

Zárójelentés

- Kimutattuk, hogy az AGRP WT egerekben szignifikánsan gátolta a TRH szintézist és csökkentette a perifériás pajzsmirigyhormon szintet. Ezzel szemben a melanocortin 4-es típusú receptor (MC4-R) knock-out egerekben nem befolyásolja szignifikánsan a hipotalamusz-hipofízis-pajzsmirigy (HHP) tengely működését. Ezen adatok alapján arra következtetünk, hogy az AGRP elsősorban az MC4-R-on keresztül fejt ki hatását a HHP tengelyre [1]. A pályázat késői indulása miatt a témaszám nem szerepel a közleményen
- Kimutattuk, hogy a II-es típusú dehidrogén (D2) hiánya a D2 KO egerekben nagymértékben csökkenti a perifériás pajzsmirigy hormon szint bakteriális lipopolysaccharide (LPS) kezelés hatására bekövetkező csökkenését (Eredmény közlés alatt).
- Leírtuk, hogy az agytörzsi felszálló pályák nem játszanak szerepet az LPS kezelés hatására bekövetkező centrális hipotiroidizmus kialakulásában. Ezzel ellentétben, a felszálló agytörzsi pályák átmetszése lecsökkenti a corticotropin-releasing hormone termelődés LPS hatására bekövetkező fokozódását [2].
- Kimutattuk, hogy a pajzsmirigyhormonok LPS kezelés hatására bekövetkező csökkenésének kivédése pajzsmirigy irtott és T4 kezelt állatokban kivédi a D2 aktivitás változását a kortexben, de nem hat a mediobazális hipotalamusz (MBH) LPS hatására kialakuló D2 aktivitás növekedésére. Ezen adatok alapján arra következtetünk, hogy az MBH-ban a D2 aktivitás változás nem az LPS indukált pajzsmirigyhormon szint csökkenés hatása. Valószínűsítjük, hogy az MBH megnövekedett T3 termelése fontos szerepet játszik a TRH idegsejtek LPS általi gátlásának kialakításában [3].
- Pályaátmetszés és kettős immunfluoreszcencia alkalmazásával kimutattuk, hogy a

paraventriculáris idegmagban elhelyezkedő thyrotropin-releasing hormont termelő idegsejtek CART-immunoreaktív beidegzésének megközelítőleg 66%-a agytörzsi eredetű [4].

- Kimutattuk, hogy a paraventriculáris mag TRH és CRH idegsejtjei termelnek 2-es típusú vezikuláris glutamát transzportert (VGLUT2). Továbbá VGLUT2-t figyeltünk meg az eminencia mediánában végződő TRH és CRH-tartalmú terminálisokban. Ez alapján megállapítottuk, hogy a hipofiziotróf TRH és CRH idegsejtek glutamáterg fenotípusú sejtek [5].

-Retrográd pályajelölési technika és immunfluoreszcencia kombinált alkalmazásával igazoltuk, hogy a DMN PVN-be vetülő idegsejtjeit α -MSH-tartalmú idegrostok idegzik be. Adataink felvetik a lehetőségét, hogy a DMN részt vehet a melanokortin hatás PVN felé történő közvetítésében. Mivel a DMN idegsejtjei dúsan beidegzik a TRH idegsejtet a PVN-ben [6], feltételezzük, hogy a DMN részt vesz az α -MSH hatásának TRH idegsejt felé közvetítésében [7].

-Fény- és elektronmikroszkópos szinten kimutattuk, hogy VGLUT2-tartalmú idegrostok dúsan beidegzik a hipofiziotróf TRH- és CRH-termelő idegsejtet a hipotalamusz paraventriculáris idegmagjában, igazolva, hogy a hipofiziotróf TRH és CRH idegsejt glutamáterg beidegzést kapnak [8].

-Négyes fluoreszcens immuncitokémia alkalmazásával leírtuk, hogy a CRH idegsejt CART tartalmú beidegzésének két fő forrása a nyúltvelőben elhelyezkedő adrenerg CART sejtek (60%) és az arcuatus idegmag CART/ α -MSH idegsejtjei (18%). Míg az adrenerg CART végződés a CRH idegsejt 95%-át beidegzik, CART/ α -MSH varikozitásokat a CRH idegsejt 58%-nak felszínén figyeltünk meg [9].

- Felkérésre összefoglaltuk a CART HHP tengely szabályozásában betöltött szerepéről szerzett ismereteinket [10].

- Összehasonlítottuk a leptin, inzulin és glükóz centrális adagolásának éhezõ állatok HHP tengelyére és az arcuatus idegmag táplálkozást szabályozó peptideinek termelõdésére kifejtett hatását. Míg az éhezés 3 napja alatt folyamatosan adagolt leptin az irodalmi adatoknak megfelelõen serkentette a HHP tengely mûködését, inzulin adagolás nem hatott a HHP tengelyre és a glükóz kezelés gátolta a HHP tengely mûködését. A három anyag az arcuatus idegmagra is különbözõ módon hatott. Leptin serkentette az α -MSH és CART szintézist és gátolta az NPY és AGRP termelést. Inzulin kezelés serkentette az α -MSH termelést és csökkentette az NPY szintézist, azonban nem hatott az AGRP és CART termelésre. A glükóz adagolás kizárólag az NPY szintézist befolyásolta. Eredményeink alátámasztják, hogy az éhezés során kialakuló hipotiroidizmus létrejöttében nem játszik szerepet az inzulin és glükóz szintjének csökkenése [11].

-Kombinált *in situ* hybridizáció és immuncitokémia alkalmazásával kimutattuk, hogy a hipofízis LH és TSH sejtjei vezikuláris glutamát transzporter 2-t (VGLUT2) termelnek, ami felveti a glutamát szerepét ezen sejtek autokrin illetve parakrin kommunikációjában. Továbbá leírtuk, hogy a hormonális státusz regulálja a VGLUT2 szintézist a hipofízisben [12].

- Leírtuk, hogy a humán hipotalamusz infundibuláris magjában elhelyezkedõ táplálkozást serkentõ NPY/AGRP és táplálkozást gátló α -MSH idegsejtjei kölcsönösen beidegzik egymást. Azonban ez a kapcsolat aszimmetrikus jellegû [13].

- Feltérképeztük a humán hipotalamusz ghrelin-immunoreaktív neuronrendszerét [14].

- Azonosítottuk a humán *dio2* promoter NF- κ B kötőhelyét. Igazoltuk, hogy az azonosított kötőhely mutációja megszünteti a *dio2* promoter NF- κ B válaszkészségét. Kimutattuk továbbá, hogy 12h-val bakteriális lipopolysacharid kezelést követően NF- κ B aktiváció történik a D2-t expresszáló tanycytákban. A két adat együttesen arra utal, hogy a fertőzés hatására kialakuló tanycytális D2 aktiváció kialakulásában kritikus szerepet játszhat az NF- κ B hírvívő rendszer [15].

- Kimutattuk, hogy az egér hipotalamusz paraventriculáris magjában a MC4-R tartalmú idegsejteket beidegző AGRP-tartalmú idegrostok közelében nem található α -MSH-tartalmú idegvégződés, ami felveti a lehetőségét, hogy az AGRP mint inverz agonista hat ezen idegsejtek felszínén található MC4-receptorokon [16]. Ezen inverz agonista hatás kimutatására agy specifikus POMC-KO állatokat kezeltünk centrálisan AGRP-vel és vizsgáltuk, hogy az AGRP képes-e befolyásolni az állatok táplálékfelvételét, súlyát és a hipotalamusz-hipofízis-pajzsmirigy tengely aktivitását melanokortin agonista hiányában. AGRP WT és POMC specifikus egerekben is serkentette a táplálékfelvételt és fokozta az állatok súlygyarapodását. A HHP tengely paramétereinek vizsgálata jelenleg is folyamatban van.

- Leírtuk, hogy a D2 fehérje ubiquitinálását végző WSB-1 és deubiquitinálását végző USP-33 enzimek megtalálhatók a D2-t termelő tanycytákban, azonban csak a WSB-1 termelődik a D2-t termelő asztrocitákban. Feltételezzük, hogy ezen fehérjék fontos szerepet játszhathatnak a tanycyták D2 aktivitásának szabályozásában [17].

- Felkérésre összefoglaltuk a hipofiziotróf TRH idegsejtek feedback szabályozásáról szerzett ismereteinket [18].

- Hármás és négyes-jelöléses immunfluoreszcencia alkalmazásával leírtuk, hogy a hipofiziotróf CRH sejtek NPY beidegzésének 40%-a az adrenerg idegsejtekből, 20%-a a noradrenerg idegsejtekből, míg a fennmaradó egyharmad az arcuatus idegmag AGRP idegsejtjeiből ered. Igazolták, hogy krónikus NPY adagolás gátolja a CRH szintézist. Ez alapján feltételezzük, hogy az NPY szintézis arcuatus mag idegsejtjeiben éhezésben során bekövetkező fokozódása fontos szerepet játszik a CRH idegsejtek éhezés során kialakuló gátlásában [19].
- Kimutattuk, hogy a rágcsálókban megfigyeltekkel ellentétben a humán infundibulumban CART nem a táplálkozást gátló α -MSH sejtekben, hanem a táplálkozást serkentő NPY/AGRP neuronokban termelődik. Továbbá leírtuk, hogy CART tartalmú idegrostok az infundibulum mindkét sejtcsoportját dúsán beidegzik [20].
- Feltérképeztük az egér hipotalamusz CB1 tartalmú axonjainak megoszlását és leírtuk, hogy CB1 a hipotalamuszban hasonló arányban fordul elő gátló és serkentő szinapszisokban [21].
- Vizsgálatainkban kimutattuk, hogy GABA receptor gátlók nem befolyásolják a HHP tengely LPS kezelés hatására bekövetkező gátlását (nem közölt adat).
- Mivel vizsgálataink kimutatták, hogy az agytörzsi felszálló pályák nem játszanak szerepet a TRH idegsejtek szabályozásában LPS kezelést követően [2], nem végeztük el a szerotoninerger és adrenerg/NPY idegsejtek szerepének vizsgálatát.

1. Fekete, C., et al., *Effect of Agouti-related protein in regulation of the hypothalamic-pituitary-thyroid axis in the melanocortin 4 receptor knockout mouse*. *Endocrinology*, 2004. **145**(11): p. 4816-21.
2. Fekete, C., et al., *Ascending brainstem pathways are not involved in lipopolysaccharide-induced suppression of thyrotropin-releasing hormone gene*

- expression in the hypothalamic paraventricular nucleus*. *Endocrinology*, 2005. **146**(3): p. 1357-63.
3. Fekete, C., et al., *Bacterial lipopolysaccharide (LPS)-induced type 2 iodothyronine deiodinase (D2) activation in the mediobasal hypothalamus (MBH) is independent of the LPS-induced fall in serum thyroid hormone levels*. *Brain Res*, 2005. **1056**(1): p. 97-9.
 4. Fekete, C., S. Sarkar, and R.M. Lechan, *Relative contribution of brainstem afferents to the cocaine- and amphetamine-regulated transcript (CART) innervation of thyrotropin-releasing hormone synthesizing neurons in the hypothalamic paraventricular nucleus (PVN)*. *Brain Res*, 2005. **1032**(1-2): p. 171-5.
 5. Hrabovszky, E., et al., *Hypophysiotropic thyrotropin-releasing hormone and corticotropin-releasing hormone neurons of the rat contain vesicular glutamate transporter-2*. *Endocrinology*, 2005. **146**(1): p. 341-7.
 6. Mihaly, E., et al., *Hypothalamic dorsomedial nucleus neurons innervate thyrotropin-releasing hormone-synthesizing neurons in the paraventricular nucleus*. *Brain Res*, 2001. **891**(1-2): p. 20-31.
 7. Singru, P.S., C. Fekete, and R.M. Lechan, *Neuroanatomical evidence for participation of the hypothalamic dorsomedial nucleus (DMN) in regulation of the hypothalamic paraventricular nucleus (PVN) by alpha-melanocyte stimulating hormone*. *Brain Res*, 2005. **1064**(1-2): p. 42-51.
 8. Wittmann, G., et al., *Glutamatergic innervation of corticotropin-releasing hormone- and thyrotropin-releasing hormone-synthesizing neurons in the hypothalamic paraventricular nucleus of the rat*. *Brain Res*, 2005. **1039**(1-2): p. 53-62.
 9. Wittmann, G., et al., *Origin of cocaine- and amphetamine-regulated transcript-containing axons innervating hypophysiotropic corticotropin-releasing hormone-synthesizing neurons in the rat*. *Endocrinology*, 2005. **146**(7): p. 2985-91.
 10. Fekete, C. and R.M. Lechan, *Neuroendocrine implications for the association between cocaine- and amphetamine regulated transcript (CART) and hypophysiotropic thyrotropin-releasing hormone (TRH)*. *Peptides*, 2006. **27**(8): p. 2012-8.
 11. Fekete, C., et al., *Differential effects of central leptin, insulin, or glucose administration during fasting on the hypothalamic-pituitary-thyroid axis and feeding-related neurons in the arcuate nucleus*. *Endocrinology*, 2006. **147**(1): p. 520-9.
 12. Hrabovszky, E., et al., *Expression of vesicular glutamate transporter-2 in gonadotrope and thyrotrope cells of the rat pituitary. Regulation by estrogen and thyroid hormone status*. *Endocrinology*, 2006. **147**(8): p. 3818-25.
 13. Menyhart, J., et al., *Interconnection between orexigenic neuropeptide Y- and anorexigenic alpha-melanocyte stimulating hormone-synthesizing neuronal systems of the human hypothalamus*. *Brain Res*, 2006. **1076**(1): p. 101-5.
 14. Menyhart, J., et al., *Distribution of ghrelin-immunoreactive neuronal networks in the human hypothalamus*. *Brain Res*, 2006. **1125**(1): p. 31-6.
 15. Zeold, A., et al., *Characterization of the nuclear factor-kappa B responsiveness of the human *dio2* gene*. *Endocrinology*, 2006. **147**(9): p. 4419-29.

16. Wittmann, G., et al. *Morphological evidence suggesting a role of agouti-related protein as an inverse agonist at melanocortin 4 receptors in the hypothalamic PVN.* in *36th Annual Meeting of Society for Neuroscience.* 2006. Atlanta, GA, USA.
17. Fekete, C., et al., *Expression patterns of WSB-1 and USP-33 underlie cell-specific posttranslational control of type 2 deiodinase in the rat brain.* *Endocrinology*, 2007. **148**(10): p. 4865-74.
18. Fekete, C. and R.M. Lechan, *Negative feedback regulation of hypophysiotropic thyrotropin-releasing hormone (TRH) synthesizing neurons: role of neuronal afferents and type 2 deiodinase.* *Front Neuroendocrinol*, 2007. **28**(2-3): p. 97-114.
19. Fuzesi, T., et al., *Contribution of noradrenergic and adrenergic cell groups of the brainstem and agouti-related protein-synthesizing neurons of the arcuate nucleus to neuropeptide-y innervation of corticotropin-releasing hormone neurons in hypothalamic paraventricular nucleus of the rat.* *Endocrinology*, 2007. **148**(11): p. 5442-50.
20. Menyhart, J., et al., *Cocaine- and amphetamine-regulated transcript (CART) is colocalized with the orexigenic neuropeptide Y and agouti-related protein and absent from the anorexigenic alpha-melanocyte-stimulating hormone neurons in the infundibular nucleus of the human hypothalamus.* *Endocrinology*, 2007. **148**(9): p. 4276-81.
21. Wittmann, G., et al., *Distribution of type 1 cannabinoid receptor (CB1)-immunoreactive axons in the mouse hypothalamus.* *J Comp Neurol*, 2007. **503**(2): p. 270-9.