

**Szent István Egyetem  
Állatorvos-tudományi Doktori Iskola**

**A táplálékfelvételt befolyásoló neuropeptidok  
vizsgálata a patkány laterális septumának  
magvaiban**

**PhD értekezés tézisei**

Készítette:

**Kovács Éva Gabriella**

**2009**

Szent István Egyetem  
Állatorvos-tudományi Doktori Iskola

Témavezető:

Prof. Dr. Halasy Katalin  
Szent István Egyetem,  
Anatómiai és Szövettani Tanszék

Témabizottsági tagok:

Prof. Dr. Fekete Éva  
Szegedi Tudomány Egyetem,  
Élettani, Szervezettani és Idegtudományi Tanszék

Prof. Dr. Kiss József  
Semmelweis Egyetem,  
Humánmorfológiai és Fejlődéstani Intézet

## 1. Bevezetés

Az emberiség fejlődéstörténete során a legkeményebb és legkeservesebb harcát a napi betevő falat megszerzéséért vívta. Azt gondolhatnánk, hogy ezt a harcot a 21. század elejére világméreteken megnyertük. A helyzet azonban ellentmondásos, mert világunkban egyszerre van jelen az éhínség és a bőség. Az emberiség jelentős része, 800 millió ember alultáplált, közülük 300 millió éhezik, és naponta 23 ezer ember pusztul el éhhalálban, míg a világ gazdagabb felén évente sok százezer ember korai halálát okozza a túltápláltság, a szinte járványszerűen terjedő elhízás és a nyomában járó civilizációs betegségek. Mi mondja meg a szervezetnek, hogy táplálékfelvételre van szüksége? A hypothalamus területén található azok a speciális magcsoportok, amelyek a perifériáról érkező szignál molekulákat receptoraikon felfogják és a tápláltsági állapotnak, a szervezet pillanatnyi energiaigényének megfelelően táplálékfelvételre, vagy éppen az étkezés abbahagyására utasítják a szervezetet. A táplálékfelvétel szabályozásával kapcsolatos kutatások főleg a hypothalamus funkciójának pontos felderítésére irányulnak. Amellett, hogy a hypothalamus energiaháztartásban betöltött szerepéről egyre többet tudunk, vannak más agyterületek is, pl. a nucleus tractus solitarii, valamint a nucleus Edinger-Westphal, amelyek ugyancsak részt vesznek a táplálékfelvétel szabályozásában. Ide sorolható a számos más vegetatív funkció (anyai viselkedés, szorongás) regulációjában is kiemelten szerepet játszó lateralis septum (LS), amely reciprok kapcsolatot tart fenn a nucleus arcuatusszal (ARC), a nucleus paraventricularisszal (PVN), valamint a lateralis hypothalamusszal.

### *A lateralis septum és kapcsolatai patkányban*

A septalis komplex az utóbbi néhány évtizedben az idegrendszeri kutatások előterébe került agyterület. A limbikus rendszer részeként rendkívül sokrétű kapcsolatot tart fenn számos más agyterülettel, amelyek közül kiemelhető a neuroendocrin rendszer központjaként számon tartott hypothalamusszal, valamint a tanulás és memória központjaként ismert hippocampalis formatioval való reciprok kapcsolata. A neuroendocrin rendszerrel fenntartott kapcsolatai révén befolyással van az állatok táplálék- és vízfelvételére, vérnyomására, különféle viselkedésmintázataira, pl. a szorongás kiváltásában, valamint a maternalis viselkedésben, pl. szoptatásban is kimutatható szerepet játszik.

A LS jelentős közvetítő szerepet tölt be a limbikus kérgi, illetve hypothalamikus és az agytörzsi területek kommunikációjában. Nemcsak egyszerű információ-továbbítóként, hanem integráló állomásként is szerepet játszik az endokrin, az autonóm funkciók és a kérgi kognitív folyamatok összehangolásában. Autoradiográfias és anterográdfolyamatok összehangolásában. Autoradiográfias és anterográdfolyamatok összehangolásában. Autoradiográfias és anterográdfolyamatok összehangolásában. Autoradiográfias és anterográdfolyamatok összehangolásában.

igazolták, hogy a LS topográfiailag rendezett formában efferenseket küld a medialis septum-diagonalis köteg felé, a substantia innominatába, a hypothalamusba, a thalamus középvonali magvaihoz és egyes agytörzsi struktúrákhoz. Emellett a fent említett efferenseit fogadó területektől is kap afferenseket, így ezekkel reciprok kapcsolatot tart fenn.

### ***Leucin-enkephalin (Leu-enk), neuropeptid-Y (NPY), galanin (Gal) és a táplálékfelvétel kapcsolata***

A szervezet energia homeosztázisa komplex neuroendokrin szabályozás alatt áll, beleértve – többek között - a perifériáról érkező leptin és ghrelin szerepét, valamint az agy táplálkozást szabályozó központjainak neuropeptidjeit is. Az eddigi kutatások a táplálkozás-szabályozással kapcsolatban elsősorban hypothalamikus magcsoportokra (ARC, PVN, lateralis hypothalamikus területek (LHA), nucleus ventromedialis és nucleus dorsomedialis) terjedtek ki. A hypothalamuson belül található neuronális szabályzó körök fontos anabolikus effektor molekulái a NPY és Gal. A NPY az idegrendszer neuronjai által leggyakrabban expresszált neuropeptid sok fiziológiai folyamat regulációjában játszik kulcsszerepet, így a kognitív funkciók, a táplálékfelvétel, a circadián ritmus, neuroendokrin folyamatok, szaporodási és cardio-vascularis funkciók kialakításában és szabályozásában. Erős orexigén hatása van. Elsősorban az ARC gazdag NPY expresszázó neuronokban, ahol a vér-agy gát hatása kevésbé érvényesül, így az itt lévő neuronok abban a kivételes helyzetben vannak, hogy a perifériáról jövő energia homeosztázissal kapcsolatos szignál molekulákat (leptin, inzulin, ghrelin) érzékelhetik és az információkat más, táplálkozás-szabályozással kapcsolatos agyterületek felé továbbíthatják. NPY mRNS tartalmú sejteket mutattak ki a LS területén, a nucleus septohippocampalisban, illetve a mellette húzódó sávban, közel a nucleus septofimbrialishoz.

A galanint először vékonybélben, később a központi idegrendszer területén is kimutatták, főleg a hypothalamikus magvakban, különös tekintettel az ARC és PVN Gal-t expresszázó neuronjaira. A Gal ugyan rendelkezik NPY-hoz hasonló hatással, központi idegrendszerbe történő adása az első kísérletek során elősegítette a táplálékfelvételt, de ismételt bejuttatása sem az elhízást, sem a hyperphagiát nem befolyásolta. Az ARC NPYerg sejtjei a PVN Gal tartalmú neuronjaival szinaptizálnak. A Gal stimulálni tudja továbbá a NPY felszabadulását a PVN neuronjaiból. A LS területén kimutattak galanin tartalmú rostokat, illetve Gal tartalmú terminálisokat írtak le a LS caudale ventralis területén.

A 70-es évekbeli felfedezésük óta, sok adat gyűlt össze az opioidok táplálkozási mintázatokat befolyásoló, szabályozó szerepéről. Általánosan kijelenthetjük, hogy az opioidok serkentik a táplálékfelvételt. Az ún. „opiooid-ízlelés hipotézis” szerint ízletes táplálék

elfogyasztása előidézi az endogén opiátok felszabadulását a szervezetben, ami fokozott táplálékfelvételhez vezet. Opioid agonisták hatására emlősökben nőtt a felvett táplálék mennyisége. Egy másik tanulmány rámutat arra, hogy a NPY által kiváltott orexigén hatás eléréséhez elengedhetetlen a központi opioid szignál serkentő hatása. Az endogén opiátok egyik fontos képviselője a leucin-enkephalin (Leu-enk), amely az endogén opiátok három prekursor molekulája közül a proenkephalinból szintetizálódik. A LS területe is gazdag enkephalin beidegzést kap.

Több közleményben vizsgálták a korai gén termékek, mint például a c-fos mennyiségének változását csökkentett táplálékfelvétel hatására. Ezen tanulmányokban vizsgált agyterületek közül a LS bizonyos sejtpopulációit is megnövekedett c-fos aktivitásúnak találták, ami a terület táplálékfelvétel szabályozásában betöltött szerepére utal. Elektrofiziológiai mérések szerint is a LS sejteinek aktivitás fokozódása észlelhető a táplálékfelvétel során. Azonban a c-fos immuncytokémia és elektrofiziológia sem ad információt arra nézve, hogy ezek az aktiválódó sejtek milyen neurokémiai természetűek. Ugyanakkor a LS is immuncytokémiai módszerekkel detektálhatóan jelentős mennyiségben tartalmaz számos orexigén és anorexigén neuropeptidet. A fentiek alapján kísérleti területként a LS-t választottuk, ahol a táplálékfelvétel szabályozásban is fontos szerepet játszó három neuropeptid immuncytokémiaileg detektálható, éhezés okozta denzitás változásait tanulmányoztuk.

## **2. Célkitűzések**

Mivel a LS táplálékfelvételt szabályozó szerepével kapcsolatban kevés információ áll rendelkezésre, célul tűztük ki, hogy munkánkban megvizsgáljuk a patkány LS területén előforduló NPY, Gal és Leu-enk rostro-caudalis megoszlását, valamint immuncytokémiaileg lokalizálható mennyiségének éhezés hatására bekövetkező változásait. Ezen vizsgálatokat hím és nőstény, valamint ovariectomizált (OVX) állatok estében is elvégeztük, az esetleges nemi különbségek feltárása érdekében.

Kísérleteinkben a következő kérdésekre kerestük a választ:

- Hol és milyen neuronális elemekben fordul elő a LS magcsoportjaiban a Leu-enk, NPY és Gal?
- Van-e különbség a három neuropeptid immuncytokémiaileg detektálható mennyiségében a magcsoportok rostro-caudalis kiterjedése mentén?

- Változik-e a Leu-enk, NPY és Gal immuncitokémiailag detektálható mennyiségének denzitása egy hetes teljes táplálékmevönás hatására hím állatokban?
- Milyen változások történnek a három neuropeptid denzitásában 1-4 hétig tartó 40 %-os táplálék mevonás hatására hím patkányokban?
- Befolyásolják e a női nemi hormonok a három neuropeptid expresszióját a LS területén?
- Hasonló denzitásbeli változásokat tapasztalunk-e nőtény állatok esetében 1-4 hétig tartó 40 %-os táplálék mevonásra, mint a hímeknél?
- Hogyan befolyásolják a gonadális hormonok a 40 %-os táplálékmevönás neuropeptidek expressziójára gyakorolt hatását (OVX és nőtény állatok összehasonlító vizsgálata)?

### **3. Anyagok és módszerek**

#### ***Felhasznált állatok***

Vizsgálatainkhoz azonos korú, fiatal, ivarérett, Wistar hím (n=20) és nőtény (n=32) patkányokat (250-280 g) használtunk fel. Az állatokon végrehajtott kísérleteket a Szent István Egyetem Állatorvos-tudományi Karának Munkahelyi Állatkísérleti Bizottságának engedélyével, valamint az EU (86/609 EEC) előírásait és a 243/98-as kormányrendeletben leírtakat követve végeztük el.

#### ***Műtéti technika***

A fiatal, ivarérett nőtény állataink egy részén mély alatatásban ovariectomiát hajtottunk végre. Ezeket az állatokat két hét lábadozási idő után vontuk be az éheztetési kísérletekbe.

#### ***Éheztetési kísérletek kivitelezése***

Minden éheztetési kísérlet kontroll csoportja *ad libitum* fogyaszthatott laboratóriumi patkánytápot és csapvizet. Az alábbi kísérleti csoportokat állítottuk fel:

- Hím patkányok egy hetes teljes éheztetése során: az éhező csoport egy héten keresztül nem kapott táplálékot *ad libitum* ivóvízfogyasztás mellett. Az egy hét elteltével az állatok agyát perfúziós fixálás után feldolgoztuk.

- Hím, nőtény és OVX nőtény állatok 1 hetes 40 %-os táplálék mevonása során: az éhező csoport a naponta fogyasztott átlagmennyiségnek 60%-t kapta, egy héten keresztül, *ad libitum* vízfogyasztás mellett. Az első hét végén az állatok testtömegét a perfúziós fixálás előtt

lemértük, majd mély altatásban, a perfúziós fixálást megelőzően a szív bal kamrájából vért vettünk, melyből plazma glükóz, koleszterin, triglicerid, illetve szabadzsírsav tartalmat határoztunk meg.

- Hím, intakt nőstény és OVX állatok 2-3-4 hetes 40 %-os táplálék megvonása során: hasonló képpen jártunk el, mint az egy hetes részleges éheztesnél leírtaknál, csak az éhezés időtartamát terjesztettük ki 2-3-4 hétre. A második, a harmadik és a negyedik hét végén az éhező és a kontroll csoportból egyaránt mintát vettünk.

### ***Perfúzió és immuncitokémiai festés fény- és elektronmikroszkópra***

A kísérletekben résztvevő állatokat mély altatásban a bal szívkamrán át perfundáltuk.

A kipreparált agyakból egy éjszakás 4 %-os paraformaldehides utófixálás után, az agy septalis régiót tartalmazó részéből a koronális síkban 60  $\mu$ m-es vibratom sorozatmetszeteket készítettünk. A metszeteken free-floating fénymikroszkópos pre-embedding Leu-enk-, NPY- és Gal-immuncitokémiai reakciót végeztünk. A reakció vizualizálását követően a metszeteket zselatinos tárgylemezre húztuk, víztelenítés után DePeX-ben lefedtük. Az elektronmikroszkópiára szánt metszeteket 1 %-os OsO<sub>4</sub>-dal utófixáltuk, majd felszálló alkohol sorban való víztelenítés után Durcupan műgyantába ágyasztuk. Az immunreaktív elemekben gazdag területeket blokkokba átágyasztuk, majd 60 nm ultravékony metszeteket készítettünk Reichert ultramikrotómmal. Az elektronmikroszkópos felvételeket JEOL 100C elektronmikroszkóppal készítettük.

### ***Metszetek denzitometriás kiértékelése***

A kontroll és éhezett állatokból készült metszetek LS-t tartalmazó részéről digitális kamerával 40 $\times$  alapanagyítású mikrofotókat készítettünk. A képelemzéshez a Scion Image for Windows v4.02  $\beta$  verziójú (Scion Corporation, Frederick, MD, USA) programot alkalmaztuk.

### ***Eredményeink statisztikai kiértékelése***

A denzitometriás eredményeinket Excel program (Microsoft) segítségével összegeztük. Egy-egy csoport állatainak denzitometriás adataiból átlagot számoltunk és meghatároztuk a csoportokon belüli szórást (SE) is. A kísérleti csoportok átlag denzitás értékei közötti különbségeket Student *t*-teszttel mutattuk ki. Nem minden kiértékelhető létszámú csoport értékei tértek el egymástól szignifikánsan, akkor tekintettük szignifikánsnak az eltérést, ha  $P < 0,05$ . A statisztikai analízist Kaleidagraph (Synergy Software) program, az eredményeinket összegző grafikonokat Microsoft Excel program segítségével készítettük el.

#### **4. Eredmények és következtetések**

Munkánk során nyomon követtük három neuropeptid, a Leu-enk, NPY és Gal rostrocaudalis megoszlását és denzitásbeli változásait hím, nőstény és ovariectomizált patkányok LS-ban.

##### ***Leucin-enkephalin elhelyezkedése és rostrocaudális megoszlása patkány LS-ban***

Koronális metszeteken vizsgálva, Leu-enk IR sűrű rosthálózatot találtunk a LS dorsalis magjának medialis, valamint intermedialis és ventralis magjának lateralis részén. Varikózus rostok pericellularis kosárcákat képeznek immunnegatív sejttestek körül, melyekről korábbi vizsgálatok bizonyították, hogy főleg calbindin tartalmú neuronok és 10%-uk  $\gamma$ -amino-vajsav (GABA) tartalmú „somatospiny” (szómán tüskés) neuron. Kísérleteinkben immunpozitív sejttesteket nem tudtunk kimutatni, aminek lehetséges oka a colchicin kezelés elmaradásában keresendő. Munkánkban először vizsgáltuk a LS Leu-enk immunpozitív rostok denzitásának rostrocaudalis megoszlását. A rostrocaudalis tengely középső részén tapasztaltuk a legnagyobb rostsűrűséget, amely a legrostralisabb és legcaudalisabb terület denzitásához viszonyítva nyolcszoros növekedést mutatott. Az általunk kapott Leu-enk mintázat a korábbi megfigyeléseket megerősíti, illetve rámutat arra, hogy a Leu-enk beidegzés főleg a rostrocaudalis tengely középső területein található neuron populációt látja el bemenetekkel.

##### ***Leucin-enkephalin denzitás változásai OVX hatására***

A női nemi hormonok hiánya jól detektálható növekedést okozott a Leu-enk denzitásában a LS területén. *In situ* hibridizációs technikát felhasználó korábbi tanulmányok felhívták a figyelmet az opioid peptidok mRNS szintjeinek ciklus-függő ingadozásaira intakt nőstényekben és OVX állatokban exogén ösztrogén adagolást követően. A ventromedialis hypothalamus területén csökkent a proenkephalin mRNS expressziója gonadectomia után, míg sem a striatum, sem a bulbus olfactorius területén nem tapasztaltak változást. Ezek alapján feltételezhetünk egy területfüggő kapcsolatot a gonadalis hormonok és a központi opioid szignál között. A Leu-enk megnövekedett mennyisége feltételezhetően annak köszönhető, hogy a hypothalamikus területek neuronjainak szómájából a neuropeptid transzportálódott az axonokba, illetve axon végfácskába, így megnövelve a Leu-enk denzitását a LS területén és lecsökkentve azt a hypothalamusban.



### ***Éhezés és részleges táplálékmegvonás hatása Leu-enk denzitására hím, nőstény és OVX patkányok LS-ban***

Az éhezés típusától függetlenül a Leu-enk-immunpozitív rostok mennyisége három kísérletünkben csökkent. Hím, 40 %-os éheztetéses kísérletünkben a Leu-enk mennyisége az első hét után kevésbé csökkent, mint a teljes táplálék megvonásos és az első heti nőstény, 40%-os éheztetéses kísérletben. Ha a négy hetes kísérlet denzitásbeli változásait tekintjük, a hím, 40 %-os táplálékmegvonás esetében ez a csökkenés nem volt olyan gyors változás, inkább tekinthető időben elnyújtottabbnak. Egyedül az 1 hetes 40 %-os OVX éheztetésnél nem tapasztaltunk denzitásbeli változást a kontroll állatokhoz képest, amit a két ellentétes hatás (OVX és éhezés) eredője magyarázhat. A 2-4 hétig tartó 40 %-os éheztetéses kísérletünk második és negyedik hetén itt is kb. 75%-os csökkenést figyeltünk meg. Korábbi tanulmányok az opioidokat úgy említik, mint a rövid távú táplálékfelvételt stimuláló neuropeptideket. Egy másik tanulmányban az opioid receptor antagonisták táplálékfelvételt csökkentő hatásáról írnak rágcsálókban és emberben is. Úgy tűnik, hogy az opioidok rövidtávú táplálékfelvételt elősegítő hatása kísérleteinkben nem érvényesült. Az általunk tanulmányozott körülmények inkább tekinthetők hosszú távú táplálékmegvonásnak, ebből kifolyólag a Leu-enk denzitásának csökkenése feltehetőleg a patkány szervezetének adaptációs reakciója az állat túlélése érdekében. Másrészt az éhezést valószínűleg stresszként éli meg az állat és az ehhez való habituálódás hatással lehet az endogén opiátok expressziójára, ami a csökkenő opioid denzitásban nyilvánulhat meg.

### ***Neuropeptid-Y elhelyezkedése és rostrocaudális megoszlása patkány LS-ban***

Hasonlóan a Leu-enk megoszlásához a NPY is a LS egész rostrocaudalis tengelye mentén kimutatható. Az IR rostok és a sejttestek egy részét főleg a lateralis, ependyma réteghez közeli területen, míg az immunpozitív sejtek másik csoportját, kevés IR rosttal együtt, a dorsalis területen azonosítottuk. Saját megfigyelésünk, hogy a lateralis területeken előforduló immunpozitív sejtek nyúlványaikkal az ependyma réteg felé fordulva festődtek. Elhelyezkedésük liquor monitorozó funkciójukra utalhat. Irodalmi adatok alapján feltételezzük, hogy a LS NPY pozitív sejtjeinek egy része (ependyma réteghez közel eső csoport) is hordozhat leptin receptorokat, így a liquor leptin tartalmának változása közvetlenül befolyásolhatja ezen sejtek működését. A NPY-IR rostok denzitási görbéje két csúcst tartalmaz, amely alátámasztja az irodalomban leírtakat, mely szerint NPY mRNS tartalmú sejteket mutattak ki a nucleus septohippocampalisban, illetve a mellette húzódó sávban, közel a nucleus septofimbrialishoz. Az általunk leírt denzitásbeli változások jó összhangban vannak korábbi munkák által kimutatott eredményekkel, kiegészítve azokat, azzal, hogy a

rostrorocaudalis tengely közepétől a denzitás csökken, majd caudalis irányban újra sűrűbbé válik a NPY beidegzés.

### ***Neuropeptid-Y denzitás változásai OVX hatására***

Kísérletünkben az OVX hatására a NPY-IR rostok átlagos denzitása a kontroll érték 28 %-ára csökkent. A petefészek eltávolítás, a petefészek hormonok hiánya hyperphágiához és kóros testsúlygyarapodáshoz vezet. Az OVX állatoknál az ARC és a PVN területén fokozott NPY gén expressziót figyeltek meg, amely ösztrogén adagolás hatására visszaállt az eredeti szintre. Korábbi kísérletekben kimutatták, hogy a hypothalamus NPY-t expresszáló sejtjei és más hypothalamikus neuronok, melyek szerepet játszanak a táplálékfelvétel szabályozásában, egyaránt expresszálnak ösztrogén receptorokat, amely az ösztrogén NPY termelésre kifejtett közvetlen hatását támaszthatja alá. Egy korábbi még nem publikált tanulmányunkban kettős jelöléses kísérletet végeztünk NPY és GABA ellenanyaggal a LS területén. Ebben a tanulmányunkban során többször figyeltünk meg NPY immunpozitív axon terminálisokat GABA immunpozitív perikaryonok közelében. Továbbá korábbi kutatások a LS és ARC ill. PVN közötti reciprok kapcsolatot bizonyították. Ezek alapján, az említett reciprok kapcsolat a LS és a hypothalamus között valószínűleg direkt ösztrogén hatás alatt áll, mind a LS, mind a hypothalamus területén. Feltételezésünk szerint a NPY denzitás csökkenését a LS területén mind direkt, mind indirekt módon befolyásolhatta az ösztrogén hiány. További kísérletek szükségesek, hogy felderítsük a pontos szabályozási mechanizmust a két reciprok kapcsolatban álló terület között.

### ***Éhezés és részleges táplálékmevönás hatása NPY denzitására hím, nőstény és OVX patkányok LS-ban***

A NPY az egyik legorexigénebb neuropeptid, amely részt vesz a táplálékfelvétel szabályozásában. Orexigén hatását mind intracerebralis beadása, mind a táplálék megvonás (csökkenő leptin szint) kiválthatja. Kapott eredményeink összhangban állnak a NPY erős orexigén hatásával. Mind hímek, mind nőstény patkányok LS-nak NPY denzitása növekedett az első hetes 40 %-os táplálékmevönás hatására. Kivétel az egy hetes teljes éhezéssel és az OVX részlegesen éheztetett csoportnál tapasztalt denzitás csökkenés, ami látszólag ellentmond a NPY orexigén hatásának. Érdekes azonban megfontolni, hogy a teljes éhezés hatására a downreguláció, amit a 4 hetes éheztetéssel kísérletek második hetétől tapasztaltunk, már hamarabb érvényesülhet. Továbbá ugyanezen kísérletünkben szereplő másik orexigén hatású neuropeptid, a Gal denzitása viszont megnőtt, ami tulajdonítható a NPY funkció átvételének az irodalom alapján.

Négy hetes, 40 %-os éheztetéses kísérleteinkben OVX nőstényeknél már az első héten, nőstény állatainknál a második héttől, hím állatainknál a harmadik héttől a NPY denzitásában egy csökkenő tendenciát detektáltunk. Ugyan a NPY esetében tapasztalt csökkenés gyorsabban és nagyobb mértékben zajlott le nőstényeknél és OVX nőstényeknél, mint a hímeknél, de a változás tendenciája hasonló volt. E különbséget okozhatja a NPY esetében is fellépő közvetett, vagy közvetlen ösztrogén hatás, illetve annak kiesése.

### ***Galanin elhelyezkedése és rostrocaudális megoszlása patkány LS-ban***

Gal-IR varikózus rostok elhelyezkedése átfedésben volt a NPY-IR területekkel. A nucleus intermediális és nucleus ventralis lateralis részén megegyezett a két neuropeptid elhelyezkedése, míg Gal varikózus axonok a nucleus dorsalis területén nem voltak kimutathatók. Kísérletünkben Gal tartalmú sejteket nem sikerült detektálnunk. Míg patkány LS-ban előző munkák nem igazolták Gal-IR neuronok jelenlétét, egy másik tanulmány szerint colchicines előkezelés után egér LS-ban Gal-IR neuronokat találtak. A három tanulmányozott neuropeptid közül a Gal abszolút denzitása volt a legkisebb. Denzitási görbéje egy kisebb csúcst tartalmaz, ami az egyik NPY rostokkal sűrűn ellátott területtel átfedést mutatott. A Gal és a NPY varikózus rostok térbeli elhelyezkedésének hasonlósága utalhat a két orexigén neuropeptid egymásra gyakorolt hatására, de ennek igazolására további korrelált fény és elektronmikroszkópos kettős jelöléses kísérletek szükségesek.

### ***Galanin denzitás változásai OVX hatására***

OVX hatására majdnem 50 %-os denzitás csökkenést detektáltunk. Gal tartalmú neuronokon ösztrogén receptorokat mutattak ki a mediobasalis hypothalamus területén. Továbbá, a proestrus alatti megemelkedett ösztrogén szint ugyanitt növeli a Gal kimutatható mennyiségét. Más tanulmányok is megerősítik, hogy az ösztrogén elősegíti a Gal expresszióját. Az általunk megfigyelt OVX hatására bekövetkezett átlagos denzitás csökkenés utalhat az ösztrogén hiányból adódó serkentés megszűnésére.

### ***Éhezés és részleges táplálékmevnyomás hatása Gal denzitására hím, nőstény és OVX patkányok LS-ban***

A hím, egy hetes teljes éheztetéses kísérletünk után a Gal denzitása növekedett a LS területén. A NPY-t expresszáló ARC neuronok a PVN Gal-t expresszáló neuronjaira expressziót serkentő hatással bírnak. A LS területén is feltételezhető kapcsolat a NPY-t expresszáló sejtek és a Gal tartalmú rostok között, ami magyarázhatja a Gal későbbi denzitás

növekedését, átvéve, vagy elősegítve a NPY táplálékfelvételt serkentő hatását. Valószínűsíthető, hogy miközben a NPY denzitása lecsökkent az egy hetes éhezés után a Gal lett felelős az orexigén hatás kialakításáért.

A hím 4 hetes, 40 %-os éhezés alatt a NPY-hoz hasonlóan az első két héten emelkedett a Gal mennyisége, majd a harmadik és negyedik hétre fokozatosan csökkent a kontroll érték alá. Figyelmet érdemel az a megfigyelésünk, hogy a Gal és az NPY denzitási görbéje azonos lefutást mutat, ami a két neuropeptid hasonló szerepére utalhat. Már az első héten tapasztalt megemelkedett NPY és Gal denzitási értékek a LS magjaiban az állat energia egyensúlyának a lebontási folyamatok (pl.: fokozott zsírsav lebontás) felé való eltolódásának tulajdonítható, míg a harmadik és negyedik hétre lecsökkent neuropeptid szintek a szervezet energia metabolizmusának adaptálódására utalhatnak.

A 4 hétig tartó nőstény és OVX, 40 %-os éhezéses kísérletünkben, a Gal mennyiségi változásaiban egy időbeli eltolódást figyeltünk meg a NPY denzitási változásaihoz viszonyítva. Mindezek alapján feltételezhető, hogy a NPY downregulációját a Gal downregulációja detektálható késéssel követi.

Munkánk eredményeinek végső konklúziójaként megállapíthatjuk, hogy a hypothalamikus szabályozó központtal kölcsönös kapcsolatban álló LS - ha csak indirekt módon is- részét képezi a táplálékfelvételt befolyásoló bonyolult neuroendocrin szabályozó rendszernek.

## **5. Új tudományos eredmények**

Munkánk során elsőként vizsgáltuk a patkány LS-nak néhány orexigén és anorexigén neuropeptidjét táplálék-megvonás, ill. a gonadalis hormonok változásainak hatására.

Kísérleteink főbb eredményei a következők:

1. Kontroll állatokban felmértük a Leu-enk, NPY és Gal megoszlását a LS rostrocaudalis tengelye mentén és megállapítottuk, hogy a Leu-enk átlagos denzitása volt a legnagyobb, ezt követte a NPY és a legkisebb átlagos denzitást a Gal-nál detektáltunk. Megállapítottuk továbbá, hogy míg a Gal denzitása többé-kevésbé egyenletesnek mondható, a Leu-enk-immunreaktív fonadék jóval magasabb denzitású a középső metszetek területén, mint a legrostralisabb, vagy legcaudalisabb metszeteken. Ugyanakkor az NPY denzitása kétszűcsű görbével ábrázolható, kb. a rostrocaudalis kiterjedés egyharmadánál és kétharmadánál mérhető maximális értékekkel.

2. Egy hetes teljes táplálék megvonás hatására hím patkányokban a Leu-enk és NPY mennyisége csökkent, míg a Gal denzitása közel kétszeresére nőtt. Ugyanakkor 4 hetes 40 %-os éheztetés a Leu-enk átlagos denzitását folyamatosan csökkentette, míg a NPY és Gal denzitása egymáshoz hasonló változást mutatott: az első két hétben nőtt, majd lecsökkent a kontroll érték alá.
3. OVX hatására Leu-enk mennyisége növekedett, míg a Gal és a NPY csökkent.
4. Intakt nőstényekkel folytatott 4 hetes 40 %-os éhezés különböző mértékben befolyásolta az általunk vizsgált neuropeptidok átlagos denzitását. A NPY, mint a szervezet legorexigénebb neuropeptidjének átlagos denzitása nőtt az első héten, majd csökkent. A Gal nem követte a NPY denzitási változást, a tapasztalt csökkenés az esetleges nemi hormonhatásnak tulajdonítható. A Leu-enk átlagos denzitásának csökkenését figyeltük meg, mennyiségének kis mértékű növekedése az éheztetett nőstényeknél a második héten általunk nem tanulmányozott közvetlen, vagy közvetett szabályozásnak tulajdonítható.
5. OVX nőstényeknél 4 hetes 40 %-os éhezés hatására a LS területén mért Leu-enk és Gal denzitás változása ugyanezen körülmények között éheztetett hímek eredményeihez volt hasonló, igaz a Gal denzitás növekedése csak késve történt meg. Míg a NPY átlagos denzitásának csökkenését figyeltük meg kisebb ingadozásokkal, ez az esetleges kieső, közvetlen, vagy közvetett nemi hormonhatásnak tulajdonítható.

## 6. Tudományos publikációk

### *A témában megjelent tudományos publikációk*

#### **Közlemények**

- Kovács, É.G.**, Szalay, F., Halasy, K. (2005): Fasting induced changes of neuropeptide immunoreactivity in the lateral septum of male rats. *Acta Biol. Hungarica*. 2005, 56: 185-197. Impact faktor: 0,447
- Kovács, É.G.**, Szalay, F., Rácz, B., Halasy, K. (2007): Chronic fasting induced changes of neuropeptide Y immunoreactivity in the lateral septum of intact and ovariectomized female rats. *Brain Research*. 1153, 103-110. Impact faktor: 2,218
- Kovács, É.G.** (2007) Az elhízásról: agyunk étvágyközpontja. *Élet és Tudomány* 62/1, 12-14.

#### **Poszterek**

- Halasy, K., Rácz, B., **Kovács, É.G.**, Janzsó, G., Vecsei, L. (2002): Opioiderg elements in the lateral septum of the rat. IBRO International Workshop on Signaling Mechanisms in the Central and Peripheral Nervous System, 24th-26<sup>th</sup> January, 2002, Debrecen, Hungary.
- Kovács, É.G.**, Szalay, F., Halasy, K. (2004): Rostrocaudal distribution of neuropeptides involved in food intake in the lateral septum of rat. *Clinical Neuroscience*. 57, pp34.
- Kovács, É.G.**, Szalay, F., Halasy, K. (2004): Effect of reduced food intake on the immunocytochemically detectable amount of three neuropeptides in the lateral septum of rat. FENS Forum, Lisbon, Portugal, Abstract no. A011.11.
- Kovács, É.G.**, Szalay, F., Halasy, K. (2005): Chronic fasting induced changes of neuropeptides involved in food intake in the lateral septum of female and ovariectomized rats *Clinical Neuroscience*. 58, pp54.
- Szalay, F., Halasy, K., **Kovács, É. G.** (2005) Egyszerű képelemzési technika immunfestett fénymikroszkópos felvételek gyors denzitometriás kiértékelésére. *Clinical Neuroscience*. 58, pp89.
- Kovács, É. G.**, Szalay, F., Halasy, K. (2005): Chronic fasting induced changes of neuropeptides involved in food intake in the lateral septum of female and ovariectomized rats Poster on the 24th International Summer School of Brain Research on Hypothalamic integration of energy metabolism, 29<sup>th</sup> August-1<sup>st</sup> September, 2005, Amsterdam, Netherlands.

## **Előadások**

- Kovács, É.G.**, Szalay, F., Halasy, K. (2004): Leucin enkephalin és neuropeptid Y rostrocaudalis megoszlása patkány laterális septumában. MTA Állatorvostudományi Bizottság, előadás, absztrakt.
- Kovács, É.G.**, Szalay, F., Halasy, K. (2005): Egy hetes éhezés hatása a táplálékfelvétel szabályozásában résztvevő három neuropeptid denzitására hím patkány laterális septumában. MTA Állatorvostudományi Bizottság, előadás, absztrakt.
- Kovács, É.G.**, Szalay, F., Janzsó, G., Valcz, G., Halasy, K. (2006): Egy hetes részleges takarmány megvonás hatása a táplálékfelvétel szabályozásában résztvevő három neuropeptid denzitására nőstény és ovariectomizált patkány laterális septumában. MTA Állatorvostudományi Bizottság, előadás, absztrakt.

## ***Egyéb publikációk***

### **Közlemények**

- Bagyánszki, M. **Kovács, É.G.**, Resch, B.A., Román, V., Resch, B.E, Fekete, É. (2001): Computer-aided morphometric analysis of the developing concentric structure of the human fetal intestinal tube. - *Histology and Histopathology* 17(3),731-7. Impact faktor: 2,007
- Kovács Éva G.**, Neil J. MacLusky and Csaba Leranthe (2003): Effects of testosterone on hippocampal CA1 spine synaptic density in the male rat are inhibited by fimbria/fornix transection. *Neuroscience*. 122, 807-810. Impact faktor: 3,352
- Halasy K., **Kovács É.G.**, Thien Thri-Lam, Leranthe C. (2004): Distribution and origin of vesicular glutamate transporter-2 immunoreactivity in the rat hippocampus. *Hippocampus*. 14, 908-918. Impact faktor: 5.745
- Zsarnovszky, a., **Földvári, E.G.**, Rónai, Zs., Bartha, T., Frenyó, L. V. (2007) Oestrogens in the mammalian brain: from conception to adulthood-a review. *Acta Veterinaria Hungarica* 55, 333-347. Impact faktor: 0,474

### **Poszterek**

- Kovács, É.G.**, Bagyánszki, M., Resch, B., Fekete, É. (2001): Quantitative differences in the distribution of myenteric nitrenergic neurons along the longitudinal axis of the developing human fetal intestine. - Poster on the VIIIth Annual Meeting of the Hungarian Neuroscience Society, 24th-27th January, 2001, Szeged, Hungary

Halasy, K., **Kovács, É.G.**, Tri-Lam, T., Léránth, Cs. (2003): Vezikularis glutamát transzporterek a patkány hippocampusban: léziók hataása az immunfestésre Clinical Neuroscience. 56, pp33.

### **Előadások**

Halasy, K., **Kovács, É.G.**, Tri-Lam, T., Leranath, C. (2003): Fimbria-fornix lézió hatása vesiculáris glutamát transzporterek immuncytokémiai lokalizálására a patkány hippocampusban. MTA Állatorvostudományi Bizottság, előadás, absztrakt.

**Kovács, É.G.**, Frenyó, V.L., Kirley, T., Belcher, S.M., Sótónyi, P., Zsarnovszky, A. (2007) NTPDase 3 in the CNS of the rat mapping and functional consideration. MTA Állatorvostudományi Bizottság, előadás, absztrakt.



## 7. Köszönetnyilvánítás

Elsősorban szeretnék köszönetet mondani Prof. Halasy Katalin témavezetőmnek, aki nemcsak szakmai tudását próbálta átadni nekem, hanem emberileg is támogatott, biztatott, ha kellett rámpirított, hangulatváltozásaimat tolerálta, és ha elkeseredtem egy-egy cikk bírálatán, rosszul sikerült kísérleten, segített ötleteivel továbblépni és új erőt gyűjtenem.

Köszönet Prof. Sótonyi Péternek, hogy lehetővé tette a zökkenőmentes munkámat az Anatómiai és Szövettani Tanszéken.

Köszönet az Anatómiai és Szövettani Tanszék munkatársainak, akik befogadtak, és biztosították a támogató légkört a munkámhoz, kiemelném Dr. Szalay Ferencet, aki a SCION Image programhoz a macrot elkészítette, Dr. Rácz Bencét, aki a statisztika elkészítésében nyújtott segítséget, valamint Pető Klára asszisztensi segítségét.

Munkám utolsó negyedében az Élettani és Biokémiai Tanszéken voltam állásban a néhai Prof. Rudas Péter jóvoltából. Köszönöm, hogy Prof. Frenyó V. László tanár úr folyamatosan lehetőséget adott a dolgozatomon való utolsó simítások elvégzésére, az elmaradt kísérletek befejezésére, mi több, támogatott és biztatott a minél előbbi befejezésre.

Köszönet az Élettani és Biokémiai Tanszék dolgozóinak, akik olyan családias légkört varázsoltak körém, hogy olyan volt, mintha haza járnék dolgozni. Dr. Gyórfy Andreának, aki mesze többé vált, mint egy egyszerű szobatárs a munkahelyen. Dr. Zsarnovszky Attilának, akinek a tudomány iránti lelkesedése, alapossága, nagy szaktudása elbűvölt, és munkára sarkallt.

És nem utolsó sorban köszönet a családomnak, férjemnek, Dr. Földvári Gábornak, aki úgy támogatott, hogy tudta mikor éppen mire van szükségem, kisfiamnak, Földvári Barna Bendének, aki türelemmel elviselte, hogy a mama nem mindig ért rá, apukának, Dr. Földvári Mihálynak, aki példát mutatott nekem kitartásból, munkabírásból.

Végül köszönet az Édesanyámnak, Kondász Margitnak, aki végig bízott bennem és erején felül is támogatott.

A dolgozatomat anyósom emlékének ajánlom, Dr. Terray Jusztinának, aki tudom, hogy boldogabb lenne, mint én ebben a pillanatban.