: a középkorúak elhízásra, míg az idősek (főképp az aktív szöveteket érintő) fogyásra hajlamosak. Ennek hátterében az energia háztartásban szerepet játszó anabolikus (táplálékfelvétel növelő és anyagcsere csökkentő) és katabolikus (táplálékfelvétel csökkentő, anyagcsere fokozó) peptid rendszerek komplex korfüggő eltérései feltételezhetőek. Szervezetünk egyik fő katabolikus peptid családja a corticotropin rendszer. Tagjai két fő receptoron keresztül fejtik ki hatásaikat: CRF1R, illetve CRF2R közvetítésével váltanak ki anorexiát, illetve hypermetabolizmust. Míg a CRF1R-hez főképp a corticotropin-releasing factor (CRF) kötődik, addig a CRF2R egyik legfontosabb agonistája az urocortin2 (Ucn2).

Kutatócsoportunk korábban vizsgálta a CRF krónikus centrális energetikai hatásainak korfüggő eltéréseit hím Wistar patkányokban, melyek felvetették a corticotropin rendszer lehetséges szerepét az energetikai szabályozás korfüggő eltéréseiben. A corticotropin rendszer tagjai között különösen érdekesnek ígérkezik az Ucn2, amely az anorexigén hatásokat elsődlegesen közvetítő CRF2R specifikus agonistája.

**Célkitűzés:** Kutatásunk első lépéseként fiatal felnőtt állatokban vizsgáltuk az Ucn2 krónikus komplex energetikai hatásait.

**Módszerek:** Kísérleteink során fiatal felnőtt (3 hónapos) Wistar patkányokban teszteltük jobb oldalsó agykamrába adott 7 napos Ucn2 infúzió (0,3 g/ l/h, Alzet ozmotikus minipumpa) komplex energetikai hatásait. A kontroll állatok hasonló elrendezésben pirogén-mentes fiziológiás sóoldatot kaptak. A maghőmérséklet, szívfrekvencia és a spontán horizontális lokomotor aktivitás circadián értékeit biotelemetriás rendszerben (Mini-Mitter) öt percenként regisztráltuk, melyeket VitalView szoftverrel 12 órás nappali, illetve éjszakai periódusokra átlagoltunk. A táplálékfelvétel és testtömeg változásait naponta manuálisan mértük. Az eredmények statisztikai analízisére one-way és repeated-measures ANOVA tesztet használtunk.

**Eredmények:** Ucn2-vel kezelt állatokban a táplálékfelvétel, a testtömeg és a szívfrekvencia is jelentősen csökkent a kontroll állatokéhoz képest. A testhőmérséklet és az aktivitás nem mutatott eltérést.

**Következtetések:** Mind a CRF, mind az Ucn2 infúzió során szignifikáns anorexigén hatás érvényesült, bár az Ucn2 infúzió hatásosabbnak bizonyult, mint a CRF. Az Ucn2, a CRF infúzió hatásával ellentétben, jelentősen csökkentette a szívfrekvenciát is, melynek hátterében a CRF2R stressz-csökkentő hatása állhat. A jövőbeli terveink között szerepel többek között krónikus CRF2R aktivitás korfüggő eltéréseinek vizsgálata, illetve további kísérletek specifikus CRF receptor antagonisták alkalmazásával.

(34039/KA-OTKA/13-02)

# ŐSSEJT VÁLASZOK REGULÁCIÓJA RACIONÁLISAN TERVEZETT PHARMAKONOKKAL

**Tigyi Gábor**

*Department of Physiology, University of Tennessee Health Science Center Memphis, USA*

A lizofoszfátidsav (LPA) növekedési faktor tulajdonságokkal rendelkező lipid mediátor. Az LPA hatásait G-férféjéhez kapcsolt receptorokon keresztül fejti ki. Az LPA szintézisét az autotaxin (ATX) elnevezésű lizofoszfólipáz enzim végzi a lizofoszfátidilkolin fejcsoportjának lehasításával. Az elmúlt évtizedek során folytatott vizsgálataink arra utalnak, hogy az LPA-ATX rendszer mind a bélhám, a csontvelő és a tumor őssejteknek a túlélését képes megnövelni. Ezen őssejt válaszoknak farmakológiai úton történő befolyásolását tűztük ki gyógyszerfejlesztési programunk céljává. Előadásunkban beszámolunk a bélhám és hematopoietikus progenitor őssejtjeinek sugárhatásra létrejövő apoptotikus sejthalálának megelőzéséről az LPA2 receptorra tervezett specifikus agonista vegyületekkel, amelyek egerekben és majmokban szignifikáns túlélést biztosítanak halálos dózisú gamma besugárzást követően. Úgyszintén beszámolunk az emlő és melanoma tumor őssejtek aggresszív metastatikus képességének és terápiás rezisztenciájának gátlásáról az ATX enzimre kifejlesztett gátló molekulák alkalmazásával. Összefoglalólag az ATX enzim és LPA receptorok új terápiás targetek lehetnek számos betegség kezelésében. A kutatás szponzorai: NIAID AI080405, NCI CA092160, és a I01BX007080 pályázat a Biomedical Laboratory Research & Development Service of the VA Office of Research and Development-től.

# KAPNOGRAM PARAMÉTEREK A TÜDŐKÁROSODÁS DETEKTÁLÁSÁRA KARDIOPULMONÁLIS BYPASST KÖVETŐEN

Tolnai József<sup>1</sup>, Peták Ferenc<sup>1</sup>, Fodor H. Gergely<sup>1</sup>, Balogh Ádám László<sup>2</sup>, Babik Barna<sup>2</sup>

<sup>1</sup>SZTE ÁOK, Orvosi Fizikai és Orvosi Informatikai Intézet

<sup>2</sup>SZTE ÁOK, Aneszteziológiai és Intenzív Terápiás Intézet

**Bevezetés:** A kapnogram görbe a kilélegzett gázkeverék szén-dioxid tartalmának légzési cikluson belüli dinamikus változását mutatja. A kapnográfia a légútbiztosításon túl fontos információval szolgálhat a légutak és a tüdőparenchyma mechanikai tulajdonságairól, illetve a pulmonális keringés állapotáról. A kapnográfia ugyan rutinszerűen alkalmazott monitorozási eljárás minden lélegeztetett beteg esetében, de diagnosztikus értéke jelenleg még kiaknázatlan. Célunk ezért annak feltérképezése volt, hogy a kardiopulmonális bypass (CPB) következtében létrejövő tüdőfunkció romlás tükröződik-e a kapnogram paraméterekben. Vizsgálni kívántuk továbbá, hogy a kapnogram mely alaktényezője vagy holttéparamétere alkalmas leginkább a CPB-t követő légúti és tüdőszöveti elváltozások jellemzésére.

**Módszerek:** Elektív szívűműtetre kerülő, altatott és lélegeztetett betegeket (n=101) vizsgáltunk nyitott mellkas mellett 5 perccel a CPB előtt és után. A légúti ellenállás (dRaw), a tüdőszöveti csillapítás (dG) és a tüdőszöveti rugalmasság (dC) tényezőinek változásait alacsonyfrekvenciás kényszerített oszcillációs technikával mértük. Főáramú idő- és térfogat kapnográfia segítségével meghatároztuk a normalizált II. és III. fázis meredekségek változásait az idő (dSnIIIT, dSnIIIT) és a térfogat (dSnIIIV, dSnIIIV) függvényében. A térfogat kapnográfias görbékéből az anatómiai Fowler- (dVDF), valamint az élettani Bohr- (dVDB) és Enghoff-holtterekben (dVDE) bekövetkezett változásokat számoltunk.

**Eredmények:** A CPB jelentős légúti, és szöveti ellenállás növekedést és az elasztikus tulajdonságok romlását okozta (dRaw:  $459 \pm 69\%$ , dG:  $97 \pm 16\%$ , dC:  $-7,2 \pm 2,4\%$ ,  $p < 0,0001$ ). Amíg a dRaw és a dSnIIIT értékek között szoros kapcsolatot ( $r = -0,7$   $p < 0,0001$ ) találtunk, addig a dG gyengébb, de szignifikáns összefüggést mutatott több kapnográfias indexben CPB hatására bekövetkezett változással is (dSnIIIT:  $r = 0,4$ ; dSnIIIT:  $r = -0,27$ ; dSnIIIV:  $r = 0,41$ ; dSnIIIV:  $r = -0,33$ ; dVDF:  $r = 0,27$ ;  $p < 0,0001$ ). A tüdőszövetben bekövetkezett CPB okozta rugalmasságváltozás szignifikáns összefüggést mutatott a III. fázis meredekség paraméterekkel mind az idő, mind pedig a térfogat függvényében (dSnIIIT:  $r = 0,28$ ; dSnIIIV:  $r = 0,33$ ;  $p < 0,0001$ ).

**Következtetés:** A légúti és tüdőszöveti paraméterekben bekövetkezett összetett és kóros változások megjelentek a különböző kapnogram indexekben is: (1) a bronchokonstriktiót leginkább a II. fázis meredekségének csökkenése jelzi, (2) a III. fázis meredekségében megjelenő emelkedés pedig kevert módon tükrözi a légúti és a tüdőszöveti mechanika romlását.

**Támogatók:** TÁMOP 4.2.4.A/2-11-1-2012-0001, OTKA K115253

# LEHET-E A SZÍV NÁTRIUM-KÁLCIUM KICSERÉLŐJE (NCX) ANTIARITMIÁS CÉLPONT?

**Tóth András,** Nagy Norbert, Kormos Anita, Szepesi Judit, Sebők Zsuzsa, Papp Gy. Gyula, Varró András

*Szegedi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet*

A szívritmiák kialakulásában általában kritikus szerepet tulajdonítanak a  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  kicserélő (NCX) kórosan fokozott működésének, a kísérleti eredmények azonban sokszor ellentmondásosnak bizonyultak. Az ellentmondások egyik lehetséges magyarázata a korai NCX gátlók nem kielégítő szelektivitása lehet. Kísérleti projektünk célja az NCX gátlás hatékonyságának vizsgálata volt az intracelluláris  $\text{Ca}^{2+}$  homeosztázis és az akciós potenciál morfológia súlyosan aritmogén változásainak megelőzésére/kivédésére, két NCX gátlószer, a gyakran alkalmazott SEA-0400 és az újabb, szelektívebb ORM-10103 segítségével. A méréseket izolált szívizomsejteken, illetve multicelluláris szívpreparátumokon végeztük: (1) a késői  $\text{Na}^+$ áram (I<sub>NaL</sub>) aktiválásával megnövelt intracelluláris  $[\text{Ca}^{2+}]$  esetén, illetve (2) szimulált iszkémia/reperfúzió protokoll során, melyet önmagában (mérsékelt „low-flow” iszkémia modell), továbbá strofantin előkezelést követően (súlyos „low-flow” iszkémia modell) alkalmaztunk. Akciós potenciálokat izolált kutya kamrai szívizomsejtekből, Purkinje rostokból és papilláris izmokból mikroelektrodokkal regisztráltuk, az NCX áramot egész sejt patch clamp módszerrel, az intracelluláris  $\text{Ca}^{2+}$ tranzienseket  $\text{Ca}^{2+}$ -érzékeny fluoreszcens festékkel (Fluo-4) mértük. (3) Egy harmadik kísérletsorozatban regionális iszkémia (LAD lezorítás) protokollt végeztünk Langendorff perfundált patkányszíveken és vizsgáltuk az NCX, az  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ kicserélő (NHE), illetve a kombinált NCX + NHE gátlás hatékonyságát a reperfúzió-indukált kamrai aritmiák megelőzésére/kivédésére. Az aritmia diagramok elemzésével meghatároztuk a halmozott extraszisztolés, kamrai tachikardiás és kamrafibillációs periódusok gyakoriságát és időtartamát. Eredményeink egyértelműen igazolják, hogy a szelektív, részleges NCX gátlás – vélhetően elsősorban a reverz NCX áram gátlásával – rendkívül hatékonyan kivédi a  $\text{Ca}^{2+}$ -homeosztázis zavarai által okozott aritmogén utódepolarizációkat, de nem alkalmas az akciós potenciálmorfológia aritmogén eltolódásainak normalizálására. Izolált, perfundált szívekben az NHE gátlás sokkal hatékonyabban csökkentette a reperfúzió-indukált szubsztrát-dependens aritmiák gyakoriságát és időtartamát, mint az NCX gátlás. Meglepő módon az egyidejű NCX + NHE gátlás nem volt képes az önmagában alkalmazott NCX gátlás antiaritmiás hatékonyságának fokozására.

# TRANZIENS RECEPTOR POTENCIÁL CSATORNÁK VASZKULÁRIS BIOLÓGIAI SZEREPE

**Tóth Attila**, Czikora Ágnes, Csató Viktória, Csipő Tamás, Fülöp Gábor Áron, Pető Attila, Kovács Andrea, Oláh Nikolett

*Klinikai Fiziológiai Tanszék, Kardiológiai Intézet, Orvostudományi Kar, Debreceni Egyetem*

A tranziens receptor potenciál (TRP) csatornák kationokra permeábilisak. Ennek megfelelően szerepük van a membránpotenciál és az intracelluláris  $Ca^{2+}$ -koncentráció szabályozásában. Számos élettani funkciójukat azonosították, melyek közül munkánk során a vaszkuláris hatásokra koncentráltunk.

Vizsgálatainkban behatóbban a capszaicin receptor TRPV1, az ankirin családba tartozó TRPA1 és a melasztatin csoportba tartozó TRPM4 vaszkuláris hatásaival foglalkoztunk.

A TRPV1 expresszálódik bizonyos erek simaizomsejtjeiben és az erek körül végződő szenzoros neuronokban. A simaizomban expresszálódó TRPV1 stimulációja vazokonstriktiót vált ki, míg a szenzoros neuronokban expresszálódó receptor aktivációja vazodilatatív hatású. A két receptor populáció némileg eltérő farmakológiai tulajdonságokkal rendelkezik, így vannak olyan agonisták, amelyek a szenzoros neuronális TRPV1-et jelentősen alacsonyabb koncentrációban aktiválják. A szenzoros neuronokban expresszálódó TRPV1 deszenzibilizálható, míg a vaszkuláris simaizomsejtekben található receptor nem.

A TRPA1 kutatásában áttörést hozott annak felismerése, hogy a csatorna SH reagensekkel modulálható. Saját kísérleteinkben az allil-izotiocianát (AITC), a NaHS és a dimetil triszulfid (DMTS) hatásait vizsgáltuk. Az AITC szelektív vazodilatációt váltott ki, mely TRPA1-/-egérben nem jelentkezett, ezzel szemben a NaHS hatásai nem bizonyultak TRPA1 specifikusnak. A DMTS vazodilatatív hatását az AITC-hez képest három nagyságrenddel kisebb koncentráció mellett is képes volt kiváltani.

A TRPM4 kutatásának komoly gátját jelenti, hogy specifikus modulátorai nem ismertek. Saját kísérleteinkben a TRPM4 antagonistá 9-fenanol hatásait vizsgáltuk. Eredményeink szerint a TRPM4 kulcsszerepet játszhat a simaizom konstriktió élettani szabályozásában: gátlása blokkolja a simaizom összehúzódást, függetlenül attól, hogy azt alfa receptor stimulációval (norepinefrinnel), vagy magas extracelluláris  $K^{+}$  segítségével váltottuk ki.

Eredményeink azt sugallják, hogy a TRP család tagjai fontos szerepet játszhatnak az értámérő és a véreloszlás szabályozásában.

# GPCR-EK SZEREPE AZ EREK ÖSSZEHÚZÓDÁSÁNAK SZABÁLYOZÁSÁBAN

**Tóth Attila**, Rutkai Ibolya, Fülöp Gábor Áron, Czikora Ágnes, Csipő Tamás

*Klinikai Fiziológiai Tanszék, Kardiológiai Intézet, Orvostudományi Kar, Debreceni Egyetem*

Magyarországon a vezető halálok a kardiovaszkuláris betegségek csoportja. A magas vérnyomás népbetegség, nagyjából minden negyedik embert érint. Kezelésére hatékony gyógyszerek állnak rendelkezésre, azonban a betegség nem gyógyítható. Ebben komoly szerepe van annak, hogy a pathomechanizmus a magas vérnyomásos esetek több, mint 90%-ában nem ismert.

Kísérleteinkben G-fehérje kapcsolt receptorok szerepét vizsgáltuk a vaszkuláris kontraktilitásra. A vazokonstrikciót kiváltó anyagok közül a noradrenalin, KCl, szerotonin, angiotenzin-II és endothelin hatásait tanulmányoztuk, míg a vazodilatatív hatású anyagok közül az acetilkolinral végeztünk kísérleteket.

A vazokonstrikció  $Ca^{2+}$  érzékenységében jelentős különbséget figyeltünk meg. A  $Ca^{2+}$  érzékenységet fokozó hatások a KCl < szerotonin < angiotenzin-II < endothelin sorrendben alakultak. A  $Ca^{2+}$  érzékenyítő hatások hátterében a Rho-kináz és a protein kináz C aktiválását bizonyítottuk.

Behatóan tanulmányoztuk az angiotenzin-II által kiváltott konstrikciót. Az angiotenzin-II hatására vaszkuláris szövetekben tranziens konstrikció alakul ki, melynek mértékében a deszenzitizáció fontos szerepet játszik. Ezt a deszenzitizációt kiegészíti az angiotenzin konvertáló enzim endogén regulációja és az angitenzin-II lebontásában szerepet játszó enzimek aktivitása, mely mechanizmusok közös eredője a vaszkuláris simaizom összehúzódása és vélhetőleg a magas vérnyomás kialakulása/fennmaradása.

Adataink felvetik a G-fehérje kapcsolt receptorok szerepét a vaszkuláris simaizomsejtek  $Ca^{2+}$  érzékenységének szabályozásában és a magas vérnyomás pathomechanizmusában.

# A MEDIÁLIS PREFRONTÁLIS KÉRGI SEJTEK SZABÁLYOZÓ SZEREPE AZ AUDITOROS SENZOROS KAPUZÓ MECHANIZMUSBAN

**Tóth Attila<sup>1</sup>**, Petykó Zoltán<sup>1,2</sup>, Gálosi Rita<sup>1</sup>, Szabó Imre<sup>3</sup>, Karádi Kázmér<sup>3</sup>, Feldmann Ádám<sup>3</sup>, Péczely László<sup>1</sup>, Kállai Veronika<sup>1</sup>, Karádi Zoltán<sup>1,2</sup>, Lénárd László<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>*Élettani Intézet, Általános Orvosi Kar, Pécsi Tudományegyetem, Pécs*

<sup>2</sup>*Molekuláris Neuroendokrinológiai és Neurofiziológiai Kutatócsoport, Szentágothai Kutató Központ, Pécsi Tudományegyetem, Pécs*

<sup>3</sup>*Magatartástudományi Intézet, Általános Orvosi Kar, Pécsi Tudományegyetem, Pécs*

Az ismétlődő ingerek hatására történő válaszcsökkenés, a habituáció, a szenzoros szűrő folyamatok közé tartozik. A megrezzenési reakció prepulzív ingerre történő válaszcsökkenése a prepulzív gátlás (PPI). Kísérleteinkben azt vizsgáltuk, hogy a mediális prefrontális kéreg (mPFC) vajon szerepet játszik-e a PPI habituációjában. Kialakítottunk egy olyan Megrezzenési/Startle (pulse alone) és PPI (prepulse+pulse) protokollt, amelyben a megrezzenési ingert sorozatosan alkalmazva sem alakul ki ebben a szituációban (pulse alone) habituáció. Ezt az általunk kifejlesztett 3 dimenziós fejgyorsulásmérő eszközzel kvalitatív módon mértük. Ily módon lehetőségünk volt a mPFC neuronok aktivitásának vizsgálatára mindkét ingerlési protokoll során. Az irodalmi adatok alapján feltételeztük, hogy a mPFC idegsejtjei részt vesznek a PPI szabályozásában, de a szenzoros kapuzó folyamatban való részvételükkel kapcsolatos neuronaktivitás eddig ismeretlen volt. Az általunk regisztrált egysejtaktivitási adatokból az derült ki, hogy a mPFC neuronok reagálnak a prepulzív, valamint az azt követő, megrezzenést kiváltó ingerre a PPI protokoll során. Elemzéseink alapján elkülönítettünk két csoportot: 1) rövid válasz - a neuronális aktivitásváltozás nem haladta meg az 50 ms-ot és 2) hosszú válasz - az idegsejt aktivitás több, mint 50 ms volt. A rövid idegi válaszok analízise során, PPI alatt, az ingerre válaszoló sejteknél a következő neuronaktivitási mintázatok voltak megfigyelhetők: a) csak a megrezzenő ingerre, de a prepulzív ingerre nem válaszoltak, b) mindkét ingerre válaszoltak, de a megrezzenést kiváltó ingerre nagyobb volt az aktivitás (aszimmetrikus válasz), c) mindkét ingerre azonos mértékben válaszoltak (szimmetrikus válasz) és d) eltérő válasz nagyságot mutattak a két ingerre és a prepulzív ingerre mutatott aktivitás volt a nagyobb. A mPFC sejtek populációs aktivitási válaszainak összevetésekor kiderült, hogy a szimmetrikus csoportba tartozó sejtek válaszmintázatai a 3 különböző ingerre (pulse alone, prepulse+pulse) nem tértek el, szemben az aszimmetrikus csoport tagjainál regisztráltakal. Eredményeink alapján feltételezzük, hogy a mPFC neuronok válaszai kapcsolatban állnak a PPI habituációjával. A hosszú válaszok elemzése és a szimultán felvett lokális mezőpotenciál analízis további segítséget nyújthat a mPFC szerepének megvilágítására a szenzoros kapuzó mechanizmus szabályozásában.

# SZTEROID ÉRZÉKENY TRANZIENS RECEPTOR POTENCIÁL MELASZTATIN (TRPM) IONCSATORNÁK VIZSGÁLATA HUMÁN BŐR EREDETŰ SEJTEKEN

Kelemen Balázs<sup>1</sup>, Ambrus Lídia<sup>1</sup>, Sárvári Anitta Kinga<sup>1</sup>, Czifra Gabriella<sup>1</sup>,  
Bíró Tamás<sup>1,2</sup>, **Tóth István Balázs**<sup>1</sup>

<sup>1</sup>MTA-DE „Lendület” Sejtélettani Kutatócsoport, Élettani Intézet, Debreceni Egyetem, ÁOK, Debrecen

<sup>2</sup>Immunológiai Intézet, Debreceni Egyetem, ÁOK, Debrecen

A bőrt beidegző szenzoros neuronokon kifejeződő tranziens receptor potenciál (TRP) ioncsatornák fontos szerepet játszanak a hőmérséklet, a fájdalom és a viszketés érzékelésében, de a bőr nem-neurális sejtfeleségein is megtalálhatók, ahol részt vesznek a sejtek differenciálódásának, mediátor termelésének és a bőr barrier funkcióinak szabályozásában. A szenzoros neuronok ez elmúlt években a hőérzékeny TRP csatornák egy újabb tagját, a melasztatin alcsaládba tartozó, TRPM3-at írták le, mint a hő és fájdalomérzékelésben szerepet játszó ioncsatornát. Ugyanakkor ezidáig nem rendelkezünk információval a TRPM3 kifejeződéséről a bőr nem-neurális sejtjein. Ezért célul tűztük ki a TRPM3 funkcionális expressziójának vizsgálatát a humán bőr különböző sejtípusain.

Vizsgálataink során a TRPM3 endogén agonistájával, a neuroszteroid pregnenolon szulfáttal (PS) kezeltük a sejteket és az intracelluláris Ca<sup>2+</sup> koncentráció változásán keresztül vizsgáltuk a csatorna aktivációját Fura-2 fluoreszcens Ca<sup>2+</sup> indikátor segítségével.

Méréseink során a PS nem indukálta az intracelluláris Ca<sup>2+</sup> koncentráció változását primer normál humán epidermális vagy szőrtüsző külső gyökérhüvely eredetű keratinocitákon, sem HaCaT humán keratinocita sejtvonalon. Ugyanígy nem aktiválta a humán faggyúmirigy eredetű SZ95 sejteket valamint az egér NIH-3T3 fibroblasztokat. Ezzel szemben primer humán dermális fibroblasztokon (HDF) a PS dóziszfüggő Ca<sup>2+</sup> tranzienseket váltott ki, amik extracelluláris Ca<sup>2+</sup> hiányában teljesen eltűntek, jelezve, hogy kialakulásukért a felszíni membrán Ca<sup>2+</sup> permeábilis csatornái lehetnek felelősek. Meglepő módon a TRPM3 ultrapotens agonistája a CIM0216 nem váltott ki Ca<sup>2+</sup> tranzienseket arra utalva, hogy a PS hatását egy másik Ca<sup>2+</sup> csatorna közvetítheti. Irodalmi adatok alapján a PS az NMDA receptorok pozitív alosterikus modulátora és aktiválhatja a TRPM3-mal közeli rokonságot mutató TRPM1-et is. További vizsgálatainkban farmakológiai eszközökkel karakterizáltuk a PS aktivált Ca<sup>2+</sup> csatornát HDF sejteken. Azt tapasztaltuk, hogy sem az NMDA receptor blokkoló D-AP5, sem a TRPM3 antagonist isosakuranetin nem gátolta a PS indukált Ca<sup>2+</sup> belépést. A TRPM1-nek specifikus farmakológiája egyelőre nem ismert, de az utóbbi években kimutatták, hogy Zn<sup>2+</sup> ionok gátolják, ami megkülönbözteti a TRPM3-tól. Vizsgálataink során azt tapasztaltuk, hogy a Zn<sup>2+</sup>-mikromoláris koncentrációban hatékonyan gátolta a PS indukált Ca<sup>2+</sup> tranzienseket HDF sejteken. Méréseinket három független donorból izolált sejteken is megismételtük hasonló eredménnyel. A kontrollként alkalmazott, a TRPM3α2 izoformáját stabilan overexpresszáló HEK293T sejteken jelentősen különböző farmakológiai profilt találtunk: a PS indukált Ca<sup>2+</sup> válaszokat az isosakuranetin gátolta, míg a Zn<sup>2+</sup> és a D-AP5 nem befolyásolta. Eredményeink alapján arra következtetünk, hogy a HDF sejteken PS kiváltotta Ca<sup>2+</sup> tranzienseket a TRPM1 közvetítheti. Jelenlegi kísérleteinkben a TRPM1 molekuláris jelenlétét vizsgáljuk HDF sejteken.



# IN VIVO STUDY OF THE PERIVASCULAR GLIA FOLLOWING CEREBRAL LESIONS IN VARIOUS EXPERIMENTAL MOUSE MODELS

László Tóth<sup>1</sup>, Dávid Szöllősi<sup>1,2</sup>, Katalin Kis Petik<sup>2</sup>, Mihály Kálmán<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Dept. of Anatomy, Histology and Embryology, Semmelweis Univ., Budapest, Hungary*

<sup>2</sup>*Dept. of Biophysics and Radiation Biology, Semmelweis Univ., Budapest, Hungary*

It has been previously suggested that astrocyte processes detach from the vascular wall following a lesion (Jaeger and Blight, 1997). This might play a role in the post-lesion leakage of the blood-brain barrier, because astrocytes have a pivotal role in the induction and maintenance of the barrier. The events of the first post-lesion minutes are unable to be studied by traditional histological methods. We applied two-photon microscopy to study the gliovascular connections and the permeability of the blood-brain barrier in vivo immediately following a lesion. The microscope was a Femtonics Femto2D-Inverted (INMIND 278850) two-photon microscope at the Dept. of Biophysics and Radiation Biology of Semmelweis University. After recording videos and taking pictures, we used ImageJ to create 3D reconstructions.

For the in vivo observations we used supravital fluorescent labelling: astrocytes were labelled by iv. administered sulforhodamine 101, whereas vascular exudation was visualized by fluorescein isothiocyanate labelled dextran. Transgenic animals were also used: a strain with green fluorescent protein labelled fractalkine to visualize microglia, and another strain that had yellow fluorescent protein labelled endothelial and astrocyte-like cells. For the transgenic animals thanks to Á. Dénes and F. Erdélyi (Institute of Experimental Medicine of the Hungarian Academy of Sciences). Flowing blood was recognizable by a characteristic pattern of moving red blood cells. Examinations were performed on ketamine-xylazine anaesthetized mice, after craniotomy and removal of the dura mater. Four models were used: i) cryogenic lesion with a copper rod cooled in dry ice (Raslan et al, 2012), ii) laser-combustion using the laser of the two-photon microscope (Davalos et al, 2005), iii) photocoagulation following the iv. administration of Rose Bengal dye (Labat-gest and Tomasi, 2013) and iv) bilateral carotid ligation (Kitagawa et al, 1998). Observation period followed the lesion immediately and lasted for two hours. After monitoring, the animals were fixed by transcordial perfusion and the in vivo labelling was combined with immunohistochemistry for glial markers, GFAP and others.

Cryogenic lesions resulted in a prompt and extensive exudation but gliovascular connections did not alter. Laser-combustion provoked only a confined exudation. Photocoagulation stopped circulation but without exudation and change of gliovascular connections. Carotid artery ligation also interrupted circulation, but without exudation and glial reaction. The cells labelled in vivo by sulforhodamine 101 or yellow fluorescent protein were later proved to be astrocytes by immunohistochemistry.

Conclusions: i) only the direct vascular destruction (laser or cryogenic) resulted in prompt exudation; ii) neither these nor the stop of circulation provoked glial detachment from vessels or other prompt glial reaction.

# ENDOTHELIAL NITRIC OXIDE CONTRIBUTES TO NEUROVASCULAR COUPLING IN THE MOUSE SOMATOSENSORY CORTEX

**Peter Toth**<sup>1,2,3</sup>, Stefano Tarantini<sup>1</sup>, Antonio Davila<sup>4</sup>, M. Noa Valcarcel-Ares<sup>1</sup>, Zsuzsanna Tucsek<sup>1</sup>, William E. Sonntag<sup>1</sup>, Joseph A. Baur<sup>4</sup>, Anna Csiszar<sup>1</sup>, Zoltan Ungvari<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Department of Neurosurgery, University of Pecs, Pecs, Hungary*

<sup>2</sup>*Szentagothai Research Center, University of Pecs, Pecs, Hungary*

<sup>3</sup>*Reynolds Oklahoma Center on Aging, Department of Geriatric Medicine, University of Oklahoma Health Sciences Center, Oklahoma City, OK, USA*

<sup>4</sup>*Institute for Diabetes, Obesity, and Metabolism and Department of Physiology, Perelman School of Medicine, University of Pennsylvania, Philadelphia, PA, USA*

Impairment of neurovascular coupling cerebral blood flow (CBF) is thought to play a critical role in the genesis of cognitive impairment associated with aging and pathological conditions associated with accelerated cerebrovascular aging (e.g. hypertension, obesity). Although previous studies demonstrate that endothelial dysfunction plays a critical role in neurovascular un-coupling in these conditions, the role of endothelial NO mediation in neurovascular coupling responses is not well understood. To establish the link between endothelial function and functional hyperemia, neurovascular coupling responses were studied in mutant mice overexpressing or deficient in eNOS and the role of P2Y1 receptors in purinergic gliendothelial coupling was assessed. We found that genetic depletion of eNOS (eNOS<sup>-/-</sup>) and pharmacological inhibition of NO synthesis significantly decreased the CBF responses in the somatosensory cortex evoked by whisker stimulation and by administration of ATP. Overexpression of eNOS enhanced NO mediation of functional hyperemia. In control mice the selective and potent P2Y1 receptor antagonist MRS2179 attenuated both whisker stimulation-induced and ATP-mediated CBF responses, whereas in eNOS<sup>-/-</sup> mice the inhibitory effects of MRS2179 were blunted. Collectively, our findings provide additional evidence for purinergic gliendothelial coupling during neuronal activity, highlighting the role of ATP-mediated activation of eNOS via P2Y1 receptors in functional hyperemia.

# **IMMUNOHISTOCHEMISTRY OF CEREBELLAR SEIZURES: MOSSY FIBER AFFERENTS PLAY IMPORTANT ROLE IN SEIZURE SPREAD AND INITIATION IN THE RAT**

**Zoltán Tóth<sup>1</sup>**, Gergely Molnár<sup>1</sup>, András Mihály<sup>1</sup>, Beáta Krisztin-Péva<sup>1</sup>,  
Marietta Morvai<sup>1</sup>, Zsolt Kopniczky<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Department of Anatomy, Faculty of Medicine, University of Szeged, Szeged, Hungary*

<sup>2</sup>*Department of Neurosurgery, Faculty of Medicine, University of Szeged, Szeged, Hungary*

Clinical reports suggest the participation of the cerebellum in epilepsy. Mossy fibers are the main excitatory afferents of the cerebellar cortex; most of them use glutamate and strongly excite granule cells through NMDA- and AMPA receptors. The role of the pontocerebellar mossy fibers in cerebellar neuronal hyperactivity was investigated in the present study. We detected neuronal hyperactivity through the expression of the glutamate induced c-fos protein, by means of immunohistochemistry and immunoblotting in the vermis and in the hemispheres. Generalized seizures were induced by means of intraperitoneal 4-aminopyridine injections. Following the 4-aminopyridine seizures, the c-fos expression of cerebellar granule cells was significantly elevated at 1.5 h in every lobule. Maximum c-fos expression was seen at 3 h. The role of the pontocerebellar mossy fiber afferents in the induction of c-fos expression was examined after the transection of the middle cerebellar peduncle on the left side. Immunohistochemical analysis 14 days after the surgery revealed that the synapsin I immunoreactivity was significantly reduced in the cerebellar cortex on the operated side, compared to the sham operated controls and to the non-operated cerebellar hemisphere of the operated animals; indicating the degeneration of mossy fiber terminals. Transection of the middle cerebellar peduncle suppressed cerebellar c-fos expression in the vermis and in the hemispheres significantly. These findings suggest the strong involvement of the middle cerebellar peduncle and the pontocerebellar mossy fibers in the pathophysiology of cerebellar epilepsy.

# A MINDENNAPOS TESTNEVELÉS BEVEZETÉSÉNEK HATÁSA A VÁZRENDSZERI ELVÁLTOZÁSOKRA

**Tóvári Ferenc<sup>1</sup>**, Tóvári Anett<sup>2</sup>, Prisztóka Gyöngyvér<sup>1</sup>

<sup>1</sup>PTE TTK Sporttudományi és Testnevelési Intézet

<sup>2</sup>PTE ETK Egészségtudományi Doktori Iskola – Vasútegységügyi Kft. Harkány

**Bevezetés:** A „mindennapos testnevelés” lépcsőzetesen történő bevezetése (2012) jelentős változásokat hozott az iskolai testnevelési foglalkozások szervezésében, és a tartalmi megvalósítás kérdéskörében is. Céljai között jelentős szerepet tölt be a fiatalok egyre inkább inaktív életmódjából adódó káros hatások ellensúlyozása, a fizikai erőnlét fokozása, és a sporttevékenység közösségteremtő erejének kihasználása mellett az egészséges testi fejlődés biztosítása.

Ismeretes, hogy az iskolai életkorban rendkívül fontos, hogy a naponta több órára padba kényszerült gyermekek vázrendszeri fejlődésében kiküszöböljük a testtartásért felelős izmok közötti egyensúly megbomlását; a serdülőkori gyors növekedés miatt – amennyiben az izomzat nem tudja követni – aanyag tartás, gerincferdülés, egyéb mozgásszervi problémák kialakulását, stb.

Ennek kapcsán vetődött fel a kérdés, hogy az iskolákban jelenleg rendelkezésre álló tárgyi- és személyi feltételrendszer, infrastruktúra mellett meg lehet-e tölteni a tanórákat a céloknak megfelelő tartalommal, és megoldja-e a mozgásszervi-, vázrendszeri problémák prevencióját? Működnek-e az iskolaorvosi szolgálaton belül megfelelő szűrővizsgálatok, amelyek segítik a testnevelő tanárokat abban, hogy a mozgásszervi elváltozások különböző formáit és szintjeit elszenvedő gyermekek megfelelő mozgásterápiában részesüljenek?

**Anyag és módszerek:** Vizsgálatunkban (2014-15.) 10 megyében 187 testnevelő tanárt kérdeztünk meg elektronikus és papíralapú kérdőíven keresztül egyrészt a felkészültségükről, az iskolaorvosi szűrővizsgálatokról, az oktatás infrastruktúrájáról, a testnevelési órák hatásáról a diákok egészségi állapotára vonatkozóan. Feltételezésünk az volt, hogy a testnevelés órák jelenlegi körülményei nem segítik a mozgásszervi problémák megelőzését; valamint az iskolaorvosi szolgálattal sincs kellő összhang a prevencióban.

**Eredmények:** Eredményeink azt tükrözik, hogy az iskolák többségében nem megoldott a szakszerű szűrővizsgálat, a tárgyi feltételek hiányosságai negatív hatással lehetnek a tanulók egészségi állapotára, és a speciális mozgásfeladatok oktatását a tanárok többsége a jelenlegi körülmények között nem tudja megoldani.

**Következtetés:** Összességében jelen vizsgálat eredményei felhívják a figyelmet arra, hogy a mindennapi testnevelésben körültekintő hozzáértés és szakmai összefogás (iskolaorvosi szűrővizsgálatok + testnevelő tanárok) szükséges ahhoz, hogy a jövőben egy valóban egészségesebb felnőtt társadalomban, kevesebb vázrendszeri és mozgásszervi probléma akadályozza a fizikailag is aktív életvitelt, javítva ezzel az egyének életminőségét.

**Kulcsszavak:** mindennapos testnevelés, mozgásszervi elváltozások, szakmai együttműködés

# KISSPEPTIN HATÁSA A DIABÉTESZES PATKÁNYOK VÉRLEMEZKE FUNKCIÓJÁRA

**Török Viktória Réka**<sup>1</sup>, Stumpf Csaba<sup>1</sup>, Váczi Sándor<sup>1</sup>, Csabafi Krisztina<sup>1</sup>, Szabó Gyula<sup>1</sup>, Földesi Imre<sup>2</sup>, Ónody Rita<sup>2</sup>, Mezei Zsófia<sup>1</sup>

<sup>1</sup>SZTE ÁOK Kóréletani Intézet, Szeged

<sup>2</sup>SZTE ÁOK Laboratóriumi Medicina Intézet, Szeged

**Bevezetés:** Szakirodalomból ismert a hiperglükémia, hiperlipidémia, szabadgyök felszaporodás vérlemezke aktiváló, aterogén hatása. Az arginin-fenilalanin(RF)-amid peptidcsaládba tartozó kisspeptin (KP) részt vesz a glükóz homeosztázis fenntartásában. Kimutatták jelenlétét ateroszklerotikus plakkban, valamint vérzési időt nyújtó, és vérlemezke szám csökkentő hatását. Jelen kísérletünkben megvizsgáltuk, hogy a cukorbeteg patkányok vérlemezkeinek aggregációs készsége függ-e az induktor típusától, a kisspeptin dózisától, és e hatás receptor gátlóval felfüggeszthető-e.

**Módszerek:** Diabéteszes Wistar-Kyoto hím patkányokat Streptozotocinnal (i.p.2x65mg/tskg) hoztunk létre. Cukorbetegség kialakulását laboratóriumi és fizikális vizsgálatokkal igazoltuk. Vérlemezkek aggregációs készségét hirudinos teljes vérből Multiplate aggregométerrel határoztuk meg. Aggregációt ADP-vel, arachidonsavval és kollagénnel indukáltunk, 0; 1,25; 2,5; 5; 10x10<sup>-8</sup> mol/L KP-13, és/vagy RF-9 antagonistá jelenlétében. Megvizsgáltuk az aggregáció sebességét (AU/min) és maximumát (AU), valamint az aggregációs görbe alatti terület nagyságát (U). Statisztikai értékelést ANOVA-t követően, Tukey post hoc teszttel végeztük.

**Eredmények:** Cukorbeteg állatok Se glükóz, kalcium szintje, vizelet mennyisége emelkedett, míg testsúlyuk, vérlemezke számuk csökkent. Az induktorok közül a kollagén bizonyult a leghatásosabbnak. Az egészséges és cukorbeteg kontroll állatok vérlemezkeinek kollagén indukált aggregációs készsége szignifikáns különbséget nem mutatott. 5x10<sup>-8</sup> mol/L KP-13 hatására az egészséges patkányok vérlemezkeinek aggregációs készsége a kontrollhoz viszonyítva fokozódott, (97,4±4,1 vs. 78,3±4,2AU). E hatás diabéteszes állatok vérlemezkei esetén szignifikánsan kisebb mértékű volt. 2,5; 5; 10x10<sup>-8</sup> mol/L RF-9 kontrollhoz képest növelte az egészséges állatok trombocitáinak aggregációs készségét, míg nem befolyásolta a diabéteszes patkányok vérlemezkeit. RF előkezelés egyik állatcsoportban sem módosította az 5x10<sup>-8</sup> mol/L KP-13 hatását.

**Megbeszélés:** Cukorbeteg állatok vérlemezkeinek kisebb in vitro aggregációs készségének oka lehet, in vivo aktiválódásuk, amit alátámaszt a szérum kalcium szint növekedése és vérlemezke szám csökkenése is. RF-9 KP antagonistá hatását jelen vizsgálati körülményeink között nem sikerült bizonyítani.

**Támogatók:** Nemzeti Agykutató Program-KTIA\_13\_NAP-A-III/8, Roche Kft.

# NYUGALMI EEG TELJESÍTMÉNY VIZSGÁLATA AZ ALFA FREKVENCIA-TARTOMÁNYBAN FŐEMLŐS SKIZOFRÉNIA MODELLEN

**Trunk Attila**<sup>1</sup>, Oláh Vilmos<sup>1</sup>, Stefanics Gábor<sup>2</sup>, Hernádi István<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Grastyán Endre Transzlációs Kutatóközpont, Pécsi Tudományegyetem, Pécs*

<sup>2</sup>*Translational Neuromodeling Unit (TNU), Institute for Biomedical Engineering, University of Zurich & ETH Zurich, Switzerland*

A skizofrénia egy olyan mentális betegség, melynek jellemzője az abnormális szociális viselkedés és a valóság téves érzékelése. A WHO felmérése alapján a világ lakosságának 0.6-1%-a érintett ebben a betegségben. Több hipotézis is megtalálható a szakirodalomban, mely megpróbálja leírni a skizofrénia mechanizmusát. Ezen hipotézisek közül az glutamát és/vagy dopamin neurotranszmitter(ek) diszfunkciójához kötöttek, aminek a következtében csökkent alfa teljesítmény figyelhető meg a nyugalmi skalp elektroencefalogramon (EEG). Jelen tanulmányunkban N-methyl-D-aspartate receptor (NMDAR) antagonistá, ketamin, által indukált hatást vizsgáltuk fiatal felnőtt főemlősökön (NHP). Húsz elektród segítségével nem-invazív nyugalmi EEG-t rögzítettünk kettő NHP-ről. Az elektródok elhelyezése koncentrikus sémát követett. A felvételi modell ismétléses és placebo-kontrollos volt. Az egyik vizsgálati ülésben intramuszkulárisan 1 mg/ttkg ketamin, míg másik ülésben fiziológiás sóoldatot (kontroll) kaptak az állatok. Az EEG alfa teljesítményeket a 8-12 Hz-es tartományban EEGLAB segítségével elemeztük. A folyamatos EEG adatot kettő mp-es szakaszokra daraboltuk (egyedi próba). A statisztikai elemzések során figyelembe vettük az egyedi próbák közötti varianciát. A null hipotézist (ketamin és kontrollcsoportok egyezősége) nem-parametrikus bootstrap statisztikával teszteltük. A további elemzések azt mutatták, hogy az alfa teljesítmény szignifikáns csökkent ketamin hatására. Továbbá az eredmények azt mutatták, hogy ez a hatás a kezelés kezdetétől 30 percig fennállt. Ketamin hatására a csökkent alfa teljesítmény megegyezik az irodalmi humán vizsgálatokban kapott eredményekkel. Összességében elmondható, hogy a jelen tanulmányban vizsgált farmakológiai skizofrénia főemlős modell alkalmas agyi elektrofiziológiai korrelátumainak vizsgálatára éber állapotban. Az EEG precíz érzékenysége miatt modellünk alkalmas lehet különböző farmakológiai terápiák hatékonyságának tesztelésére a skizofrénia, vagy egyéb pszichiátriai betegségek főemlős modelljeiben.

# THE USE OF NOVEL SINGLE TRIAL EEG ANALYSIS METHODS IN NEUROPHARMACOLOGICAL RESEARCH

**Trunk Attila**<sup>1</sup>, Andreas A. Ionannides<sup>2</sup>, Vilmos Oláh<sup>1</sup>, Stefanics Gábor<sup>3</sup>, Hernádi István<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Endre Grastyán Translational Research Center, University of Pécs, Hungary*

<sup>2</sup>*AAI Scientific Cultural Services Ltd. Laboratory for Human Brain Dynamics, Nicosia, Cyprus*

<sup>3</sup>*Translational Neuromodeling Unit (TNU), Institute for Biomedical Engineering, University of Zurich & ETH Zurich, Switzerland*

The way brain activity depends on task effects and how it is modulated by pharmacological manipulation is usually studied in terms of changes of the averaged signals from selected MEG/EEG channels of interest. However, restricting the analysis to only the average signal ignores the fact that some of the variability of the MEG signal is due to changes depending on the state of the brain and other environmental factors that change the way stimuli are processed at the cortical level. Therefore, traditional averaging techniques may fail to find several of the important information processing correlates that are not precisely time-locked to relevant brain activity or to the stimulus, or are simply masked by variations that are not relevant to the targeted manipulation. Therefore to accurately describe the effects of pharmacological manipulation we need to develop methods beyond averaging, that analyze evoked responses over space and time, in a way that accounts for single trial variability. Here we introduce a novel method that is simple yet robust based on a categorization of the single trial peaks from circumscribed scalp areas over time. The main advantage of the method is that by not averaging the ongoing background activity we can improve the sensitivity of the analysis.

The present paper demonstrates the importance of the single trial analysis approach in systems level neuropharmacology by presenting the analysis for two EEG recordings from our laboratory: 1) In the first experiment we examined the dynamics of the decreasing effects in resting state EEG in the alpha frequency range in a non-human primate model of schizophrenia by acute administration of NMDA glutamatergic receptor antagonist ketamine. 2) In the second experiment we examined processing at the cortical level, testing caffeine, as a psychoactive stimulant on human volunteers in a psychomotor vigilance test.

# AZ ENYHE INTRACELLULÁRIS STRESSZ ÉS AZ AUTOFÁGIA JELENTŐSÉGE A RESVERATROL SEJTVÉDŐ HATÁSÁBAN

**Ulakcsai Zsófia Éva**, Bagaméry Fruzsina, Szökő Éva, Tábi Tamás  
*Semmelweis Egyetem Gyógyszerhatástani Intézet, Budapest*

**Bevezetés:** A resveratrollal, a vörös szőlő héjában megtalálható flavonoid komponenssel kapcsolatban korábban kimutattuk, hogy képes kivédeni a szérum megvonás okozta kaspáz-3 aktivációt. Ezen hatás hátterében a p38 aktiváció szerepét igazoltuk, ami felveti az enyhe intracelluláris stressz jelentőségét, de a pontos hatásmechanizmus még nem teljesen tisztázott. Mindezek alapján kísérletünk célja a resveratrol sejtvédő hatásában fontos szerepet játszó mechanizmusok és a molekuláris célpontok azonosítása volt.

**Módszerek:** A vizsgálathoz nem-transzformált, primer egér embrionális fibroblasztokat használtunk. Az apoptózist szérum-megvonással váltottuk ki. A kaspáz-3 aktivitást, a reaktív oxigén vegyületek (ROS) termelődését és a mitokondriális membránpotenciál változást fluoreszcens módszerrel mértük. Az autofágia és a receptorális támadáspontok, mint az ösztrogén és az aromás szénhidrogén receptorok szerepét speciális agonisták és antagonisták jelenlétében tanulmányoztuk.

**Eredmények:** A szérum megvonás megnövelte a ROS termelődést, amit a resveratrol kezelés tovább fokozott, emellett, szérum-megvonás jelenlétében a resveratrol a mitokondriális membránpotenciált is szignifikánsan depolarizálta. Az autofágia inhibitor chloroquin megszüntette a resveratrol citoprotektív hatását a szérum-megvonással szemben, ami az autofágia jelentőségére utal a resveratrol sejtvédő hatásában. Vizsgálataink azt mutatták, hogy sem az aromás szénhidrogén receptor, sem az ösztrogén receptor nem játszik szerepet a resveratrol citoprotektív hatásában.

**Következtetés:** A resveratrol feltételezhetően enyhe intracelluláris stresszt indukálva és autofágiát aktiválva fejt ki protektív hatását a szérum-megvonás okozta kaspáz-3 aktivációval szemben.



# A FÁRADÁS ÉS REGENERÁCIÓ CENTRÁLIS ÉS PERIFÉRIÁS KARAKTERISZTIKÁJA INTENZÍV PLYOMETRIÁS EDZÉS UTÁN

Váczai Márk, Río-Rodriguez Dan<sup>1</sup>, Négyesi János<sup>2,3</sup>, Fernandez del Olmo Miguel<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Ciencias do Deporte e a Educación Física, Universidad de A Coruna

<sup>2</sup>Testnevelési Egyetem, Budapest

<sup>3</sup>Fájdalomambulancia, Budapest

**Bevezetés:** A plyometriás (PL) edzés hatására fellépő akut fáradási mechanizmusok ismertek, bár mindezidáig a kutatásokban elsősorban teljes fáradásig végzett PL edzések hatásait vizsgálták. Továbbá 24 órával PL edzést követően egy másodlagos erődeficit jelentkezik, melynek neuromechanikai okai kevésbé ismertek. Kutatásunk célja az volt, hogy egy optimális volumenű PL edzés hatására bekövetkező akut neuromechanikai változásokat vizsgáljuk.

**Anyag és módszerek:** Tíz fiatal férfi 15x10 maximális felugrást végzett egy lábbal. Az edzés előtt, közvetlenül utána és 24 órával később vizsgáltuk a quadriceps izom akaratlagos és elektrostimulációs erő kifejtését és erő-felfutási meredekségét, alacsony (10Hz) és magas frekvenciájú (100Hz) izomrángás görbáját, valamint az akaratlagos aktiváció mértékét. Agykérgi mágneses stimulációval vizsgáltuk a corticospinalis idegpálya ingerelhetőségét.

**Eredmények:** A 100Hz-es stimulációt kivéve az edzés után közvetlenül valamennyi akaratlagos és elektrostimulációs erőparaméter csökkent. Az akaratlagos aktiváció, valamint a corticospinalis idegpálya ingerelhetősége nem változott. 24h-val az edzés után enyhe izomfájdalom jelentkezett, de valamennyi erőparaméter regenerálódott, a quadriceps EMG aktivitása pedig növekvő tendenciát mutatott.

**Következtetés:** Az alkalmazott PL edzés alacsony frekvenciájú perifériás izomfáradást okozott a quadricepsben, míg centrális fáradási okokat nem találtunk. Nem kizárható, hogy az esetleges myofibrilláris sérülés miatti erődeficitet fokozott motoros egység szinkronizáció kompenzál.

# PAC-1 RECEPTOR AGONISTA MAXADILÁN NEUROPROTEKTÍV SZEREPE BCCAO-INDUKÁLTA RETINA DEGENERÁCIÓBAN

**Váczy Alexandra**<sup>1</sup>, Somoskeöy Tamás<sup>1</sup>, Reglődi Dóra<sup>1</sup>, Kovács Krisztina<sup>4</sup>, Szabó Edina<sup>1</sup>, Lőkös E.<sup>1</sup>, Werling Dóra<sup>1</sup>, Kővári P.<sup>1</sup>, Tamás A.<sup>1</sup>, Atlasz T.<sup>1,2,3</sup>

A hipofízis adenilát-cikláz aktiváló polipeptid (PACAP) neuroprotektív hatását számos kutatás bizonyította különböző neurodegeneratív megbetegedésekben. Ismeretes, hogy permanens bilaterális arteria carotis communis okklúzió (BCCAO) károsodást okoz a patkány retinájában. Előzetes kutatásainkban, a PACAP1-38 és a PACAP1-27 neuroprotektív hatását igazoltuk BCCAO modellen. A retinában mindhárom PACAP receptor (PAC1, VPAC1, VPAC2) megtalálható. Molekuláris és immunhisztokémiai módszerek alapján kimutatták, hogy retinoprotektív hatását nagy valószínűséggel a PAC1-receptoron keresztül fejt ki. Jelen kutatás célja a szelektív PAC1-receptor agonista maxadilán retinoprotektív hatásának vizsgálata, BCCAO-indukálta ischémiában.

Kísérleteinket Wistar patkányokon (n=38) hajtottuk végre. A BCCAO műtétet követően, a jobb oldali szemekbe intravitreálisan maxadilánt (0,1 μM vagy 1 μM), míg a bal oldali szemekbe minden alkalommal a vivőanyagot (PBS) juttattuk. Kontrollként áloperált (SHAM) állatok csoportja szolgált, melyek ugyanezen kezelésben részesültek. Két hét posztoperatív időt követően a retina standard morfológiai és molekuláris biológiai analizésére került sor.

A 0,1 μM és 1 μM intravitreális maxadilán injekció szignifikáns védelmet nyújtott a BCCAO-operálta szemekhez viszonyítva a retina különböző rétegvastóságainak- (kivéve 0,1 μM az OPL rétegben) valamint a GCL réteg sejtszámának vizsgálata alapján. Továbbá az 1 μM maxadilán kezelés hatásosabbnak bizonyult az ONL, INL, IPL, OLM-ILM és a GCL tekintetében. Mindemellett a maxadilán képes volt a BCCAO indukálta károsodásnál jelentkező egyes citokinek (CINC-1, IL-1α, L-selectin) expresszióját is szignifikánsan csökkenteni.

Hisztológiai- és molekuláris biológiai analizésünk a PAC1-receptor neuroprotektív szerepét támasztja alá BCCAO-indukálta retina károsodásban. További immunhisztokémiai és molekuláris biológiai kutatások folynak a maxadilán, mint lehetséges neuroprotektív ágens további hatásmechanizmusának pontosabb felderítésére.

A kutatást támogatták: OTKAK104984, Bolyai Kutatási Ösztöndíj, Astellas Pályázat

# A TÁPLÁLKOZÁS IDEGRENSZERI SZABÁLYOZÁSÁNAK VIZSGÁLATA

**Varga Balázs**, Deák-Pocsai Krisztina<sup>1</sup>, Nagy Vanda<sup>1</sup>, Varga Balázs<sup>2</sup>, Nagy Katalin<sup>1</sup>, Murnyák Balázs<sup>1</sup>, Kiss Henrietta<sup>1</sup>, Juhász Béla<sup>2</sup>, Szilvássy Zoltán<sup>2</sup>, Hortobágyi Tibor<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Debreceni Egyetem, ÁOK, Patológiai Intézet, Neuropathológiai Tanszék

<sup>2</sup>Debreceni Egyetem, ÁOK, Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet

Az agy fogadja és integrálja a perifériás szervek felől érkező hormonális és neuronális szignálokat. Ezen adathalmazt a hypothalamus és az agytörzs dolgozza fel. A hypothalamus egy komplex szabályozási kört képvisel, mely kapcsolatban áll a neocortex, subcorticalis régiók, limbikus/mesolimbicus rendszer régióival. Ezen területek felelősek az étvágy, a jóllakottság, az öröm érzetért, tehát mindazokért, melyek alapvetően meghatározzák a táplálkozási viselkedést.

A melanin koncentráló hormon (MCH) jelentőségét az energia háztartásban ill. a táplálkozási viselkedésben számos kísérleti eredmény támasztja alá. Ez a 19 aminosavból felépülő neuropeptid emlősökben főként a laterális hypothalamus és zona incerta területén koncentrálódik. Két G-proteinhez kapcsolt fehérjéhez kötődik, az MCH-R1 (melanin koncentráló hormon1) receptorhoz és MCH-R2 receptorhoz.

Kísérleteinket humán, formalin fixált, paraffinba ágyazott mintákon végeztük. Célkitűzéseink közé tartozott a MCH és MCH-R1 fehérjék humán hypothalamusban történő azonosítása, illetve azok megoszlásának vizsgálata. Első lépésként elvégeztük a kísérletek során alkalmazott antitestek és a kísérleti körülmények optimalizálását. Vizsgálatainkat kromogén immunhisztokémiai módszerrel végeztük, amelyhez nyúlban, illetve kecskében termeltetett MCH és MCH-R1 elleni specifikus antitesteket használtunk. A jelölődések láthatóvá tétele DAB-bal (3,3'-Diaminobenzidine) illetve VIP-pel (very intense purple), míg a sejtmagok festése haematoxilinnel történt.

A megfelelő kísérleti körülmények beállítása után, humán hypothalamusban mind a MCH, mind a MCH-R1 elleni antitesttel immunpozitivitást figyelhettünk meg. Mindemellett MCH és MCH-R1 jelölődést tapasztaltunk a medulla oblongata és a pons területén is.

A munka a AGR\_Piac\_13-1-2013-0008 projekt keretében valósult meg.

# STRESSZFEHÉRJE CO-INDUCER GYÓGYSZERJELÖLT LEHETSÉGES ANTIDIABETIKUS HATÁSÁNAK ÉRTÉKELÉSE GOTO-KAKIZAKI PATKÁNYMODELLEN

Varga Balázs, Bombicz Mariann<sup>1</sup>, Priksz Dániel<sup>1</sup>, Kurucz Andrea<sup>1</sup>, Szabó Katalin<sup>1</sup>,  
Literáti Nagy Péter<sup>2</sup>, Szilvássy Zoltán<sup>1</sup>, Juhász Béla<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Debreceni Egyetem Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet

<sup>2</sup>N-Gene Kutatási és Fejlesztési Kft

**Bevezetés:** Az inzulinrezisztencia kezelésére napjainkig semmilyen célzott terápiás lehetőség nem áll rendelkezésre, holott az inzulin rezisztens állapot per se rendelkezik szövődményekkel, akkor is, ha diabetes még nem alakult ki. Kiugró patofiziológiai jelentősége miatt igen valószínű, hogy az inzulinrezisztencia a közeljövőben az obezitáshoz és a hiperkoleszterinémiához hasonlóan mind új, törzskönyvezett gyógyszerek, mind gyógyító eljárások szintjén kiemelt terápiás célpont legyen. Új eredmények alapján az egyik lehetséges inzulin-érzékenyítő mechanizmus az alacsony molekulású stresszfehérjék indukciója/koindukciója révén elért inzulin érzékenység fokozódás.

**Célkitűzés:** Jelen kutatásban célunk hidroxámsav-származékok, valamint hagyományos antidiabetikumok hatásának értékelése II-es típusú diabeteses Goto-Kakizaki (GK) patkánymodellen. **MÓDSZEREK:** A GK állatokat 12 héten keresztül napi egyszeri szondázás segítségével a következő hatóanyagokkal kezeltük: I.: glibenclamid; II.: metformin; III.: pioglitazon; IV.; vivőanyag; V.: BGP-15 (új stresszfehérje co-inducer). A kezdeti és végpontokban echocardiographiás vizsgálatokat végeztünk, 4 hetente pedig orális glükóz-tolerancia tesztet (OGTT) hajtottunk végre az állatokon. Metabolikus ketrecekben mértük a táplálék- és vízfogyasztást, valamint a vizelet és a széklet mennyiségét. A végpontban elektoretinográfiával (ERG) vizsgáltuk a diabeteses retinopathia jeleit.

**Eredmények:** Az állatok súlynövekedését a kontroll csoporthoz képest az összes kísérleti szer mérsékelte. A táplálék- és vízfogyasztás magas volt a beteg kontroll, glibenclamid- és metformin-kezelt csoportokban, míg a legalacsonyabb értékek a BGP-15-kezelt csoportban voltak mérhetőek. Az echocardiographiás mérések során enyhe disztolés diszfunkció volt megfigyelhető a beteg kontroll csoportban, míg a BGP-15 kezelt állatokban mind a szisztolés, mind a diasztolés paraméterek kiugróan magasak voltak, szignifikáns szívfrekvencia-csökkenés mellett. Az OGTT eredményei alapján a pioglitazon és BGP-15 kezelés szignifikánsan csökkentette a vér glükóz szinteket a kontrollcsoporthoz viszonyítva. Az ERG módszerrel detektált értékek a vízús jelentős romlását mutatják a beteg kontrollcsoportban, míg a stresszprotein co-inducer BGP-15 a normál szintre, vagy kissé magasabbra emelte az értékeket.

**Diszkusszió:** Az előzetes eredmények alapján a stresszfehérje co-inducer molekulák kedvező hatásokkal rendelkeznek diabeteses állapotban, a vizsgálatok további folytatását tervezzük molekuláris biológiai módszerek elvégzésével.

**Tématámogatás:** A kutatás a TÁMOP-4.2.2.D-15/1/KONV-2015-0016, KUTEGY (J.B.), OTKA K 120345, OTKA K 120295, AGR\_PIAAC\_13-1-2013-0008 kereteiből valósult meg. A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósult meg.

# A MELANIN-KONCENTRÁLÓ HORMON (MCH) RECEPTOR OCCUPANCIA VIZSGÁLATA POZITRON EMISSZIÓS TOMOGRÁF (PET) SEGÍTSÉGÉVEL

**Varga Balázs**, Kurucz Andrea<sup>1</sup>, Bombicz Mariann<sup>1</sup>, Priksz Dániel<sup>1</sup>, Szabó Katalin<sup>1</sup>, Trencsényi György<sup>2</sup>, Kertész István<sup>2</sup>, Nagy Tamás<sup>2</sup>, Szilvássy Zoltán<sup>1</sup>, Juhász Béla<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Debreceni Egyetem Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet

<sup>2</sup>Debreceni Egyetem Nukleáris Medicina Intézet

A melanin-koncentráló hormon (MCH) egy hypothalamicus peptid, mely valószínűleg fiziológias szerepet játszik többek között a táplálékfelvétel, hangulati állapot, alvás-ébrenlét, valamint energiaegyensúly szabályozásában. Az MCH ligand eloszlását és az MCH receptor occupanciát gallium-68-al jelzett 68Ga-NODAGA-MCH1-KI származékkal kívántuk meghatározni patkányokba történő intravénás, illetve intracranialis beadás után PET segítségével.

Sztereotaxis eljárás során a vizsgálati anyagunk elméletileg bármely agyterületre eljuttatható, azonban a túlzott intracranialis nyomásfokozódás elkerülése érdekében a patkányok laterális agykamráiba injektáltunk (icv.).

Az állatok fejbőrét borító szőrzetet előzetes Ketamin/xylazin-nal (50/5 mg/ttkg) történő általános érzéstelenítést követően eltávolítjuk. A fejbőrt középen, a glabellától a füleket összekötő képzeletbeli horizontális vonalig egy sagittális irányú egyenes metszéssel megnyitjuk, majd a koponyán lévő kötőszövetet 5%-os H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-oldattal letisztítjuk. A koponya szabadabbá válása után az állatot sztereotaxis készülékben rögzítjük, és a Bregmát véve kiindulópontként, a sztereotaxis atlasz által megadott koordináták szerint (pl. AP:-0,8mm, L:+/- 1,3mm, DV: -4,2mm) meghatározzuk az injektálás helyét. A koponya megnyitása fúróval (DREMEL 300, F013 0300) történik. A kb. 1-2 mm átmérőjű nyíláson keresztül a sztereotaxisba befogott, megfelelően pozícionált Hamilton-fecske-tűjét az agyba vezetjük, majd a megfelelő mélységet elérve az MCH-molekulát beadjuk (11Jl/perc sebességgel) mindkét oldali laterális kamrába. A hatóanyag beadását követően a tűt lassan eltávolítjuk az agyszövetből, majd H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-vel történő fertőtlenítés és a koponyán keletkezett nyílások cementtel történő rekonstrukciója után a fejbőrt összevarrjuk.

Az általunk létrehozott radioaktív izotóppal jelölt ligand (gallium-68-al jelzett MCH molekula) sem önmagában, sem pedig a vér-agy gáton való átjutást megkönnyítő anyagok (pl. cyclosporin) alkalmazása után nem volt képes a vér-agy gáton áthatolni, azonban időfüggő halmozódást mutatott a hypophysis, a máj, valamint a vékonybél egyes területein, ami az MCH perifériás szerepére utal. Az icv. adás után időfüggő dúsulás volt megfigyelhető főként a hypothalamus területén. A perifériás dúsulás, valamint az intracerebroventricularis adminisztráció humán vonatkozású nehézségei miatt további vizsgálatok szükségesek az MCH molekula perifériás hasznosulásának és szerepének felderítése érdekében. TÁMOGATÁS: KUTEGY (J.B.), TÁMOP-4.2.2.D-15/1/KONV-2015-0016, AGR\_PIAAC\_13-1-2013-0008.

# AZ AMELOGENEZIS FOLYAMATÁHOZ SZÜKSÉGES BIKARBONÁT TRANSZPORT FOLYAMATOK MODELLEZÉSE POLARIZÁLT HAT-7 SEJTEK BEN

**Varga Gábor, Rácz Róbert, Bori Erzsébet**  
*Orálbiológiai Tanszék, Semmelweis Egyetem, Budapest*

**Bevezetés:** Az orális epitéliumból differenciálódó ameloblaszt sejtek fő feladata a fogzománc kialakítása. A fogzománc a test legkeményebb szövete közel 96%-os mineralizáltsági fokot is elérve. A szabályozott kristályképződés érdekében az ameloblasztoknak egyszerre kell ellátniuk mind az ásványi anyagok mineralizációs térbe juttatását, mind a mineralizációs tér megfelelő pH értékének biztosítását. Bár számos pH-szabályozásban és bikarbonát transzportban szerepet játszó transzportert és ioncsatornát írtak le ameloblaszt sejtekben, ezek működését mindez ideig funkcionális vizsgálatokkal még nem támasztották alá. Ezért, a HAT-7 preameloblaszt sejtvonalat felhasználva létre kívántunk hozni egy a transzport folyamatok tanulmányozására alkalmas új, két-dimenziós funkcionális modellt. Ezen túlmenően megvizsgáltuk, mely jelátviteli útvonalak játszanak szerepet a vektoriális bikarbonát transzportban, valamint, hogy fluorid expozíció zavarhatja ezt a folyamatot.

**Anyag és módszer:** Zárt monolayer létrehozása céljából a HAT-7 sejteket Transwell membránra ültettük, és differenciáló tápoldatban tenyésztettük (DMEM/F12 + 10%FBS + 10nM dexamethazon + 2,1mM Ca<sup>2+</sup>). A transepitél rezisztencia (TER) változását, mint a szoros kapcsolatok és a polarizáció kialakulásának indikátorát 4 napig követtük EVOM készülékkel. Az intracelluláris pH változását mikrofluorometriával, a BCECF fluorokróm segítségével detektáltuk. A transzporterek aktivitását a külső oldatok megfelelő összetételével és specifikus inhibitorokkal tanulmányoztuk. Az ún. ammónium-pulzus technikával, egy hirtelen intracelluláris acidifikáció és Na<sup>+</sup> megvonás után a Na-visszaadásra történő pH kompenzációt tudtuk vizsgálni.

**Eredmények:** A HAT-7 sejtek polarizált monolayert képeztek a Transwell membránokon, jelentős transepitél ellenállást mutatva. Jelentős nátrium/proton cserélő, anion cserélő és nátrium/kálium/klorid-kotranszporter tevékenységet detektáltunk a sejteken megfelelő szelektív inhibitorok alkalmazásával. Méréseink szerint a HAT-7 sejtek transepitél bikarbonát transzportja jelentősen megnövekedett mind intracelluláris kalcium ionokat, mind cAMP-t mobilizáló ingerek (ATP és forskolin) hatására. Nem találtunk szignifikáns változást a bikarbonát szekréciónban akut fluorid expozíció során, bár 1 mM fluorid jelentős mértékű sejtpusztulást okozott 24 órás alkalmazás esetén.

**Következtetések:** A HAT-7 ameloblaszt sejtek funkcionálisan expresszálják a vektoriális bikarbonát szekréciónhoz szükséges transzportereket és csatornákat. A vektoriális ion transzport mind intracelluláris kalcium ionokat, mind cAMP-t mobilizáló ágensek alkalmazásával fokozható. A sejtek túlélése szempontjából már toxikus koncentrációban a fluorid ionok nem befolyásolják közvetlenül a vektoriális bikarbonát transzportot. A HAT-7 modell egy ígéretes eszköz abból a célból, hogy funkcionális vizsgálatokat végezzünk a fogzománc képződéséhez kapcsolódó transzportfolyamatok jobb megértéséhez.

# A SPLANCHNIKUS MIKROKERINGÉS NEM-INVÁZÍV MONITOROZÁSA MESENTERIALIS ISCHAEMIA-REPERFÚZIÓS ÁLLATMODELLBEN

**Varga Gabriella**, Szűcs Szilárd, Lajkó Norbert, Ugocsai Melinda, Boros Mihály, Érces Dániel  
*Szegedi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Sebészeti Műtéttani Intézet*

**Bevezetés:** A vékonybél keringési zavarai járó kórképekben fontos diagnosztikus módszer lehet a bél mikrokeringés monitorozása, de jelenleg erre a célra nem állnak rendelkezésre megfelelő klinikai eljárások. Elméletünk szerint a bélből származó metán a splanchnikus keringésbe, majd a kisvérkörbe kerül, így feltételezésünk szerint a kilégzési metán szintek változásai utalhatnak a vékonybél keringésére, így lehetővé téve a mikrokeringés állapotának nem-invazív meghatározását. Tanulmányunk célja a szisztémás és lokális hemodinamikai változások vizsgálata volt a kilélegzett metán szintben bekövetkező változások tükrében, mesenterialis ischaemia-reperfúzió (I/R) során.

**Módszerek:** Altatott, lélegeztetett SPRD patkányokon 45 perces mesenterialis ischaemiát követő 1 órás reperfúzió következményeit monitoroztuk. Az álműtött és az I/R csoport szintetikus levegőt, míg a kezelt I/R csoport állatai 3 ml 2,5 % metánt tartalmazó, normoxiás levegőt kaptak a jejunum lumenébe a reperfúzió kezdete előtt 5 perccel. Monitoroztuk az állatok kilélegzett metánkibocsátását (diódalézeres fotoakusztikus módszerrel), a makrohemodinamikai paramétereket (artériás középnyomást (MAP), artéria mesenterica superior áramlását (AMSF) és az ileum serosa mikrokeringését (RBCV, intravitalis videomikroszkóppal).

**Eredmények:** Az I/R átmeneti MAP csökkenést okozott a kontroll csoport értékeihez képest, a natív I/R csoportban a kilélegzett metán és az AMSF között nem tudtunk korrelációt kimutatni. Ugyanakkor az I/R+metán csoportban pozitív összefüggés volt tapasztalható mindkét keringési paraméterben ( $r=0,783$ ). A mikrokeringést jellemző RBCV és a kilélegzett metán között mindkét I/R csoportban szignifikáns összefüggést találtunk (I/R:  $r=0,68$ ; I/R+metán:  $r=0,66$ ).

**Következtetés:** Az I/R állatmodellben az exogén metán bevitel esetében bizonyítottuk a pozitív összefüggést a splanchnikus mikrokeringés és a kilélegzett metán-szint között. Eredményeink alapján a kilélegzett metán-szint mérése alkalmazható, non-invazív monitorozási módszer lehet a splanchnikus mikrokeringési diszfunkcióval járó kórképekben.

**Támogatás:** NKFI-116861, OTKA-K104656

# NEURONÁLIS CIKLOOXIGENÁZ-2 EXPRESSZIÓ VIZSGÁLATA HIPOXIÁS-ISZKÉMIÁS ENKEFALOPÁTIA ÚJSZÜLÖTT MALAC MODELLJÉBEN

**Varga Viktória**, Németh János, Kovács Viktória, Remzsó Gábor, Tóth-Szúki Valéria, Oláh-Németh Orsolya, Domoki Ferenc  
*SZTE ÁOK Élettani Intézet*

**Bevezetés:** A ciklooxigenáz-2 (COX-2) enzim konstitutívan expresszálódik a központi idegrendszerben. A COX-2 eredetű prosztanoidok részt vesznek a neuronális plaszticitás szabályozásában, ill. a neurovaszkuláris csatolás kialakításában. A perinatális aszfixia (PA) és az azt követő reoxigenizáció során viszont a COX-2 által termelt prosztanoidok és reaktív oxigénszármazékok szerepet játszanak a hipoxiás-iszkémiás encefalopátia (HIE) kialakításában.

Korábbi eredményeink szerint 4 órával PA után nem változik meg a neuronális COX-2 immunreaktivitás. Jelen kísérleteinkben ezért azt vizsgáltuk, hogy 24 órás túlélést követően kimutathatóak-e PA-indukált COX-2 expresszió-változások különböző agyi területeken, ill. befolyásolja-e a neuroprotektív hidrogénkezelés a COX-2 génkifejeződést.

**Módszerek:** Kísérleteinket altatott, mesterségesen lélegeztetett, hím újszülött malacokon végeztük. Az állatokat 3 csoportba osztottuk: időkontroll (n=7), aszfixia (n=7), aszfixia + H<sub>2</sub> (n=7). Az aszfixiát speciális hipoxiás-hiperkapniás (6% O<sub>2</sub>, 20% CO<sub>2</sub>) gázkeverék 20 perces belélegeztetésével idéztük elő. Hidrogénkezelést az aszfixiát követő 4 órában, 2,1% H<sub>2</sub>-t tartalmazó gázkeverék belélegeztetésével végeztünk. A vitális paramétereket folyamatosan monitoroztuk. A 24 órás túlélést követően az állatok agyát eltávolítottuk. Az ezekből készült szövettani metszeteken COX-2 immunhisztokémiát végeztünk, majd meghatároztuk a COX-2 immunpozitív neuronok százalékos arányát.

**Eredmények:** Az aszfixiás csoportban a parietális és occipitális kéregben, valamint a hippocampus CA3 régiójában a COX-2 immunpozitív neuronok aránya szignifikánsan magasabb volt a kontroll állatokéhoz képest. Az aszfixia + H<sub>2</sub>csoportban viszont a neuronális COX-2 expresszió lényegében megegyezett a kontroll csoport értékeivel, azaz szignifikánsan alacsonyabb volt az aszfixiás csoportban mért COX-2 expresszióval. A frontális és temporális kéregben, valamint a törzsdúcokban a COX-2 emelkedés megfigyelhető volt néhány aszfixiás állatban, de ez a tendencia nem volt statisztikailag szignifikáns. A cerebellum, a gyrus dentatus és a CA1 régió területén viszont teljesen megegyezett a COX-2 immunpozitív neuronok aránya mindhárom csoportban.

**Megbeszélés:** Az általunk alkalmazott transzlációs PA/HIE állatmodell alkalmas a neuronális COX-2 expresszió változásainak vizsgálatára. Korábbi megfigyeléseink alátámasztják, hogy a COX-2 enzim expressziója jelentős eltéréseket mutat az egyes agyterületek között, azonban eredményeink szerint ezek a különbségek nem feltétlenül esnek egybe a COX-2 expresszió PA-indukált fokozódásának regionális megoszlásával. Eredményeink hozzájárulnak a COX-2 enzim HIE kialakulásában betöltött patofiziológiai szerepének alaposabb megismeréséhez.

**Támogatók:** OTKA-K100851, Nemzeti Agykutató Program KTIA\_13\_NAP-A-I/13



# ALZHEIMER-KÓR RIZIKÓFAKTORAINAK TRANSZKRIPTOMIKAI ÉS PROTEOMIKAI VIZSGÁLATA

**Várhelyi Zoltán Pál**, Pákáski Magdolna, Oláh Zita, Ivitz Eszter Virág, Fodor Eszter, Sántha Miklós, Datki Zsolt László, Kálmán János  
*Szegedi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Pszichiátriai Klinika*

**Bevezetés:** Az Alzheimer-kór (AK) kialakulásának számos rizikófaktora van, melyek között az obezitás, a hiperlipidémia, és a környezeti stresszhatások gyakran együtt tehetőek felelőssé. A fenotipikus túlsúly következtében az adipokin molekulák (leptin, adiponektin) pathogenetikus szerepe is valószínűsíthető az AK kialakulásában. Vizsgálatunk célja a három rizikófaktor közötti pathomechanizmus feltérképezése, a zavart lipidháztartás és a környezeti stressz adiponektin receptorok (adipoR1 és adipoR2) expressziójára gyakorolt izolált és együttes hatásának vizsgálata volt.

**Anyagok és Módszerek:** Kísérletünkben vad típusú (VT) és humán apolipoprotein B-100 transzgen (ApoB) egértörzseket alkalmaztunk (n=30/törzs). Az egereket öt csoportba osztottuk, és különböző hosszúságú (0, 3, 7, 14, 21 nap; n=6/csoport) immobilizációs stressznek tettük ki. Ezután az állatok hippokampuszában (HK) és prefrontális kérgében (PFK) az adipoR1, adipoR2 mRNS változásait RT-qPCR technikával mértük, majd a minták adipoR1 és adipoR2 fehérje koncentrációját ELISA módszerrel tanulmányoztuk.

**Eredmények:** Stresszkezelés nélkül az ApoB állatok mindkét adiponektin receptora emelkedetten expresszálódnak mRNS szinten a HK-ban, míg a neokortikális régióban jelentősen kisebb adipoR1 és -R2 expresszió figyelhető meg a VT-hoz képest. Fehérje szinten ezzel szemben mind a VT, mind pedig az ApoB állatok adiponektin receptor expressziója hasonló koncentrációban van jelen. Az ApoB genotípusú állatokban az adiponektin receptorok mRNS expressziója VT-től eltérően kevésbé reagál a stresszkezelésre, mindkét vizsgált területen. Ezen tendencia alól kivétel az adipoR2 receptor, melynek mRNS szintje a HK-ban 7 és 14 napos stressz hatására is erős csökkenést mutat. Az ApoB állatok adipoR1 és -R2 mRNS-ének változása a stresszkezelés során tendenciájában a korábbi kísérleteinkben alkalmazott APP/presenilin transzgen AK modell állatokhoz hasonló, míg fehérje szinten az ApoB egereknél kapott eredményeink inkább a VT állatoknál megfigyeltéknek feleltethetőek meg.

**Következtetések:** Adataink arra utalnak, hogy a zsírháztartás zavarai és a stresszkezelés mRNS szinten diszregulációt okozhatnak az adiponektin szignalizációs útvonalában. S mivel a receptorok fehérje kifejeződésében a fenti tendencia nem figyelhető meg, eredményeink megerősítik azon hipotézisünket, miszerint az adiponektin receptorok HK- és PFK-beli expressziójának szabályzásában fontos szerepet tölt be a poszt-transzlációs moduláció. Összefoglalva az adiponektin receptorok változása a hipertrigliceridémiától és az általa kiváltott zsírháztartási zavaroktól függetlenül is szerepet játszhat az AK pathomechanizmusában.

# A PACAP JELENLÉTÉNEK VIZSGÁLATA ANYATEJ ÉS VÉRMENTÁKBAN

**Vass Réka Anna<sup>1</sup>**, Reglódi Dóra<sup>1</sup>, Gyarmati Judit<sup>2</sup>, Tamás Péter<sup>2</sup>, Ertl Tibor<sup>2</sup>, Polgár Beáta<sup>3</sup>, He-lyes Zsuzsanna<sup>4</sup>, Tarcai Ibolya<sup>5</sup>, Tamás Andrea<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Anatómiai Intézet, MTA-PTE „Lendület” PACAP Kutatócsoport

<sup>2</sup>Szülészeti és Nőgyógyászati Klinika

<sup>3</sup>Orvosi Mikrobiológiai és Immunitástani Intézet

<sup>4</sup>Farmakológiai és Farmakoterápiás Intézet, Szentágotthai János Kutatóközpont, Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar

<sup>5</sup>Egyesített Egészségügyi Intézmények, Pécs

Munkacsoportunk több éve foglalkozik a hipofízis adenilát-cikláz aktiváló polipeptid (PACAP) vizsgálatával a vérben és az anyatejben radioimmunoassay (RIA) módszerrel. Kimutattuk, hogy a PACAP szint szignifikánsan emelkedik a szoptató és várandós édesanyák vérmintájában, vizsgáltuk a PACAP jelenlétét a tejben és szintjének változását a szoptatás különböző időszakában.

Jelen vizsgálatban új eljárással, az ELISA módszerrel az anyatej három elkülönített fázisában detektáltuk a tejminták PACAP szintjét érett és koraszülött újszülötteket szoptató édesanyák tejmintáiban. Az jól ismert, hogy az anyatej összetételét számos külső tényező befolyásolja, így az újszülött neme is, ezért vizsgáltuk, hogy van-e különbség a lány és fiú újszülöttek anyatej mintáinak PACAP szintjében. Munkánk során különböző állati eredetű tejminták (tehén, juh, ló, tevé, kecske) PACAP szintjét is összehasonlítottuk. Kutatásunk során arra is kíváncsiak voltunk, hogy mennyiben tér el a dohányzós várandósok véreinek PACAP koncentrációja a nem dohányzó várandós, illetve dohányzó és nem dohányzó önkéntesek mintáihoz képest.

Munkánk során 5-5 ml tej- és vérmintát gyűjtöttünk a korábbi vizsgálatainkhoz hasonlóan. A tejmintákat centrifugálással vizes és lipid fázisra bontottuk. A lipid fázist szonikáltuk, majd ultracentrifugálással abból egy zsíros és egy újabb vizes fázist nyertünk. A minták PACAP tartalmát ELISA és RIA módszerekkel mértük.

Kutatásaink során a rendelkezésünkre álló irodalmi adatok alapján elsőként végeztünk összehasonlító vizsgálatot az anyatej három elkülönített fázisának PACAP tartalma között. Méréseink alapján a szoptatás első három hónapjában az érett újszülöttek tejmintáiban a zsíros fázis zsíros frakciójában szignifikánsan magasabb PACAP koncentrációt detektáltunk. A koraszülöttek tejmintáinak különböző frakcióiban a PACAP szint szignifikáns eltéréseket mutatott, de a szoptatás előrehaladtával az arányok az érett újszülöttek számára termelődött anyatej összetételéhez közelítettek. Az újszülöttek neme alapján szignifikáns eltérést eddig nem tudtunk detektálni. A vérminták értékelése során szignifikánsan magasabb PACAP koncentrációt detektáltunk a várandós és a nem várandós dohányzó nők vérmintáiban, méréseink alapján a dohányzó várandós nők PACAP szintje szignifikánsan kevesebb volt a nem dohányzó várandósokhoz képest.

A tejben nagy mennyiségben detektálható PACAP pontos szerepe nem ismert, fontos lehet az újszülöttek idegrendszerének és immunrendszerének fejlődésében, valamint az emlőmirigy működésének szabályozásában. Jövőbeni célunk a PACAP laktációban kifejtett hatásának pontos feltérképezése további klinikai és molekuláris biológiai vizsgálatok segítségével.

TÁMOP 4.2.4.A/2-11-1-2012-0001 „Nemzeti Kiválóság Program”, MTA-PTE „Lendület” Program, OTKA K104984, Bolyai Ösztöndíj Pályázat, Nemzeti Agykutatási Program-KTIA\_13\_NAP-A-III/5, Astellas Pharma Kft.

# NEW THERAPEUTIC PATHWAYS IN THE TREATMENT OF ACUTE BILIARY PANCREATITIS.

**Viktória Venglovecz<sup>1</sup>, Zoltán Rakonczay Jr.<sup>2</sup>, Máté Katona<sup>1</sup>, Péter Hegyi<sup>2,3,4</sup>**

<sup>1</sup>*Department of Pharmacology and Pharmacotherapy, University of Szeged, Szeged*

<sup>2</sup>*First Department of Medicine, University of Szeged, Szeged*

<sup>3</sup>*MTA-SZTE Translational Gastroenterology Research Group, University of Szeged, Szeged*

<sup>4</sup>*Institute for Translational Medicine and First Department of Medicine, University of Pécs, Pécs*

One of the leading causes of acute pancreatitis is the present of gallstones. Blockage of pancreatic duct by a gallstone stops the outflow of pancreatic juice, leading to premature activation of digestive enzymes and severe inflammation of the pancreas. Regurgitation of the bile into the pancreatic duct can also happen, exposing pancreatic ductal epithelial cells (PDECs) to the harmful bile. Under physiological conditions, PDECs secrete a HCO<sup>-</sup>-rich alkaline fluid which washes out the digestive enzymes from the pancreas to the duodenum and neutralizes the acidic chime.

Previous studies from our lab have shown that at high concentrations, the hydrophobic bile acid, chenodeoxycholic acid (CDCA) strongly inhibits pancreatic ductal HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>-secretion through the destruction of mitochondrial function (Venglovecz et al. 2008, Gut), whereas at low concentrations, stimulates HCO<sup>-</sup>-secretion probably by the activation of a Ca<sup>2+</sup>-activated K<sup>+</sup>channel (Venglovecz et al. 2011, Gut). The increased fluid promotes the washout of the toxic bile acids from the pancreas, therefore represent a defensive mechanism. We have also demonstrated that the hydrophilic bile acid, ursodeoxycholic acid (UDCA) attenuates the toxic effect of CDCA on PDECs by the stabilization of mitochondrial membrane. (Katona et al. 2016, AJP- Gastrointest Liver Physiol.). Strengthening of the defensive mechanisms of PDECs by the stimulation of pancreatic ductal fluid secretion or by the attenuation of the toxic effect of bile, may represent novel therapeutic pathways in the treatment of bile acid-induced pancreatitis.

## References:

Venglovecz V, Rakonczay Z Jr., Ózsvári B, Takács T, Lonovics J, Varró A, Mike A, Gray, Barry E, Argent and Hegyi P. Effects of bile acids on pancreatic ductal bicarbonate secretion in guinea pig. Gut 2008;57(8):1102-12.

Venglovecz V, Hegyi P, Rakonczay Z Jr, Tizslavicz L, Nardi A, Grunnet M, Gray MA. Pathophysiological relevance of apical large-conductance Ca<sup>2+</sup>-activated potassium channels in pancreatic duct epithelial cells. Gut 2011;60:361-369.

Katona M., Hegyi P., Kui B., Balla Zs., Rakonczay Z Jr., Rázga Zs., Tizslavicz L., Maléth J., Venglovecz V. A novel, protective role of ursodeoxycholate in bile-induced pancreatic ductal injury. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 2016;310(3):193-204.

# AZ MRI ALKALMAZÁSA A TRANSZLÁCIÓS KUTATÁSOKBAN

**Vidnyánszky Zoltán**

MTA TTK Agyi Képző Központ, Budapest

A neuro-pszichiátria betegségek agyi folyamatainak feltárásában, valamint az ezzel kapcsolatos transzlációs kutatásban egyre meghatározóbb szerepet kap a mágneses rezonancia képalkotás (MRI). Az állatmodellekben és emberekben egyaránt alkalmazható strukturális és funkcionális MRI módszerek lehetővé teszik a betegségek hátterében álló idegrendszeri patológiás folyamatok, illetve az érintett neurális hálózatok azonosítását és jellemzését. Különösen ígéretesnek bizonyult a nyugalmi állapotban mért fMRI módszer, mely az intrinzik, spontán agyi funkcionális konnektivitás mérésével lehetőséget nyújt az agyi hálózatok jellemzésére egészséges önkéntesekben és betegekben egyaránt. Az eddigi eredmények arra engednek következtetni, hogy az MRI alkalmazása a transzlációs kutatásokban hozzájárulhat az állat és humán pre-klinikai kutatások összehangolhatóbbá tételéhez, az állatmodell - ember - állatmodell transzláció megvalósításához valamint az ép és patológiás rendszerszintű agyi funkciók megértéséhez és ezáltal jobb betegség modellek és betegség/gyógyszer profilok kidolgozásához.

# LÉZER-INDUKÁLT KALCIUM-OSZCILLÁCIÓK PANCREAS ACINUSSEJTEKBEN

**Vincze János**, Geyer Nikolett, Csernoch László, Jóna István, Almássy János  
*Debreceni Egyetem Általános Orvostudományi Kar, Élettani Intézet*

A fototoxicitás az egyik leggyakrabban előforduló probléma, amivel a kutatók találkoznak élő sejtek fluoreszcens mikroszkópos vizsgálata során, különösen konfokális mikroszkópos vizsgálatok esetén. A jelenség elsősorban ugyanazon terület hosszabb idejű, repetitív megvilágítást igénylő vizsgálata esetén figyelhető meg, éppen ezért a kialakult gyakorlat szerint a megvilágító lézer intenzitását és a pásztázások számát, valamint gyakoriságát a lehető legalacsonyabb értékben határozzuk meg.

Kalciumkötő festékkel töltött (2  $\mu$ M Fluo-4-AM, 30 perc szobahőmérsékleten) egérből izolált pancreas acinus-sejteket vizsgáltunk Zeiss LSM 5 LIVE nagysebességű konfokális mikroszkóppal, 488 nm-es gerjesztő hullámhossz mellett. Kísérleteink során azt tapasztaltuk, hogy már 1 mW-os, a maximális 1%-ának megfelelő lézerintenzitás és 1 Hz-es képképzési gyakoriság esetén is önmagában a lézerrel történő gerjesztés hatására 200-250 másodperccel a felvétel kezdete után spontán, az alap fluoreszcenciaszint 2-3-szorosának megfelelő, 1 Hz gyakoriságú oszcillációk jelentek meg. 3 mW-os lézerintenzitás mellett az oszcillációk már 120-160 másodperc után jelentkeztek, frekvenciájuk és amplitúdójuk változatlan maradt. 0,5 mW-os lézerintenzitás és 0,5 Hz-es képképzési gyakoriság mellett már hosszú ideig tartó kísérletek esetén is csak a fotokioltság jelentkezett, spontán oszcillációk nem voltak megfigyelhetőek. Ez alapján igazoltnak látjuk, hogy az oszcillációk kiváltó oka egyértelműen a képképzéshez használt lézer.

Az oszcillációk láthatóak voltak a Fura-Red-AM festék fluoreszcenciaintenzitásának csökkenéseként is a mindkét festékkel töltött sejtek esetén. Változatlan paraméterekkel megfigyelhetőek voltak kalciummentes külső oldatban is, ám a BAPTA-AM használata esetén nem jelentkeztek. A fentiek alapján kijelenthető, hogy az oszcillációkat a kalciumszint változása okozza, és a kalcium forrása valamely intracelluláris kalciumraktár. ROS scavengerek vagy redukáló ágensek használata nem befolyásolta az oszcillációk kialakulását.

A megfigyelt, lézer-indukált oszcillációk különösen amiatt adnak aggodalomra okot, mert jellegükben igen hasonlítanak a pancreas acinussejtek aktiváló ágensei (pl. carbachol) által kiváltott tranziesekre, sőt morfológiájuk alapján megkülönböztethetetlenek azoktól. Ezért különösen körültekintően kell eljárni az ilyen sejtek konfokális mikroszkópos vizsgálatakor és a jelenleg mérésre széles körben elfogadott paraméterekhez képest is konzervatívabb képképzési beállításokat célszerű használni. Eredményeink felvetik annak a lehetőségét, hogy a több sejt típusban megfigyelt spontán kalcium-oszcillációk kiváltásában is szerepet játszhatott a képképzésre használt lézer.

# A VÉR-AGY GÁT MINIATÜRIZÁLT BIOELEKTRONIKAI MODELLJE

**Walter Fruzsina**, Valkai Sándor, Kincses András, Veszélka Szilvia, Ormos Pál,  
Dér András, Deli Mária  
*MTA Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Biofizikai Intézet, Szeged*

A mikrofluidikai megoldásokon alapuló eszközök használata az elmúlt tíz évben terjedt el szélesebb körben a biológiai kutatásokban. Ezek a miniatürizált biochipek a belső környezet jobb modellezését, hatékony és összetett vizsgálatokat tesznek lehetővé. A biológiai gátak közül a vér-agy gát modelljei fontos szerepet játszanak élettani és gyógyszerészeti kutatásokban transzportfolyamatok, gyógyszerek idegrendszeri bejutásának és neurológiai betegségek pathomechanizmusának feltárásában. Számos sejtenyésztésre használt integrált mikrofluidikai eszköz létezik, azonban közülük egy sem egyesíti a gátrendszer monitorozásához szükséges összes paramétert.

Célunk ezért egy egyszerű, mégis sokoldalú integrált mikroelektronikai és mikrofluidikai eszköz tervezése, készítése és tesztelése volt, amely alkalmas a legfontosabb gátfunkciók komplex tanulmányozására: (i) két vagy három sejttípus együtt tenyésztésére; (ii) tápfolyadék áramoltatását követően a felületi nyírófeszültség modellezésére; (iii) fáziskontraszt mikroszkópia a sejtek növekedésének követésére; (iv) valós idejű, transzcelluláris elektromos ellenállás vizsgálatára és permeabilitási mérésekre a biológiai gát szorosságának megállapítására.

Munkánk során egy PDMS alapú, integrált arany elektródákkal rendelkező és perisztaltikus pumpához csatlakoztatható chipet készítettünk. A sejtek növekedése a chipben a teljes tenyésztő felületen folyamatosan nyomon követhető volt. Az agyi endotélsejt tenyésztetek jellemzéséhez fáziskontraszt mikroszkópos képeket készítettünk. A barrier szorosságának meghatározásához elektromos ellenállást mértünk a sejtrétegeken keresztül, illetve a tenyésztési idő végén meghatároztuk a jelzőmolekulák átjutását. A sejtközzötti kapcsolatok kialakulását a  $\beta$ -katenin és zonula occludens-1 kapcsolófehérjék immunfestésével követtük. Az áramlás modellezéséhez szükséges tápfolyadék-keringtetést perisztaltikus pumpával értük el. A vér-agy gát tulajdonságokat a chipben hCMEC/D3 humán agyi endotél sejtvonalon vizsgáltuk, valamint elsőként tenyésztettünk biochipben primer patkány agyi endotélsejteket primer asztrocitákkal és agyi pericitákkal ko-kultúrában. A folyadékáramlásból adódó felületi nyírófeszültség hatását a vér-agy gát háromsejtes patkány primer modelljén elsőként vizsgáltuk.

Az integrált lab-on-a-chip eszköz alkalmasnak bizonyult sejtenyésztésre, ellenállásmérésre, permeabilitási tesztekre és mikroszkópos felhasználásra. Ez a sokoldalú integrált mikroelektronikai eszköz a későbbiekben alkalmas lehet gyógyszermolekulák vér-agy gáton való átjutásának mérésére és a felületi nyírófeszültség agyi endotélsejtekre gyakorolt hatásának részletesebb vizsgálatára.

# SZEMCSEPPKÉNT ALKALMAZOTT PACAP RETINOPROTEKTÍV HATÁSÁNAK VIZSGÁLATA ISCHEMIÁS RETINOPATHIÁBAN

**Werling Dóra**<sup>1,3</sup>, Mayer Flóra<sup>1</sup>, Kvárik Tímea<sup>1</sup>, Varga Rita<sup>1</sup>, Nagy Noémi<sup>1</sup>, Váczy Alexandra<sup>1</sup>, Kiss Péter<sup>1</sup>, Tamás Andrea<sup>1</sup>, Biró Zsolt<sup>3</sup>, Tóth Gábor<sup>4</sup>, Reglődi Dóra<sup>1</sup>, Atlasz Tamás<sup>2</sup>

*Anatómiai Intézet<sup>1</sup>, Pécsi Tudományegyetem Sporttudományi és Testnevelési Intézet<sup>2</sup>, Pécsi Tudományegyetem Pécsi Szemészeti Klinika<sup>3</sup>, Pécs Orvosi Kémiai Intézet<sup>4</sup>, Szegedi Tudományegyetem*

A hypophysis adenilát cikláz aktiváló polipeptidnek (PACAP) számos neuroprotektív hatása ismert különböző idegrendszeri-, illetve retinakárosodás során. A retinális ischemia jól modellezhető bilaterális carotis communis lekötéssel (BCCAO), ami krónikus hypoperfúziót indukál a patkány retinájában. A PACAP 1-38, 1-27 illetve a vazóaktív intestinális peptid (VIP) retinoprotektív hatását ischemiás retinopathiában már számos tanulmány alátámasztotta. Korábbi tanulmányokban, munkacsoportunk a PACAP-ot intravitreális beadást követően vizsgálta, és igazolta retinoprotektívitasát. Azonban a könnyebb klinikai felhasználást lehetővé tevő szemcseppes formában bejuttatott PACAP-ról kevés információ áll rendelkezésre. A PACAP 1-27 szemcsepp retinoprotektív hatását vizsgáltuk, BCCAO-okozta ischemiás retinadegeneráció esetén. Kísérleteink során 3-4 hónapos hím Wistar patkányokat használtunk. A BCCAO-t követően a jobb szemet PACAP 1-27 szemcseppel kezeltük (1 µg/csepp). Szemcseppként a PACAP-ot különböző vivőanyagokban oldottuk fel: fiziológiás sóoldat, aqua ad iniectabilia, solvens viscosa pro oculoguttis cum thiomersalo, solutio ophthalmica cum benzalkonio. A bal szembe az éppen alkalmazott vivőanyagot cseppentettük, ezek képezték a kontroll csoportot. A napi 2x1 szemcseppes kezelést 5 napig alkalmaztuk, majd a retinákon rutin szövettani vizsgálatot végeztünk két héttel a műtétet követően. A morfometriai vizsgálat során a retina különböző rétegeinek vastagságát mértük le. Eredményeink során a leghatékonyabb vivőanyagnak a solutio ophthalmica cum benzalkonio bizonyult. Ebben a vivőanyagban feloldott PACAP 1-27-nek és 1-38-nak is retinoprotektív hatása volt ischemiás retinopathiában.

Támogatók: OTKA K104984, KTIA\_NAP\_13-1-2013-0001 PTE-MTA Lendület Program, Arimura Foundation, Bolyai János Kutatási Ösztöndíj támogatásával zajlott. A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg,

# AZ EGÉSZSÉGGEL KAPCSOLATOS FITTSÉG KÜLÖNBÖZŐ FELNŐTT KOROSZTÁLYOKBAN

Wilhelm Márta<sup>1</sup>, Schulteisz Nikolett<sup>2</sup>, Cselkó Alexandra<sup>1,2</sup>, Bodó Dávid<sup>1,3</sup>, Tékus Éva<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Pécsi Tudományegyetem Természettudományi Kar Sporttudományi és Testnevelési Intézet

<sup>2</sup>Pécsi Tudományegyetem Egészségtudományi Doktori Iskola 3 Pécsi Tudományegyetem Biológia-Sportbiológiai Doktori Iskola, PhD hallgató

**Bevezetés:** Az utóbbi években reprezentatív vizsgálat nem volt a középkorú és idősebb magyar populáció fittségének becslésére sem. A fittség ismeretében becsülhető a várható egészségben eltöltött élettartam (szignifikánsan összefüggenek). Munkacsoportunk több éve folytat szisztematikus egészséggel kapcsolatos fittségi vizsgálatokat a Magyarországon élő felnőtt női lakosság körében, de kiemelten a középkorúnál idősebb nőkben, mivel ebben a korosztályban jelentős hiátus tapasztalható megbízható adatok tekintetében. Jelen vizsgálatunk célja a különböző korosztályok és aktivitási csoportok összehasonlítása a hétköznapi élethez szükséges fittség megállapítására.

**Anyag és módszerek:** A vizsgált minta a következő önkéntes alanyokból állt, többségük nő: sportoló 23,77±1,1 év (n=20); nem sportoló 51,5±5,1 év (S2, n=26); sportoló 49,09±0,58 év (S3, n=43); sportoló 59,2±0,62 év (S4, n=22); nem sportoló 74±8 év (S5, n=21); magas cv rizikójú inaktív betegek 67,4±5,2 év, 40 fő/37 nő). A legidősebb korosztályban két város szociális otthonában 91 fő (átlagéletkor 81,19 év) vett részt antropometriai mérésekben, állapotvizsgálatokban (pulzus/HR, vérnyomás mérés), valamint egy fittségi tesztben, a 6 perces gyaloglótesztben (6MWT).

**Eredmények:** Testösszetételét tekintve a vizsgált minta többsége, BMI és testzsírtartalmát tekintve is, a normál tartományba tartozott, kivéve a legfiatalabb korosztályt melynek testzsírtartalma átlagosan 13,8% (sovány), valamint a betegcsoportot, amelyben a testzsírtartalom átlagosan 30% fölött volt. A nyugalmi HR a legfiatalabb (79,67±13,8bpm) és az idősebb korosztályokban (82,29bpm) volt magasabb, mint a korosztályos egészséges tartomány. A magas cv rizikójú csoport gyógyszerkezése következtében normál HR és vérnyomás értékekkel rendelkezett, csakúgy, mint a többi általunk vizsgált korosztály. A 6MWT teljesített távok a legfiatalabb csoportban (S1) átlagosan 620,6m (az elvárt táv 75%-a), az S2 csoportban 543,5m (elvárt táv 80%-a), S3 csoportban 583,56m (elvárt 85%-a), S4 csoportban 603,4m (elvárt táv 100%-a), S5 csoportban 326,31m (elvárt 60%-a). A magas cv csoport átlagos teljesítménye 182,97m (elvárt 538,94m) alacsony volt. Az idősek otthonában mért korcsoport 6MWT eredményei 191,2m (elvárt táv 36,2%-a), illetve 255,7m (elvárt 53,4%-a) szintén messze elmaradtak a korosztályos elvárásoktól. Az eredmények alapján kiszámítható a vizsgált minta maximális oxigénfelvevő-képessége. A korosztályos elvárásokat az S4 csoport teljesíti csak.

**Következtetés:** A vizsgált mintában csak a fizikailag aktív személyek teljesítik az egészséghez szükséges minimális elvárásokat, azonban a legfiatalabb aktív korosztály fizikai teljesítőképessége még így is jelentősen elmarad az optimális teljesítménytől. Ezek alapján idősebb korokban jelentősebb egészségügyi kockázatoknak néznek elébe.

**Kulcsszavak:** egészséggel kapcsolatos fittség, testösszetétel, felnőtt nők



# THE ROLE OF PARATHYROID HORMONE RECEPTOR TYPE 2 IN THERMOREGULATION OF MOTHERS: STUDIES IN KNOCKOUT MICE

**Dóra Zelena**<sup>1</sup>, Barbara Gellén<sup>2</sup>, Árpád Dobolyi<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>*Hungarian Academy of Sciences, Institute of Experimental Medicine, Budapest*

<sup>2</sup>*MTA-ELTE NAP B Laboratory of Molecular and Systems Neurobiology, Department of Physiology and Neurobiology, Hungarian Academy of Sciences and Eötvös Loránd University, Budapest*

<sup>3</sup>*Laboratory of Neuromorphology and Human Brain Tissue Bank, Department of Anatomy, Histology and Embryology, Semmelweis University, Budapest*

Tuberoinfundibular peptide of 39 residues (TIP39) acting on parathyroid hormone receptor type 2 (PTH2R) regulates behavioral and physiological maternal adaptation during the lactation period. As TIP39 has been suggested to play a part in thermoadaptation as well, we addressed whether TIP39 through the PTH2R contributes to resting and stimuli-evoked thermal changes in mothers in connection with their behavioral alterations. Core body temperature was constantly recorded via telemetric device in virgin and lactating mother mice, and compared between PTH2R knockout (KO) and their wild type (WT) littermates. In addition, core body temperature of mice dams was also measured during pup retrieval, forced swimming at  $24\pm 1^\circ\text{C}$  for 6 min, and open field for 5 min. PTH2R KO and WT mice both showed circadian alterations of resting body temperature and locomotion. We found no difference in these parameters between KO and WT virgin mice. We confirmed previous results that WT lactating mothers had increased core body temperature as compared to WT virgin animals. The elevation of core body temperature was reduced in lactating PTH2R KO mice. Consequently, undisturbed lactating PTH2R KO mothers had lower core temperature than WT mothers accompanied by enhanced spontaneous and open-field locomotor activity. Although PTH2R KO mothers were not different in their pup retrieval activity from WT mice, they spent significantly less time out of the nest during a subsequent 1h observation period. Core body temperature elevation to pup retrieval was smaller in KO compared to WT mothers. In the forced swim test, PTH2R KO mothers showed enhanced depressive-like behavior as compared to WT mothers, which is in good agreement with previously reported antidepressive-like action of TIP39 in males. However, the hypothermogen effect of forced swimming was less pronounced in PTHR2 KO mothers with enhanced postswimming locomotion.

Taken together, TIP39 through its PTHR2 receptor seems to be an important contributor of elevated core body temperature during the lactation period. This finding is consistent with previous literature on the heat-inducing role of intrahypothalamically injected TIP39 in male mice and also with the marked induction of TIP39 during the postpartum period. The TIP39-PTH2R system may also contribute to temperature changes in response to challenges including removal of the litter from the nest and forced swimming.

The work was supported by OTKA K116538 and the KTIA\_NAP\_B\_13-2-2014-0004 Program.

# PROGESZTOGÉNEK HATÁSA A NAGY MOCSÁRI CSIGA SZAPORODÁSÁRA ÉS EMBRIONÁLIS FEJLŐDÉSÉRE

Zrínyi Zita<sup>1</sup>, Linwen Zhang<sup>2</sup>, Maász Gábor<sup>1</sup>, Vértés Ákos<sup>2</sup>, Pirger Zsolt<sup>1</sup>

<sup>1</sup>NAP\_B Adaptív Neuroetológiai Kutatócsoport, Kísérletes Állattani Osztály, MTA ÖK Balatoni Limnológiai Intézet, Tihany

<sup>2</sup>Department of Chemistry, W. M. Keck Institute for Proteomics Technology and Applications, The George Washington University, Washington, USA

A napjainkban leggyakrabban használt fogamzásgátló tabletták progeszteront és szintetikus progeszteron származékokat tartalmaznak. Ezek a stabil kémiai szerkezettel rendelkező vegyületek a természetes vizekbe kerülve egyrészt befolyásolják a vízi szervezetek élettani folyamatait, másrészt akkumulálódnak azokban. Munkacsoportunk korábbi eredményei szerint (Avar et al, 2016) progesztogének találhatók a Zala és a Balaton vízgyűjtő területén 0,23 - 13,67 ng/L koncentrációban. Kísérleteinkben célul tűztük ki, hogy ezt a természetes expozíciót mintázva felderítsük, van-e hatása a krónikus progesztogén kezelésnek a modellállatként használt nagy mocsári csiga (*Lymnaea stagnalis*) reprodukciós képességére és a lerakott tojások minőségére.

A csigák 21 napon át tartó kezeléséhez 10 ng/L koncentrációban progeszteron, levonorgeszter, gesztoden és drospirenon keverékét használtuk. A felnőtt állatokon figyeltük a mortalitást, meghatároztuk a spermiumszámot, a lerakott peték számát és a vitellogenin szintet. A lerakott tojások szikanyagán (<1 óra és >96 óra) valamint a zigótán (egy sejtes állapot, <1 óra) tömegspektrometriás metabolomikai egy-sejt analízist végeztünk kapilláris mikromintavételi technikát alkalmazva. Minőségindikátorként az adenilát energiahordozók arányát (AEC), a redox státuszt és az UDP-N-acetil-hexózamin/UDP-hexóz arányt alkalmaztuk. Továbbá vizsgáltuk a sejtosztódás dinamikáját 8 sejtes állapotig követve a zigóta fejlődését.

Eredményeink szerint a kezelt csoportban szignifikánsan magasabb volt az állatok mortalitása és kevesebb a spermium száma. A lerakott peték száma állatonként a kezelés első harmadában fele volt a kontroll csoport állataihoz viszonyítva, a kezelés harmadik harmadára viszont, a magas mortalitás ellenére, kétszerese a kontroll csoportéhoz képest. Ezt a fokozott petézési készséget a szignifikánsan emelkedett vitellogenin szint is igazolta. A minőségindikátorokat tekintve a szikanyagban petezsák lerakása utáni egy órán belül szintén nem volt különbség a két csoport között, de 96 óra után vizsgálva az AEC szignifikánsan magasabb volt a kezelt csoportban. Ez a magasabb ATP és ADP jelenlétéből adódik, ami megváltozott enzimműködésre utal. A szikanyag redox állapota kifejezi a környezet oxigenizáltságának mértékét. Eredmények szerint, az nem tért el a két csoportban, ami jelzi, hogy a petezsákok hasonló környezetben voltak tartva. Az oxigén hiány rontaná a tojás minőségét, károsan befolyásolja az embrionális fejlődést. Az egy sejtes zigóta általános metabolomikai térképe és AEC értéke nem tért el a két csoport között, de az UDP-HexNac/UDP-Hex arány szignifikánsan különbözött. A kezelt csoportban a megtermékenyített petesejtekben jóval magasabb UDP-Hex szintet detektáltunk, ami a kontroll csoportéhoz képest fokozottabb glikogén szintézist jelez. A kezelt állatoktól származó zigótákban dinamikusabb sejtosztódást figyeltünk meg.

A projekt a Nemzeti Agykutatási Program (KTIA\_NAP\_13-2-2014-0006) finanszírozásával valósult meg.