

MTA Doktora Pályázat
Rövid Értekezés

**A hypophysis-működés és az anyagcsere-folyamatok
szabályozásának kölcsönhatásai**

Korbonits Márta

Budapest

2008

TARTALOMJEGYZÉK

1	BEVEZETÉS	3
2	RÖVIDÍTÉSEK	3
3	GHRELIN	5
3.1	Ghrelin és GHS-R szöveti eloszlása és a receptor deszenzitizációja	6
3.2	Ghrelin hatása a hypothalamusra és a hypophysisre	9
3.3	Ghrelinszintek változása extrém testsúlyú betegeknél	10
3.4	Ghrelin gén variációk hatása a testfelépítésre	12
4	AMPK	15
4.1	A ghrelin hatása a centrális és perifériás AMPK aktivitásra	16
4.2	Kannabinoidok hatása a centrális és perifériás AMPK aktivitásra	18
4.3	A ghrelin és kannabinoidok interakciói.....	19
4.4	A glükokortikoidok hatása az AMPK aktivitásra.....	22
5	HYPOPHYSIS TUMORGENEZIS	25
5.1	Hypophysis tumorok gén és fehérje expressziós feldolgozása.....	27
5.2	A hormonális feedback szerepe a hypophysis tumorgenezisében.....	28
5.3	Sejtciklus és jelátviteli fehérjék szerepe a hypophysis tumorgenezisében.....	29
5.4	Öröklődő hypophysis adenomákat okozó gének szerepe a sporadikus adenomák tumorgenezisében	30
5.5	Az AIP szerepe a familiáris izolált hypophysis adenomákban	33
6	A LEGFONTOSABB ÚJ EREDMÉNYEK ÖSSZEFOGLALÁSA	37
7	AZ ÉRTEKEZÉS ALAPJÁUL SZOLGÁLÓ KÖZLEMÉNYEK	39
8	A SZERZŐ PHD ÉRTEKEZÉSE ÓTA PUBLIKÁLT EGYÉB KÖZLEMÉNYEI	45
9	KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	50
10	A ÉRTEKEZÉSBEN IDÉZETT KÖZLEMÉNYEK	51
11	MELLÉKLET	57

1 BEVEZETÉS

A szervezet anyagcseréjének irányítása rendkívül összetett folyamat. Az egyik legfontosabb szabályozó a hypophysis, amely nyolc különböző hormon segítségével közvetlenül vagy egy célszerven keresztül hat a sejtek anyagcsere-szabályozására. Kutatásaimat az endokrinológia területén a növekedési hormon (GH) regulációjának vizsgálatával kezdtem, és valamennyi ebben az értekezésben összegyűjtött munkám ehhez a kezdeti témához kapcsolódik. A következőkben három fejezetben szeretném összefoglalni 1) a ghrelin fiziológiájával és patofiziológiájával kapcsolatos vizsgálati eredményeimet, 2) a ghrelin, a kannabinoidok és a glükokortikoidok az AMPK (adenozin monofoszfát által indukált protein kináz) enzimre gyakorolt hatásának felismeréséről szóló vizsgálataimat, valamint 3) az agyalapi mirigy tumorgenezisével foglalkozó munkásságom eredményeit. A mellékelt eredeti közlemények ábráira a jelen értekezés oldalszámozása szerint utalok. Az irodalmi hivatkozások megválasztásánál igyekeztem a rövid értekezés formai követelményeinek megfelelően elsősorban összefoglaló közleményeket idézni.

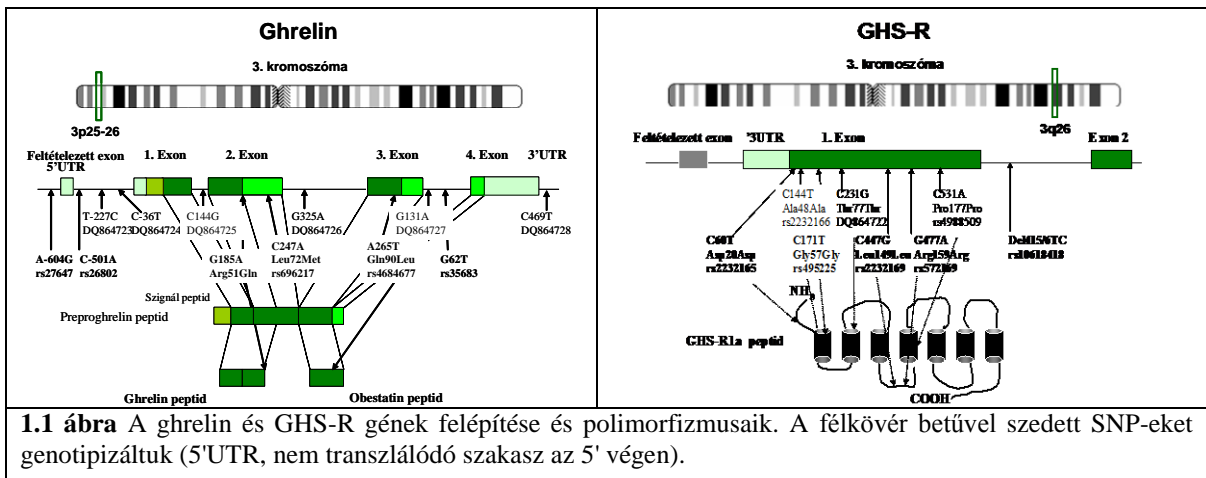
2 Rövidítések

2-AG	2-arachidinoil-glicerin
ACC, pACC	acetyl-CoA karboxiláz, foszforilált ACC
ACTH	adrenokortikotropin
AIP	aryl hydrocarbon-interacting protein
AMPK	adenozin monofoszfát által indukált protein kináz
ATP, AMP, cAMP	adenozin-trifoszfát, adenozin-monofoszfát, ciklikus AMP
BMI	testtömeg-index
CB1	1-es típusú kannabinoid-receptor
CRH	kortikotrop-releasing hormon
DAG	diacyl-glicerin
DNS, gDNS, cDNS	deoxiribonukleinsav, genomiális DNS, komplementáris DNS
ERK	extracellular signal-regulated kinase

FIPA	izolált familiáris hypophysis adenoma
GC	glükokortikoid
GH	növekedési hormon
GHRH	GH serkentő hormon
GHS	GH szekretagóg
GHS-R	GH szekretagóg-receptor
GNAS1	G _s protein α alegységének génje
HOMA	homeostasis model insulin resistance
icv	intracerebroventriculáris
IFS	izolált familiáris szomatotropinoma
IGF-I	inzulinszerű növekedési faktor I
ip	intraperitoneális
KO	knockout
Leu	leucin
LOD	logarithmic odds ratio
M	mol/l
MAPK	mitogen-activated protein kinase
MEN1	1-es típusú multiplex endokrin neoplázia
Met	metionin
PAP	hypophysis adenoma prediszpozíció
PCR	polimeráz láncreakció
PEPCK	foszfoenolpiruvát karboxikináz
PKC	protein kináz C
PLC	foszfolipáz C
PPAR γ	peroxisome proliferátorral aktivált receptor- γ
PWS	Prader-Willi-szindróma
Q, Gln	glutamin
QTL	mennyiségi jellegekért felelős lokusz, quantitative trait locus
R, Arg	arginin
RNS	ribonukleinsav
RT-PCR	reverse transzkripció-PCR
SNP	single (egy pontos) nukleotid-polimorfizmus
T2D	2-es típusú cukorbetegség
VT	vad típusú
X	stop kodon

3 GHRELIN

A ghrelin felfedezéséhez az emberi hypophysisból előállított GH korlátozott elérhetősége, illetve az alkalmazásának ritka, de halálos szövődménye, a Creutzfeld-Jacob-betegség kialakulása következtében beindult kutatások vezettek. Prof. Bowers úttörő munkássága során met-enkephalinból kiindulva egy hat aminosavból álló GH felszabadító molekulához jutott (*Korbonits et al., 2004*). A GH szekretagógokkal (GHS) kapcsolatos eredményeimet a PhD dolgozatomban összegeztem. A Merck gyógyszergyár kutatói Prof. Smith vezetésével számos peptid és nem-peptid analógot állítottak elő, és 1996-ban izolálták e mesterséges molekulák specifikus receptorát, a G-fehérjéhez kötött hét transzmembrán doménnel rendelkező GH szekretagóg-receptort (GHS-R) (*Smith, 2005*). Miután a GHS-ek és a GHS-R legfőbb hatását a hypothalamus és a hypophysis serkentése révén a GH felszabadításban látták, ezért némileg meglepő volt, hogy a GHS-R endogén ligandját, a ghrelint, Kojima és munkatársai a gyomorból izolálták (*Kojima et al., 1999*). A ghrelin felfedezése tehát, a morfinhoz és a kannabinoid rendszerhez hasonlóan, a retrográd farmakológiához kötődött.



A ghrelin gén egy 117 aminosavból álló preproghrelin molekulát kódol, melynek a 24 és az 51 számú aminosav közötti szakasza a végleges ghrelin molekula (**1.1 ábra**). Nemrégiben a C-

terminális régióban egy másik vérben keringő hormon, az obestatin szekvenciáját írták le (*Zhang et al., 2005*). Ennek a 23 aminosavból álló fehérjének egyes vizsgálatok szerint a ghrelinnel ellentétes hatásai vannak a táplálékfelvételre (*Gibson & Korbonits, 2008*).

A ghrelin a GH felszabadításán túl az adrenokortikotropin és a prolaktin elválasztását, a gyomor-bélrendszer motilitását, az immunrendszert és a sejtproliferációt is befolyásolja, de úgy tűnik, hogy elsődleges fiziológiás jelentősége az étvágy, a szénhidrátháztartás és a zsíryanycsere szabályozásában van. A ghrelin molekulához N-terminálisan egy nyolc szénatomból álló zsírsav (oktanoil csoport) kapcsolódik. A vérben keringő ghrelin mintegy 10%-a az oktanoil csoporttal rendelkező úgynevezett aktív ghrelin, míg nagyobb része az oktanoil modifikációt nem tartalmazó dezacil-ghrelin. A dezacil-ghrelin nem aktiválja a GHS-R-t és nincsenek hormonális, illetve étvággal kapcsolatos hatásai, a sejtproliferációt azonban több sejttypusban is befolyásolja (*Korbonits et al., 2004*).

Célkitűzések

1. A ghrelin és receptora szöveti eloszlásának meghatározása, a receptor deszenzitizáció mechanizmusának vizsgálata.
2. A ghrelin hypothalamusra és hypophysisre kifejtett hatásának elemzése.
3. Ghrelinszintek változásának vizsgálata extrém testsúlyú betegeknél.
4. Ghrelin gén variációk testfelépítésre kifejtett hatásának elemzése.

3.1 Ghrelin és GHS-R szöveti eloszlása és a receptor deszenzitizációja

Kutatócsoportunk elsőként vizsgálta a ghrelin és a GHS-R mRNS expresszióját humán hypothalamusban, valamint normális és patológiás agyalapi mirigy szövetben (*Korbonits et*

al., 1998; Korbonits et al., 2001b). Először duplex polimeráz láncreakció (PCR) révén, majd real-time reverse transzkripció-PCR (RT-PCR) technikát alkalmazva különböző típusú hypophysis adenoma, valamint neuroendokrin tumor ghrelin és GHS-R expresszióját hasonlítottuk normális hypophysis szövethez. Friss műtéti anyagból RNS preparátumot készítettünk. Real-time PCR primereket és probe-okat terveztünk a ghrelin molekula és a GHS-R két ismert splice-variánsára (GHS-R1a és 1b). Miután a GHS-R1b intron nélküli transzkript, kettős dezoxiribonukleáz kezelést végeztünk az RNS mintákon. Acromegaliás betegek kifejezett GH-választ adnak *in vivo* GHS stimulálásra, és az általunk talált 2–10-szeres GHS-R expresszió magyarázatot adhat erre a válaszkésztségre [*Korbonits et al., 2001b* 4. ábra az értekezés 69. oldalán]. A Cushing-kóros betegekről is kimutatták, hogy GHS stimulálásra kifejezett ACTH és kortizol választ adnak, ez alapján javasolták, hogy ez tesztként használható lenne a hypophysis és ektópiás eredetű ACTH hiperszekréció differenciáldiagnosztikájában (*Ghigo et al., 1997*). Eredményeink azonban azt mutatták, hogy míg néhány kortikotrop adenoma valóban kifejezett GHS-R expressziót mutatott, egyes ACTH-termelő neuroendokrin tumorok szintén magas szinten expresszálták a GHS-R-t. Ugyanakkor más kortikotrop adenomákban GHS-R expresszió nem volt kimutatható. Azt a következtetést vontuk le, hogy ilyen receptor eloszlási adatok mellett a GHS-teszt nem megbízható differenciáldiagnosztikai eszköz. Később klinikai vizsgálat is igazolta, hogy a GHS-teszt nem alkalmazható e differenciáldiagnosztikai probléma megoldására (*Korbonits et al., 2004*).

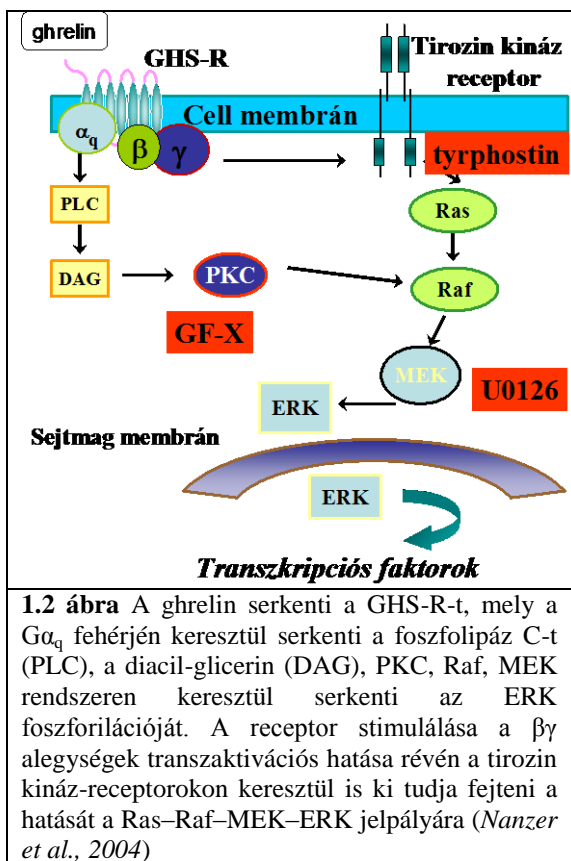
Kutatócsoportunk felismerte, hogy a ghrelinnek és receptorának feltehetőleg szélesebb körű hatása van, mint korábban gondoltuk, és ezért humán mintákat véve meghatároztuk ezeknek a fehérjéknek a génexpresszióját valamennyi számunkra elérhető normális emberi szövetből. Megállapítottuk, hogy a ghrelin és a GHS-R1b az általunk vizsgált összes szövetben expresszálódik [*Gnanapavan et al., 2002*] 2. és 3. ábra, 73. oldal], míg a

funkcionális, teljes hosszúságú GHS-R1a csak korlátozottan, például a hypothalamusban, hypophysisben, a szívizomban és egyes endokrin mirigyekben [(Gnanapavan et al., 2002) 1. ábra, 73. oldal]. A GHS-R1b széleskörű expressziója meglepetés volt, de miután eddig nem bizonyított, hogy az RNS expressziója valóban fehérje szintézishez is vezet, ennek a ténynek a jelentősége mindeztáig ismeretlen. Újabb vizsgálatok néhány további más szövetekben is jeleznek alacsony-szintű GHS-R1a expressziót (Higgins et al., 2007). Ezek az adatok arra engedtek következtetni, hogy a ghrelinnek szélesebb körű szerepe van, és hatása nemcsak endokrin, hanem a ghrelin-szintézis helyén parakrin és autokrin jellegű is lehet. A ghrelin és funkcionális receptorának eltérő eloszlása alapján valószínűsíthető, hogy más, eddig nem ismert ghrelin-receptorok is léteznek. Ezt a feltételezést számos kutatócsoport adatai is alátámasztják (Korbonits et al., 2004; Higgins et al., 2007).

In vivo és sejtkultúrán végzett kísérletek azt mutatták, hogy a GHS-R, a legtöbb G-fehérjéhez kötött receptorhoz hasonlóan, ismételt stimuláció hatására jellegzetesen elveszíti a jelátviteli képességét. Ezt a jelenséget vizsgáltuk humán GHS-R1a plazmiddal transzfektált kínai hörcsög ovárium sejtekben (Orkin et al., 2003). RT-PCR reakcióval bizonyítottuk a GHS-R mRNS jelenlétét, míg az ál-transzfektált sejtekben humán GHS-R nem volt kimutatható. Miután e vizsgálatok még a ghrelin felfedezése előtt kezdődtek, stimulusként a GHS hexarelin molekulát használtuk. A GHS-R1a a foszfolipáz C–diacil glicerín (DAG)–protein kináz C (PKC)–kalcium második hírvivő rendszert serkenti, ezért a receptor aktiválódását az intracelluláris kalcium válasz alapján követtük fluoreszcens Fura-2 festék segítségével. A transzfektált sejtek specifikus kalcium választ mutattak 10^{-10} és 10^{-7} M hexarelin stimuláció után. Kifejezett deszenzitizációt tapasztaltunk 2–5 perccel az első hexarelin kezelés után alkalmazott ismételt stimulusnál [(Orkin et al., 2003) 2. ábra, 96. oldal]. Ezek az adatok elsőként bizonyították a GHS-R deszenzitizációját a másodlagos hírvivő rendszer szintjén.

3.2 Ghrelin hatása a hypothalamusra és a hypophysisre

Már korábbi vizsgálataink során megállapítottuk, hogy a GHS-ok nemcsak GH, hanem prolaktin, ACTH és kortizol felszabadulással is járnak (Korbonits *et al.*, 1995). A ghrelin sem csupán a GH-kibocsátást fokozza, hanem az ACTH-szekréción is. Utóbbi mechanizmusát vizsgáltuk *ex vivo* patkány hypothalamusokon. Először kimutattuk, hogy a ghrelin mRNS és



fehérje jelen van a hypothalamus szövetben, és hogy a magas kálium koncentrációjú szövettenyésztéshez használt oldat további ghrelin szekréción indukál. A hypothalamus ghrelin stimulálása kortikotropin-felszabadító hormon és arginin-vasopresszin felszabaduláshoz vezet. Tehát, a GHS-hez hasonlóan, a ghrelin is hat a hypothalamus–hypophysis–mellékvese tengely működésére.

A ghrelin egyik jellegzetes hatása a sejtproliferációt befolyásoló effektus. Míg egyes sejt típusokat serkent, mint például a máj, zsír

szívizom és prosztata sejtvonalakat, addig emlő, tüdő és pajzsmirigy sejteket gátol. Kutatócsoportunk a GH3 patkány hypophysis sejtvonalon vizsgálta a ghrelin hatását. Miután bizonyítottuk, hogy GHS-R expresszálódik a sejtekben, ghrelin stimulációt alkalmaztunk 10^{-10} – 10^{-6} M koncentrációban. Sejtszám meghatározással és [3 H]-timidin beépülési teszttel mértük a sejtproliferációt, valamint immunoblotting technikával a MAPK csoportba tartozó ERK1/2 fehérje foszforilációját (Nanzer *et al.*, 2004). 10^{-9} M ghrelin hatására szignifikáns sejtproliferációt észleltünk, és a dezacil-ghrelin (10^{-9} M) szintén stimulálta a sejtproliferációt [(Nanzer *et al.*, 2004) 2. ábra, 101. oldal]. A foszforilált ERK1/2 szintje szintén emelkedett

[(Nanzer *et al.*, 2004) 6. ábra, 103. oldal]. A sejtproliferációs és az ERK1/2 hatás feltehetőleg több szekunder messenger rendszeren keresztül zajlik, miután az ERK1/2 gátló U0126, valamint a PKC gátló GF-X és egy tirozin kináz gátló tyrphostin is csökkentette a hatást (**1.2 ábra**). Ezek az eredmények arra engednek következtetni, hogy a lokálisan szintetizált ghrelinnek parakrin/autokrin módon szerepe lehet a hypophysis adenomák növekedésére.

3.3 Ghrelinszintek változása extrém testsúlyú betegeknél

A keringő ghrelin szintjét számos faktor befolyásolja. A legfontosabb akut regulátor a táplálékfelvétel, a legjelentősebb hosszú távú regulátor pedig a testtömeg-index (BMI). Rövidtávon az éhezés emelkedett endogén ghrelinszintet eredményez, míg a táplálékbevitel gyors ghrelinszint csökkenést okoz. Hosszabb távon az alacsony BMI emelkedett, míg az obesitas illetve a jellegzetesen magas inzulinszinttel járó betegségek alacsony ghrelinszintekhez vezetnek. A Prader-Willi-szindróma (PWS) egy komplex betegség, melynek számos tünete (extrém obesitas, hypothalamicus hypogonadismus, GH-hiány, alvási zavarok) hypothalamicus károsodásra utal. A betegség a 15. kromoszómán elhelyezkedő imprinted géncsoporthoz köthető, mely nem tartalmazza sem a ghrelin, sem a GHS-R génjét. Ellentétben a környezeti vagy más genetikus faktorokhoz kötődő obesitas szindrómákkal a PWS betegeknek emelkedett a ghrelinszintje, több mint kétszerese a hasonló BMI-ű egyedek ghrelin szintjének.

Először azt vizsgáltuk, hogy ez a magas ghrelinszint magyarázható-e a BMI-hoz képest alacsonyabb visceralis zsírszövet mennyiségével ill. inzulin rezisztenciájával (Goldstone *et al.*, 2004; Goldstone *et al.*, 2005). PWS betegek ghrelinszintjét vetettük össze a teljes test MRI-vel mért visceralis zsírszövet mennyiséggel, és ezt hasonlítottuk össze normális egyének és elhízott betegek adataival. Mind a betegekben, mind a kontrollokban a

ghrelinszint fordítottan volt arányos a visceralis zsírszövet mennyiségével, az éhgyomri inzulin értékkel és a HOMA- (homeostasis model insulin resistance) indexszel. Ha a PWS betegek ghrelin értékeit az inzulinszintnek vagy a HOMA-indexnek megfelelően korrigáltuk, akkor is egy 1,3–1,6-szoros éhgyomri emelkedett ghrelinszintet kapunk. Tehát a PWS-ben mért emelkedett ghrelinszintek részben, de nem teljes egészében magyarázhatók a PWS betegek relatív hypoinsulinaemiájával. A következő vizsgálatban arra kerestünk választ, hogy táplálékbevitelre ghrelinszint csökkenéssel reagálnak-e a PWS betegek (*Goldstone et al., 2005*). A magasabb éhgyomri plazma ghrelinszint normálisan csökkent étkezés hatására PWS betegekben és a normálsúlyú kontroll csoporthoz viszonyított 1,2–1,5-szörös postprandialis ghrelinszintet mértünk [(*Goldstone et al., 2005*) 2. ábra, 116. oldal]. A patológiás kövérség és hyperphagia a hypothalamust roncsoló folyamatok (pl. craniopharyngeoma) gyakori velejárója, és ezért arra kerestünk választ, hogy vajon ezekben a betegekben is jelen van-e a paradox hyperghrelinaemia. Az éhgyomri ghrelin szignifikánsan alacsonyabb craniopharyngeomás betegekben a normál egyének és a PWS betegekhez képest, és nem különbözik a hasonló BMI-ű elhízott betegek értékeitől [(*Goldstone et al., 2005*) 1C. ábra, 113. oldal]. Tehát a tumor okozta hypothalamus károsodás nem okoz magas ghrelinszintet és relatív hypoinsulinaemiát.

Rövid távú (12–16 órás) éhezés 2–3-szorosára emeli a plazma ghrelinszintet. Egy különleges eset kapcsán alkalmunk nyílt a hosszú távú éhezés során kialakuló metabolikus eltéréseket vizsgálni (*Korbonits et al., 2005; Korbonits et al., 2007*). Egy 30 éves egészséges fiatalember 44 napon keresztül csak vizet vett magához. Az eredeti 96 kg testsúlyából (testmagasság 184 cm, BMI 29) 24,5 kg-ot fogyott (BMI 21,6). A táplálkozás újratekzdése során szigorúan kontrolláltuk a kalóriabevitelt [(*Korbonits et al., 2005*) 1. ábra, 127. oldal]. Ennek ellenére hypophosphataemia alakult ki, melyet intravénás foszfátpótlással korrigáltunk. Májfunkciós eltéréseket, B1 és B6 vitaminhiányt és – az alacsony sóbevitel ellenére –

perifériás ödémát észleltünk. Az éhezésnek megfelelően csökkent pajzsmirigy és gonadális funkciót valamint rendkívül alacsony IGF-I (inzulinszerű növekedési faktor I) értékeket mértünk. Csökkent volt a leptin és a ghrelin szintje is. Az előbbi az erősen csökkent zsírszövetmennyiségnek és a hypoinsulinaemiának, az utóbbi feltehetőleg az emelkedett szomatosztatinszintnek köszönhető [(Korbonits *et al.*, 2007) 3. ábra, 156. oldal]. A beteg éhségérzete az első néhány napon alacsony volt, majd ennek a határozott emelkedését a keringő resistin és orexin A-szint növekedése előzte meg, aminek a jelentősége azonban ezzel az egyedi vizsgálattal nem értékelhető.

3.4 Ghrelin gén variációk hatása a testfelépítésre

Már 1996-ban felfigyeltek egyes GHS-analógok orexigén hatására, de az igazán nagy figyelmet keltő közlemény a ghrelinnel kapcsolatban jelent meg 2000-ben (Tschöp *et al.*, 2000). Ez a vizsgálat arról tanúskodott, hogy a ghrelinnek a GH hatástól független, közvetlen orexigén hatása van. Hamarosan leírták a ghrelin zsírszövet lerakódást serkentő, valamint diabetogén hatását is (Higgins *et al.*, 2007). Logikus lépés volt tehát azt a kérdést felvetni, hogy vajon a ghrelin vagy a ghrelin-receptor génjében található variációk [single (egy pontos) nukleotid-polimorfizmusok, SNP] befolyásolják-e a testmagasság, a testsúly vagy a 2-es típusú cukorbetegség (T2D) kialakulását. Prof. Froguel munkacsoportjával kollaborációban szekvenáltuk a ghrelin és a ghrelin-receptor gén exon, exon-intron találkozási és promoter területeit 72 elhízott gyermekben. 12 SNP-t találtunk a ghrelin génben és 8 SNP-t a GHS-R génben (**1.1 ábra**). Ezután kiválasztottuk a haplotípust meghatározó SNP-eket, és ezeket használtuk a különböző betegcsoportok karakterizálására. Egy gyerekkori obesitasban szenvedő populációt (Gueorguiev *et al.*, 2003; Gueorguiev *et al.*, 2008), egy felnőttkori elhízott (Zavarella *et al.*, 2008) és két felnőtt diabetes populációt (Garcia *et al.*, 2005;

Gueorguiev et al., 2007), valamint 3 normál (két felnőtt és egy gyerek) populációs kohortot (*Garcia et al., 2008*) vizsgáltunk a testfelépítés és a szénhidrát anyagcsere paramétereinek a szempontjából.

Az első vizsgálatban elhízott gyerekekben tanulmányoztuk a preproghrelin fehérje C-terminális felében elhelyezkedő gyakori SNP (Leu72Met) hatását. A metionin allél magasabb BMI és alacsonyabb postprandialis inzulinszinttel korrelált (*Korbonits et al., 2002b*), és ez az eredmény összhangban volt egy felnőttekből álló csoport vizsgálatának adataival (*Ukkola et al., 2001*). Ezzel szemben egy 1420 felnőttből álló kohortban a metionin allél alacsonyabb éhgyomri inzulin, HOMA-index és trigliceridszinttel járt (*Zavarella et al., 2008*). Hasonló kedvező hatást írtak le egy másik vizsgálatban is (*Ukkola et al., 2002*).

A ghrelin és GHS-R gének regulációját vizsgáltuk a promoter régiókban talált SNP-ek segítségével. A ghrelin és GHS-R promoter SNP-eket pGL3 plazmidba építettük, és ezek aktivitását vizsgáltuk luciferáz esszé segítségével két különböző sejtvonalban hidrokortizon, ösztadiol és trijód-tironin stimuláció hatására [(*Garcia et al., 2005*) és Garcia & Korbonits, nem publikált megfigyelés]. A ghrelin promoter régiójában hat különböző haplotípust különböztettünk meg, míg a vizsgált egyedek 96%-a egy GHS-R promoter haplotípussal rendelkezett. A különböző ghrelin és GHS-R promoter haplotípusok bazális aktivitása jelentősen eltért a leggyakoribb haplotípus (vad típus) aktivitásától. Az általunk GHRL3-nek jelzett haplotípus mintegy 50%-kal csökkent aktivitást mutatott, ami arra enged következtetni, hogy ez a promoter csökkent ghrelin expresszióval és hatással jár. Ez a haplotípus összefüggésben volt a 72Met alléllal, tehát az eredmény összhangban volt a fentebb említett két vizsgálattal, miszerint a metionin allél a diabetes és az obesitas szempontjából előnyös (*Ukkola et al., 2002; Zavarella et al., 2008*). Ez az összefüggés azonban nem bizonyosodott be egy 612 betegből álló T2D csoportban, ahol a *ghrelin* és a *GHS-R* gén, valamint a BMI és a szénhidrát anyagcsere komponensei között kerestünk asszociációt (*Garcia et al., 2005*).

Negatív eredményt hozott a BMI és a GHS-R gén kapcsolatáról három nagy normális populációs kohortot, összesen 5807 felnőttet és 843 gyereket magában foglaló vizsgálatunk is (*Garcia et al., 2008*).

A ghrelin testmagasságra kifejtett hatását támasztotta alá az a megfigyelés, hogy a Warren 2 T2D kohortban egy mennyiségi jellegekért felelős lokuszra (quantitative trait locus, QTL) figyeltek fel a 3p26 kromoszómán, azon a lokuszon, ahol a ghrelin gén helyezkedik el (*Wiltshire et al., 2002*). [Ekkor még nem volt ismert, hogy a GHS-R knockout (KO) egérnek 20%-kal alacsonyabb az IGF-I szintje (*Sun et al., 2004*)]. Feltételeztük, hogy a ghrelin felelős lehet e megfigyelt QTL-ért. A ghrelin gén körüli linkage-et microsatellita vizsgálattal erősítettük meg, így összesen 27 markerünk volt az adott területre. Ezek összevetése a felnőttkori testmagasság adatokkal egy 2.58-as LOD (logarithm of the odds ratio) score-t eredményezett. Öt gyakori SNP genotipizálása azonban nem mutatott szignifikáns összefüggést a testmagasság és a SNP-k között, azt sugallva, hogy a ghrelin gén nem fontos tényezője a felnőttkori testmagasság kialakulásának. Egy elhízott gyerekekből, illetve a családjukból (263 család, 1275 egyén) álló csoportban szintén a testmagasságot vizsgáltuk a ghrelin és GHS-R SNP-ekkel kapcsolatban, és összevetettük adataikat egy normális populációval (287 család, 1072 egyén). Bár találtunk bizonyos összefüggést a testmagasság és az egyik GHS-R SNP között, amikor azonban a többszörös tesztek elvégzése miatt korrigáltuk az adatokat a szignifikancia eltűnt. A három nagy normális populációt magában foglaló vizsgálat szintén nem talált asszociációt a GHS-R és a testmagasság között (*Garcia et al., 2008*). Vizsgálatainkban sem célzott beteg populációkban (elhízott vagy diabeteszes), sem pedig normális populációkban nem találtunk megbízható összefüggést a testfelépítés és a ghrelin vagy GHS-R SNP-jei között. Ugyan kezdeti adataink több ízben is mutattak pozitív összefüggéseket, megerősítő vizsgálatok végzésekor ezek az asszociációk eltűntek, azt a jól

ismert megfigyelést bizonyítva, hogy genetikai vizsgálatoknál sokszor rendkívül nagy populáció és ismételt vizsgálat szükséges a megbízható eredmények eléréséhez.

4 AMPK

Minden sejt túlélésének fontos feltétele, hogy megfelelő mennyiségű energia álljon a rendelkezésére a különböző sejtfunciók elvégzésére. Az energiaháztartás egyik fontos szabályozója az AMPK enzim. Ez a három alegységből felépülő kináz a célfehérjéinek a foszforilációjával változtatja meg azok enzimatis vagy transzkripciós aktivitását. Az AMPK-t számos hatás aktiválja, például a hipoxia, az ozmotikus stressz vagy a sejt AMP/ATP arányának növekedése. Az AMPK aktiválódása az ATP termelő katabolikus folyamatok stimulációjához és az anabolikus ATP-t felhasználó folyamatok gátlásához vezet. Például a glükoneogenezis és a zsírsavszintézis gátlódik, míg a sejtek glükóz felvétele, és a mitokondriális biogenezis szintje nő. Az elsővonalbeli T2D gyógyszerként alkalmazott metforminról feltételezzük, hogy az AMPK aktiválásán keresztül fejt ki előnyös hatásait. Eredetileg az AMPK hatásának fontosságát csak az egyes sejtek szintjén ismerték fel, de amióta a hypothalamicus étvágy szabályozásban betöltött szerepét is felismerték, úgy tűnik, hogy az egész szervezet energiaellátásának szabályozásában szerepet játszik. Az emelkedett hypothalamicus AMPK aktivitás növekedett étvágyhoz és ezáltal kalória-bevitelhez vezet. Kutatócsoportunk 2003-ban kezdett foglalkozni az AMPK hormonális szabályozásával és a jelen dolgozatban a ghrelin, a kannabinoidok és a glükokortikoidok centrális és perifériás AMPK hatásairól szóló eredményeinket mutatjuk be.

Célkitűzések

1. A ghrelin hatásának a vizsgálata a centrális és perifériás AMPK aktivitásra.
2. A kannabinoidok hatásának a vizsgálata a centrális és perifériás AMPK aktivitásra.
3. A ghrelin és kannabinoidok interakciói.
4. A glükokortikoidok hatásának vizsgálata az AMPK aktivitásra.

4.1 A ghrelin hatása a centrális és perifériás AMPK aktivitásra

A ghrelin jelentősen befolyásolja az étvágyat és a perifériás metabolizmust. Feltételeztük, hogy hatása lehet az AMPK enzimre, és ezt először *in vivo* patkány kísérletben vizsgáltuk intraperitonealis (ip., 100 µg) és intracerebroventricularis (icv., 1 µg) humán ghrelin beadása után egy órával. A szöveteket foszfatázgátló anyagot tartalmazó lízis oldatban homogenizáltuk, majd immunprecipitáltuk α 1- és α 2AMPK-t felismerő ellenanyaggal, így eltávolítva az egyéb kinázokat és foszforilálható fehérjéket. A precipitátumot magnézium, adenzin-monofoszfát (AMP) és 32 P-vel jelölt adenzin-trifoszfát (ATP), valamint célfehérjének használt SAMS peptid jelenlétében inkubáltuk, majd a folyamatot erősen savas közegben leállítottuk. Az oldatot foszfo-cellulóz papírra pipettáztuk, majd ismételt öblítés után a radioaktivitást szcintillációs számlálóban mértük. A duplikát pozitív reakció mellett negatív kontrollként minden mintához SAMS peptidet nem tartalmazó inkubációs oldatot is használtunk. A kináz teszt eredményét foszfospecifikus AMPK antitestet alkalmazó immunoblotting technikával erősítettük meg mind a pAMPK, mind pedig a célmolekula pACC (foszforilált acetyl-CoA karboxiláz) esetében.

Mind az icv., mind az ip. ghrelin szignifikánsan növelte a hypothalamicus AMPK aktivitást [(Kola *et al.*, 2005) 1. ábra A&B, 122. oldal]. A össz-AMPK illetve össz-ACC

szintjéhez normalizált pAMPK és pACC fehérjék mennyisége is emelkedett, míg a dezacil-ghrelinnek nem volt szignifikáns hatása [(Kola *et al.*, 2005) 1. ábra C–G, 122. oldal]. Ezek az eredmények összhangban állnak a ghrelin orexigén hatásával (Andersson *et al.*, 2004; Minokoshi *et al.*, 2004).

A ghrelinnek régóta ismertek a közvetlen szívhatásai, többek között az ischaemia-reperfúziós károsodás csökkentése. A közelmúltban klinikai vizsgálatok azt mutatták, hogy megfelelő analógoknak potenciális szerepe lehet a szívelégtelenség kezelésében (Garcia & Korbonits, 2006). Az AMPK szintén javítja az ischaemiát szenvedett szövet regenerációját, bár egyes vizsgálatok szerint a zsírsavégetés túlzott növekedésének káros hatása is lehet (Dyck & Lopaschuk, 2002). Kísérletünkben ghrelin hatására szignifikáns myocardialis AMPK aktivitás növekedést és emelkedett pAMPK és pACC-szintet észleltünk [(Kola *et al.*, 2005) 3. ábra, 124. oldal], mely magyarázatot adhat a ghrelin kísérletes infarktus során tapasztalt előnyös hatásaira (Chang *et al.*, 2004).

A ghrelin jelentős szerepét a szénhidrát háztartásban számos vizsgálat támasztja alá. Ghrelin adagolása állat- és humán vizsgálatokban romló inzulin-érzékenységhez vezet. A leptin-ghrelin dupla KO egerek ugyan megtartják a leptin-hiányos ob/ob egerekre jellemző kövérséget, de jellegzetes súlyos diabetesüket a ghrelin hiány orvosolja (Sun *et al.*, 2006). Ezek az adatok azt sugallják, hogy a ghrelinnek fontos szerepe van a szénhidrát háztartás szabályozásában. Az AMPK enzim számos a glükoneogenezissel és glikogénszintézissel kapcsolatos fehérjét szabályoz a májban, többek között a foszfoenolpiruvát karboxikináz (PEPCK) enzimet. Eredményeink szerint ghrelin hatására csökken a máj AMPK aktivitása, ami a PEPCK aktiválódásán keresztül magasabb glükoneogenezishez vezet [(Kola *et al.*, 2005) 4. ábra, 125. oldal].

GHS vagy ghrelin adagolás növeli a zsírszövet mennyiségét (Tschöp *et al.*, 2000; Lall *et al.*, 2001). Kísérletünkben ghrelin adagolása során csökkent AMPK aktivitást találtunk a

visceralis zsírszövetben [(Kola et al., 2005) 5. ábra, 125. oldal]. Az AMPK aktiváció gátolja a lipogenezist és stimulálja a lipid oxidációt. Az AMPK gátlása növekvő zsírraktárakhoz vezet, így eredményeink szerint az AMPK gátlása magyarázatul szolgál a ghrelin lipogenikus hatására.

A következőkben GHS-R-KO és vad típusú (VT) egereken végzett kísérleteinkkel arra kerestük a választ, hogy vajon ezek az AMPK hatások a GHS-R receptoron keresztül hatnak-e? Míg 500 µg/kg ip. ghrelin a VT egereken hasonló AMPK eltérést okozott, mint amilyeneket a patkánykísérletben észleltünk, a GHS-R-KO egerekben nem észleltünk AMPK változást egyik szövetben sem [(Kola et al., 2008c) 1B. ábra, 186. oldal és (Kola et al., 2008d)]. Ebből arra a következtetésre jutottunk, hogy a ghrelin a GHS-R receptoron fejti ki az AMPK szabályozó hatását.

4.2 Kannabinoidok hatása a centrális és perifériás AMPK aktivitásra

Az étvágy szabályozást számos hormon és neurotranszmitter befolyásolja, többek között az endokannabinoidok, mint például a 2-arachidonoylglycerol (2-AG) és az anandamid. Ezek a lipid jellegű neurotranszmitterek nem hormonok, hanem helyben – legtöbbször, de nem kizárólagosan, a posztzinaptikus sejtben – szintetizálódó jelátvivő anyagok. Hatásukat a G-fehérjéhez kapcsolt receptor családdhoz tartozó gyakran preszinaptikusan elhelyezkedő CB1 és CB2-receptorokon fejtik ki, majd a posztzinaptikus sejtbe való visszavétel után gyorsan lebomlanak. CB1-KO vagy a CB1 antagonistá rimonabanttal kezelt állatoknak kisebb a táplálékbevitel és a testtömege. Ez a hatás egyrészt a hypothalamusban igen nagy koncentrációban található CB1-receptoron keresztüli orexigén hatásnak köszönhető, másrészt pedig a kannabinoidok közvetlen perifériás hatásainak. A májban és a zsírszövetben a kannabinoidok növelik a zsírsav szintézisét és rontják az inzulinérzékenységet (Osei-Hyiaman

et al., 2005). Fontos hatásai vannak a kannabinoidoknak a szívizomban. Patkány szívinfarktus modellben csökkentik az elhalt terület méretét, így fontos szerepet tulajdonítanak az átmeneti ischaemia során felszabaduló endokannabinoidoknak a myocardium prekondicionálásában (*Kola et al., 2006*).

Feltételeztük, hogy a kannabinoidok befolyásolják az AMPK aktivitását a különböző szövetekben. A fentebb említett patkánykísérletekben kannabinoid agonistákat adagoltunk icv. (50 µg 2-AG) vagy ip. ([2 mg/kg Δ^9 -tetrahydrocannabinol]). A kannabinoid agonisták, a ghrelinhez hasonlóan, növelték a hypothalamicus és myocardialis AMPK aktivitást és gátolták a máj és zsírszövet AMPK aktivitást [(*Kola et al., 2005*) 1–5. ábra, 122–125. oldal]. Ezek az eredmények arra engednek következtetni, hogy az AMPK fontos szerepet játszik a kannabinoidok orexigén, lipogén, diabetogén és kardiális hatásainak kialakulásában.

A kannabinoidok hatásait több receptor is mediálja: a CB1, a CB2, vanilloid-receptorok és egy vagy több további receptor. CB1-KO egerek és a CB1 antagonistá rimonabant segítségével arra kerestük a választ, hogy az AMPK-val kapcsolatos hatásokért melyik receptor a felelős. VT és CB1-KO egereknek ip. 500 µg/kg Δ^9 -tetrahydrocannabinolt adagoltunk. Míg a VT egerek a patkánykísérlethez hasonlóan hypothalamicus és myocardialis AMPK emelkedéssel és máj és zsírszöveti AMPK aktivitás csökkenéssel válaszoltak, addig a CB1-KO egerekben AMPK változást nem észleltünk [(*Kola et al., 2008c*) 1B. ábra, 186. oldal és (*Kola et al., 2008b*)]. Ezek az adatok azt sugallják, hogy a kannabinoidok AMPK hatásait a CB1-receptor mediálja.

4.3 A ghrelin és kannabinoidok interakciói

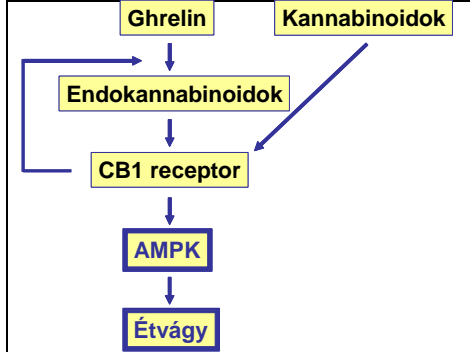
Miután mindkét anyagnak jellegzetes hatása van az étvágyra, és mindkettő receptora nagy számban megtalálható egyes hypothalamus magokban, így feltételeztük, hogy esetleg

interakció van a két rendszer között. A hypothalamus nucleus paraventricularisába adagolt 0,3 µg ghrelin és a 30 perccel korábban ip. adott 1 mg/kg rimonabant vagy fiziológias sóoldat hatását figyeltük az egy órán belüli táplálékfelvétellelre [(Tucci et al., 2004) 2. ábra, 109. old.]. A ghrelin megkétszerezte az állatok táplálékfelvételét, míg rimonabant előkezelés gátolta ezt a hatást. Az 1 mg/kg rimonabant olyan alacsony dózis, hogy önmagában nem változtatta meg a táplálékfelvételt (Tucci et al., 2004). Ezt a kérdést genetikai modellünkön is megvizsgáltuk, ahol VT egerek icv. 1 µg ghrelin hatására közel kétszeresére növelték a táplálékfelvételt, míg a CB1-KO egerek nem reagáltak [(Kola et al., 2008c) 1A. ábra, 186. oldal]. Ez a két kísérlet arra utal, hogy a CB1-receptor blokkolása vagy hiánya gátolja a ghrelin orexigén hatását, és felkeltette érdeklődésünket, hogy részletesebben vizsgáljuk a két rendszer interakcióját nemcsak a táplálékbevitel, hanem az AMPK vonatkozásában is.

VT és CB1-KO egerek ip. 500 µg/kg ghrelin kezelése után a VT állatokban emelkedett az AMPK aktivitás a hypothalamusban, de a CB1-KO egerekben az aktivitás nem változott [(Kola et al., 2008c) 1B. ábra, 186. oldal]. A KO egerekkel végzett kísérletek egyik problémája, hogy az embrionális fejlődés során hiányzó gén következtében esetleg olyan kompenzációs mechanizmusok alakulhatnak ki, amelyek megváltoztatják az állat fiziológiáját és a kísérleti eredmények nem alkalmazhatóak közvetlenül a normális szervezet folyamatainak magyarázatára. Ezért megvizsgáltuk a CB1-receptor szerepét a ghrelin hatásában akut rimonabant kezelés követően. Az állatok a ghrelin beadása előtt 10 perccel 3 mg/kg ip. rimonabantot kaptak. A gyógyszeres receptor blokkolás hasonló eredményt mutatott mint a CB1-KO modell, és megerősítette, hogy a CB1-receptor szignálátvitele szükséges a ghrelin étváagnövelő és AMPK stimuláló hatásához [(Kola et al., 2008c) 1B. ábra, 186. oldal].

Korábbi vizsgálatok kimutatták, hogy az endogén hypothalamicus kannabinoidszint emelkedett éhezõ állatban és gyorsan csökkent az evés folyamán (Kirkham et al., 2002), azt

sugallva, hogy szerepe van az éhség és jóllakottság szabályozásában. Hypothalamus szövet homogenizálása és kloroformos kivonása után Prof. Kunos laboratóriumával kollaborációban, megmértük az endogén kannabinoidszintet a folyadékkromatográfiás/tömeg spektrofotometriás technikával. VT állatokban a ghrelin növelte az endokannabinoid 2-AG szöveti szintjét [(Kola et al., 2008c) 1C. ábra, 186. oldal]. Ez azt jelezheti, hogy a ghrelin endokannabinoidszint emelkedéshez vezet – vagy a növekvő szintézis vagy a csökkent lebontás útján –, és ez okozhatja az orexigén és AMPK-t aktiváló hatást, és egyben megmagyarázza, miért elengedhetetlen a ghrelin hatásához az ép CB1-receptor. A várakozással ellentétben azonban a CB1-KO és a rimonabanttal kezelt VT állatokban nem volt szöveti kannabinoidszint emelkedés. Ennek magyarázata az lehet, hogy a CB1-receptorra szükség van a megfelelő mennyiségű endokannabinoid képződéséhez, azaz egy pozitív visszacsatolás áll fenn. Ezt a hipotézist alátámasztja egy közelmúltban megjelent közlemény a hypothalamicus CB1 által mediált endokannabinoid szintézis szabályozásról (Bequet et al., 2007). A ghrelin tehát nem serkenti az étvágyat, és nem emeli a hypothalamicus AMPK aktivitást rimonabanttal kezelt vagy CB1 hiányos állatokban. Dr. Fekete és munkacsoportja ezeket az adatokat alátámasztó eredményeket talált nucleus paraventricularis sejteken végzett elektrofiziológiai vizsgálatokban [(Kola et al., 2008c) 2. és 3. ábra, 187–188. oldal]. A ghrelin és a kannabinoidok hatásmechanizmusával kapcsolatos hipotézisünket a **2.1 ábra** szemlélteti.



2.1 ábra A ghrelin serkenti a szöveti kannabinoidok szintézisét, mely a CB1-receptor aktiválódásán keresztül AMPK aktiválódáshoz és ennek következtében étváagnövekedéshez vezet.

4.4 A glükokortikoidok hatása az AMPK aktivitásra

A glükokortikoidok (GC) rendkívül fontos szerepet játszanak a metabolizmus, az immunválasz, a kardiovaszkuláris és a központi idegrendszeri funkciók

szabályozásában. Ha túlságosan magas a vérben a GC aktivitás – például endogén Cushing-szindrómában, vagy gyógyszeres GC kezelés során –, akkor a széleskörű hatásoknak megfelelően, számos súlyos szövödmény alakulhat ki. Kutatócsoportunk a GC-ok és az AMPK hatásaiban több párhuzamot vélt felfedezni, ezért az a hipotézis merült fel, hogy a GC-ok befolyásolják az AMPK aktivitását.

Állatokban a Cushing-szindróma egyes tünetei jelentősen különböznek a humán betegségtől, ezért nem egyszerű feladat metabolikus szempontból megfelelő állatmodellt felállítani. Mi a Dallman és munkatársai által leírt patkány modellt követtük (*Bell et al., 2000*), amely szerint a beültetett kortikoszteron (100 mg) mellett 30%-os szacharóz-oldatot is adunk a mellékvese-irtott állatoknak, hogy az emelkedett szénhidrát bevitel ellensúlyozza a nagydózisú GC-ok katabolikus hatását. Kontrollként két ál-operált placebo-beültetett csoportot alkalmaztunk: egy fiziológiás sóoldatot ivó (NaCl) és egy szacharóz kiegészítést kapó (Sucr) állatokcsoportot. Két héttel a beültetés után az állatok plazma és szövetmintáiból biokémiai paramétereket, hormonszinteket, szöveti endokannabinoid tartalmat, valamint fehérje, mRNS és AMPK aktivitási méréseket végeztünk. Az emelkedett kortikoszteron, alacsony ACTH, magas koleszterin-, triglicerid-, inzulin- és leptinszintek, valamint a megnövekedett visceralis zsírszövet tömege bizonyította, hogy a Cushing-szindróma legtöbb jele kialakult [(*Christ-Crain et al., 2008*) 1. ábra, 164. oldal]. A Cushing-szindrómás állatokban a visceralis zsírszövet AMPK aktivitása szignifikánsan alacsonyabb volt, mint a

Sucr vagy NaCl csoportba tartozó állatoké [(Christ-Crain et al., 2008) 2. ábra, 166. oldal]. Az AMPK által gátolt gének (PEPCK, hormon szenzitív lipáz, a zsírsav-szintetáz és a sterol regulatory element-binding protein-1) expressziója is növekedett, és ezek a változások magyarázhatják a GC-ok hatásra kialakuló visceralis zsírtömeg növekedést, bár a GC-receptorok AMPK-től független közvetlen hatását is figyelembe kell venni. Elsődleges humán mesenchyma sejtekből származó zsírsejt kultúrán *in vitro* körülmények között is vizsgáltuk a GC-ok hatását, és itt is megfigyelhető volt az AMPK aktivitás csökkenése [(Christ-Crain et al., 2008) 2H. ábra, 166. oldal].

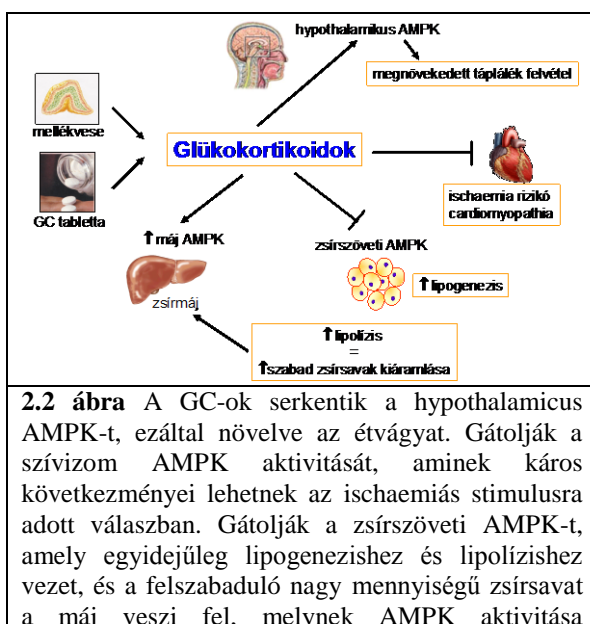
A zsírszövethez hasonlóan a myocardium AMPK aktivitása is csökkent [(Christ-Crain et al., 2008) 5. ábra, 168. oldal]. Ennek egyrészt szerepe lehet a hyperlipidaemia és a magas vérnyomás miatt már amúgy is fokozott atherosclerosis által okozott ischaemiára adott válaszban, másrészt a Cushing-szindrómás betegek jellegzetes cardiomyopathiájában. Miután a betegség kardiovaszkuláris halálozása igen magas, az AMPK gátlás szívhatásai különösen jelentősek lehetnek.

A máj erős zsírfelhalmozással reagált a hypercorticosteroemia-ra, és a zsírsav-szintetáz expressziója is megnövekedett. Várakozásainkkal ellentétben azonban a májszövet AMPK aktivitása nem csökkent, hanem emelkedett [(Christ-Crain et al., 2008) 3. ábra, 167. oldal]. Ezt a paradox jelenséget azzal magyarázzuk, hogy a vérben nagy mennyiségben keringő szabad zsírsav a májba került, és közvetve ez aktiválja az AMPK enzimet.

A Cushing-szindrómás betegek étvágya jellegzetesen megnövekedett, és feltételeztük, hogy a GC-ok serkentik a hypothalamicus AMPK aktivitást. Valóban: mind az *in vivo* vizsgálatból származó hypothalamus szöveten, mind pedig *in vitro* embrionális patkány hypothalamusból származó primer sejtenyészetben kimutattuk az AMPK aktivitás növekedését [(Christ-Crain et al., 2008) 4A&C. ábra, 167. oldal]. Korábbi *in vitro* vizsgálatok nucleus paraventricularisból származó hypothalamus sejtekkel kimutatták, hogy a GC-ok

serkentik az endogén kannabinoidok felszabadulását. Mi most *in vivo* környezetben mutattuk ki ugyanezt a hatást [(Christ-Crain et al., 2008) 4B. ábra, 167. oldal], ami megmagyarázhatja a GC-ok orexigén hatását.

Korábban említettem, hogy a metformin az AMPK aktiválásán keresztül fejti ki a hatását a májban, míg a hypothalamusban az AMPK aktivitás csökkenést okoz (Chau-Van et al., 2007), tehát hatásai pontosan ellentétesek a GC-okéval. Az alábbi kísérletben azt vizsgáltuk, hogy vajon a metformin meg tudja-e akadályozni a GC-ok által okozott AMPK aktivitás változást. A sejtkultúra vizsgálatok szerint metformin kezeléssel megakadályozhatjuk az 1 μ M dexamethason hypothalamus sejtenyészetben mutatkozó AMPK aktiváló hatását, illetve a zsírsejtenyészetben mutatkozó AMPK gátló hatását [(Christ-Crain et al., 2008) 4D&2I. ábra, 167 és 166. oldal]. Előzetes adataink szerint a metforminnal kezelt patkányok szövetében a metformin megakadályozta a GC-ok AMPK aktivitást befolyásoló hatását (Kola & Korbonits, nem publikált adatok).



sejtkultúra eredmények azonban nem feltétlenül érvényesek humán vonatkozásban. Ezért periadrenalis zsírszövetmintákat gyűjtöttünk olyan betegekből, akik mellékvese tumor műtéten estek át. Tizenegy Cushing-szindrómás beteg és kilenc kor, nem és testsúly adatokra egyeztetett mellékvese incidentalomás beteg (véletlenszerűen talált mellékvese tumoros betegek, akiknek nincsenek hormontermeléssel kapcsolatos klinikai tüneteik, bár biokémiai tesztekkel hiperszekrécióra utaló eltérések néha találhatóak), valamint négy nem endokrin betegségben szenvedő beteg mintáinak AMPK aktivitását hasonlítottuk össze. Igen jelentős különbségeket találtunk: a Cushing-szindrómás betegek zsírszövetmintájának AMPK aktivitása alig negyede volt az incidentalomás ($0,08 \pm 0,03$ vs. $0,3 \pm 0,07$ nmol/min/mg, $P=0,007$) és 15-a a kontroll betegek értékeinek ($0,08 \pm 0,03$ vs. $0,56 \pm 0,1$ nmol/min/mg, $P<0,001$) [(Kola *et al.*, 2008a) 1A. ábra, 249. oldal]. Az AMPK aktivitás negatív módon korrelált a kortizol túlsúly mértékével (vizelet szabad kortizol és reggeli szérum kortizol) [(Kola *et al.*, 2008a) 1B&C. ábra, 249. oldal]. Ezek az adatok tehát egy új magyarázatot adnak a GC-ok által kifejtett metabolikus hatások mechanizmusára. A GC-ok AMPK-val kapcsolatos hatásait a **2.2 ábrán** foglaltuk össze.

5 HYPOPHYSIS TUMORGENEZIS

Autopsziás és MRI vizsgálatok szerint az agyalapi mirigy adenomája rendkívül gyakori, prevalenciája az átlagos lakosságban akár 20–25% is lehet. Ezen esetek legnagyobb részének ugyan nincs klinikai jelentősége, de legújabb gondos vizsgálatok szerint a normál lakosságban 1000 főre esik egy klinikailag is jelentős hypophysis adenoma (Daly *et al.*, 2006). A tüneteket mutató betegek komplex kezelésre, és legtöbbször egész életen át tartó endokrin gondozásra

szorulnak. A hypophysis adenomák főbb típusai a következők: prolaktin-termelő laktotrop adenoma, GH-termelő szomatotrop adenoma, ACTH-termelő kortikotrop adenoma és hormont klinikailag nem termelő nem funkcionáló adenoma (NFPA), amely gyakran gonadotrop sejt eredetű. A hypophysis tumorok legtöbbször sporadikus betegségként fordulnak elő, néha azonban öröklődő szindróma részét képezhetik. Az agyalapi mirigy adenomái – néhány ritka kivételtől eltekintve – szövettani szempontból benignus daganatok, és feltehetőleg a Hanahan & Weinberger szerinti többlépcsős karcinogenezis folyamat kezdeti stádiumát képviselik (*Hanahan & Weinberg, 2000*). Három alapvető teória létezik a hypophysis tumorok patogenezisével kapcsolatban: 1) hormonális (rendszerint hypothalamicus faktorok által kiváltott) túlstimuláció vagy gátláshiány játszik elsődleges szerepet, 2) a növekedési faktorok túltermelése okozza a tumorokat, vagy 3) a szövet molekuláris defektusa miatt alakulnak ki az adenomák. Az agyalapi tumorokkal kapcsolatos munkásságom mindhárom teóriával kapcsolatos kutatásokra kiterjedt. A következő célkitűzések első három pontjáról csak összefoglalólag írok, míg a nemrégiben felismert familiáris izolált agyalapi tumort okozó AIP génnel kapcsolatos vizsgálati eredményeinket részletesebben fejtem ki.

Célkitűzések

1. Hypophysis tumorok gén- és fehérje-expressziós feldolgozása.
2. Hormonális feedback szerepe a hypophysis tumorgenezisében.
3. Sejtciklus és jelátviteli fehérjék szerepe a hypophysis tumorgenezisében.
4. Öröklődő hypophysis tumorokat okozó gének szerepe a sporadikus hypophysis adenomák tumorgenezisében.
5. Az AIP szerepe a familiáris izolált hypophysis adenomákban.

5.1 Hypophysis tumorok gén és fehérje expressziós feldolgozása

A szöveti array technikák az elmúlt időszakban igen széles teret nyertek a biológiai kutatások valamennyi területén. Munkáink során először az Affymetrix cég 14500 gént magába foglaló microarray kitjét alkalmaztuk a négy fő hypophysis tumor mRNS expresszióinak vizsgálatára (Morris *et al.*, 2005), majd néhány évvel később a BD Bioscience cég fehérje array-ét, amely 1005 ellenanyagot használ fel két-dimenziós immunoblotting vizsgálatra (Ribeiro-Oliveira *et al.*, 2008). Az ilyen típusú vizsgálatból nyert adatok sokszor nem várt jelölt (candidate) gének, illetve fehérjék kimutatásához vezetnek. Rendkívül fontos eleme a vizsgálatnak azonban az, hogy az array adatait más, konvencionális módszerekkel ellenőrizzük. Így például a microarray-ből kiválasztott transzkriptek expresszióját real-time PCR reakcióval is vizsgáltuk, míg a fehérje array adatait konvencionális immunoblottinggal és szöveti immunfestéssel is ellenőriztük (Morris *et al.*, 2005; Ribeiro-Oliveira *et al.*, 2008). A microarray és a fehérje array vizsgálatban legígéretesebbnek tűnő géneket az **1. táblázatban** összegeztem. A kulcskérdés azonban az, hogy vajon ezek a gének elsődleges szerepet játszanak-e a tumorgenezisben, vagy csak másodlagosan változik-e a szintjük? Erre a kérdésre az array vizsgálatok nem adnak választ, de felhívják a figyelmet új mechanizmusokra és esetleges kiaknázatlan terápiás útvonalakra.

1. táblázat: Az mRNS és fehérje array technikával talált legígéretesebb gének

Név	Jellemző	Talált eltérés	Teszt
lysosomal-associated protein transmembrane-4-b	hepatocelluláris karcinómákban túlexpresszált fehérje	magasabb expresszió ACTH-termelő adenomában és NFPA-ben	microarray
Bcl-2-associated athanogene	anti-apoptózis protein	emelkedett expresszió GH-, prolaktin és nem funkcionáló adenomákban	microarray

cyclin-függő kináz gátló p18	p18 hiányában ACTH-termelő tumor lép fel egerekben	alacsony expresszió ACTH-termelő adenomában	microarray
hősokk protein 110	molekuláris kísérő (chaperone)	magasabb expresszió valamennyi adenoma típusban	fehérje array
B2 bradykinin-receptor	a prolaktin szekréciót szabályozza	magasabb expresszió valamennyi adenoma típusban	fehérje array
C-terminal Src kináz	onkogén enzimek gátlója	alacsony expresszió valamennyi adenoma típusban	fehérje array
annexin II	kalcium-függő kötőfehérje	alacsony expresszió valamennyi adenoma típusban	fehérje array

5.2 A hormonális feedback szerepe a hypophysis tumorgenezisében

Túlzottan magas stimuláló hormonszintek hypophysis sejtszám- és méret-növekedéshez vezethetnek, mint például terhességben a laktotrop sejtek, hypothyreoidismusban a TSH sejtek, Addison-kórban a kortikotrop sejtek és a GH serkentő hormon (GHRH) termelő tumoroknál a szomatotrop sejtek. Míg állatmodellben ilyen esetekben valódi adenoma is kialakulhat, emberben ez nem jellemző. Laboratóriumunkban számos hormonális faktor szerepét vizsgáltuk, mint például a GH-receptor, az IGF-I-receptor (*Kola et al., 2003*), az ACTH-receptor (*Morris et al., 2003*), a leptin (*Korbonits et al., 2001c*) és a peroxisome proliferátorral aktivált receptor (PPAR) γ -receptor (*Emery et al., 2006*), valamint a kortizol prereceptor metabolizmusában szerepet játszó 11 β -hydroxysteroid-dehydrogenáz-1 és -2 szerepét (*Korbonits et al., 2001a*). A hypophysis adenomák monoklonális eredete alapján nem valószínűsíthető, hogy hypothalamicus faktorok indítanak el a hypophysis sejtek transzformációját. Adatainkból azonban azt a következtetést vontuk le, hogy túlstimulált hypophysis sejtekben nagyobb eséllyel alakulhat ki tumort okozó mutáció, és az ilyen környezet elősegítheti a már mutált sejt növekedését.

5.3 Sejtciklus és jelátviteli fehérjék szerepe a hypophysis tumorgenezisében

A sejtciklus G₁ fázisát szabályozó gének közül háromnak – retinoblastoma, p27 és p18 – is a hiánya hypophysis tumor kialakulásához vezet. Ez arra ösztönzött minket, hogy humán hypophysis tumorokban részletesebben vizsgáljuk a sejtciklust közvetlenül vagy közvetve befolyásoló géneket, többek között a p27 (*Lidhar et al., 1999; Korbonits et al., 2002a; Hubina et al., 2006*), a cyclin-függő kináz 4 (*Vax et al., 2003a*), a cyclin D (*Jordan et al., 2000*), a macrophage migration inhibitory factor (*Pyle et al., 2003*), a Krüppel-like transcription factor 6 (*Vax et al., 2003b*), az S-phase kinase-interacting protein 2 (*Musat et al., 2002*), a protein kináz B/Akt (*Musat et al., 2005*) és a BRAF (*Ewing et al., 2007*) fehérjéket. Ezek közül a p27-tel kapcsolatos munkákat emelném ki, ahol kettős immunfestés segítségével leírtuk, hogy valamennyi típusú hypophysis adenoma csökkent p27 fehérje expressziót mutat, különösen a ACTH-termelő tumorok és az igen ritka hypophysis karcinómák (*Lidhar et al., 1999*). A p27 szintjének regulációja a fehérje lebomlás szabályozásán keresztül zajlik: a p27 Thr187 foszforilálódás után kilép a sejtmagból, és az ubiquitin-ligáz enzimkomplex ubiquitin molekulákat köt a p27 fehérjére, mely ezután gyors lebontásra kerül a proteozómában. Humán adenomákban foszfospecifikus ellenanyaggal végzett immunfestéssel emelkedett foszfo-Thr187 p27-szintet találtunk (*Korbonits et al., 2002a*). Fontos szerepet játszanak a szomatosztatin analógok a hypophysis adenomák kezelésében. Humán adenoma szövet *in vitro* szomatosztatin analóg octreotide és paseriotide (SOM230) kezelése során p27-szint növekedést és foszfo-ERK1/2-szint csökkenést tapasztaltunk [(*Hubina et al., 2006*) 3.&4. ábra, 141-142. oldal]. *In vivo* vizsgálat során szintén változást észleltünk p27 fehérje expresszióban octreotiddal kezelt betegek és kezeletlen betegek tumormintáiban [(*Hubina et*

al., 2006) 5. ábra, 142. oldal]. Ezek az eredmények a szomatosztatin analógok egy korábban nem ismert, új hatásmechanizmusára engednek következtetni.

5.4 Öröklődő hypophysis adenomákat okozó gének szerepe a sporadikus adenomák tumorigenezisében

A hypophysis adenomák túlnyomó többsége sporadikusan fordul elő, a legutóbbi adatok a genetikusan eredetű adenomákat mintegy 5%-ra becsülik. Külön kell megemlíteni a McCune-Albright-szindrómában előforduló szomatotrop hiperpláziát – ritkán valódi adenomát –, mert ez a betegség genetikusan eredetű, de nem öröklődik. A G_s protein α alegység génjének (*GNAS1*, az úgynevezett *gsp* onkogén) az embrionális fejlődés igen korai szakaszában fellépett mutációja okozza a betegséget, amelynek számos és igen változatos tünete közül az egyik a GHRH-receptorhoz tartozó G_s fehérje állandó aktivitása és ebből adódóan a szomatotrop sejtek proliferációja, illetve adenomája. A *GNAS1* gén a 20q13 kromoszómán helyezkedik el és egyike a szövet-specifikusan imprinted géneknek. Kutatócsoportunk résztvevője volt annak a kollaborációs munkának, amely felismerte, hogy normális hypophysisben a *GNAS1* maternálisan expresszálódik, és ugyan a tumorokban az imprinting gyakran relaxálódik, a sporadikus szomatotrop adenomák 30–40%-ban jellegzetesen előforduló *gsp* mutáció legnagyobb részben a maternális kromoszómán történik (*Hayward et al., 2001*).

Öröklődő agyalapi mirigy betegséget négy ismert gén mutációja okozhat: a protein kináz A (PKA) regulációs alegységet kódoló *PRKARIA* gén, az 1-es típusú multiplex endokrin neopláziát (MEN1) okozó két gén, az *MEN1* és a *CDKN1B* (p27) gén valamint az izolált familiáris hypophysis adenomát (FIPA) okozó *AIP* (aryl hydrocarbon-interacting protein) gén. Feltételeztük, hogy ezeknek a géneknek szerepük lehet a sporadikus hypophysis adenomák kialakulásában is.

PRKARIA – A Carney-komplex betegség fibrosus dysplasia, cafe au lait foltokkal és különböző endokrin abnormalitásokkal, mint például korai pubertással, hyperthyreosissal, mellékvese hiperpláziával és az esetek 70%-ban szomatotrop hiperpláziával. Az betegek 10%-ában valódi GH-termelő adenoma alakul ki. A betegséget okozó gén az esetek közel 60%-ában a 17q22-24 területen elhelyezkedő *PRKARIA* mutációja okozza, míg az esetek másik 40%-ában betegséget okozó – eddig ismeretlen – gén a 2p16 területre lokalizálódik. Munkánkban azt vizsgáltuk, hogy van-e szerepe a *PRKARIA* gén eltéréseinek illetve abnormális expressziójának a sporadikus szomatotrop tumorok patogenezisében. Tizenhét GH-termelő és 17 más típusú adenomát szekvenáltunk. Nem találtunk mutációs eltérést az exonokban és az exon-intron találkozási területeken (*Kaltsas et al., 2002*). Az mRNA expresszió vizsgálatnál cycloheximiddal kezelt mutáns limfocitákból előállított RNS-t használtunk kontrollként, hogy az esetleges mutáció következményeként kialakuló „nonsense mediated decay” jelenség ne zavarja meg az eredményeket. Nem volt szignifikáns eltérés a PKA expressziójában, ezért azt a következtetést vontuk le, hogy a PKA eltérései nem játszanak jelentős szerepet a sporadikus hypophysis adenomák tumorigenezisében.

MEN1 és **CDKN1B** – Öröklődő agyalapi mirigy tumorok az MEN1 szindróma részeként jelentkezhetnek. A szindrómát a betegek közel 80%-ában a menin tumor szupresszor fehérje génjének a mutációja okozza. A sporadikus hypophysis tumorokban játszott esetleges szerepének tisztázására mRNA expressziós vizsgálatot végeztünk. Nem találtunk eltérést a *MEN1* gén expressziójában (*Satta et al., 1999*). A közelmúltban egy természetben előforduló mutáns patkánytörzset vizsgáltak, amelynek fenotípusában mind az MEN1, mind az MEN2 betegségre jellemző tumorok előfordultak. A hibás génnek a már korábban említett p27 bizonyult (*CDKN1B*). Két olyan beteget is leírtak, akiknek *MEN1* mutáció negatív MEN1-szindrómájuk volt és a *CDKN1B* génben eltérés volt tapasztalható (*Pellegata et al., 2006; Georgitsi et al., 2007*). Kutatócsoportunk 18 sporadikus és három

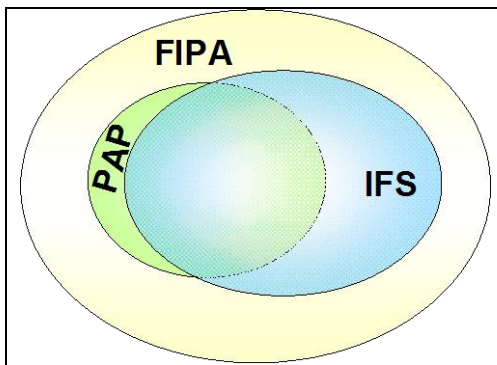
familiáris MEN1-szindrómás betegben szekvenálta a *CDKN1B* gént és nem talált egyetlenegy mutációt sem (Igreja et al., 2008). Saját vizsgálatunkból és két közelmúltban közölt másik publikációból összesen 87 sporadikus és 37 familiáris eset adatai ismertek (Ozawa et al., 2007; Igreja et al., 2008; Owens et al., 2008), és ezek alapján kijelenthetjük, hogy a p27 mutáció *MEN1* mutáció-negatív MEN1-szindrómás betegekben rendkívül ritka.

AIP – A FIPA patomechanizmusában fontos szerepet játszik az AIP gén mutációja. A FIPA esetek mintegy 30%-ában található eltérés ebben a génben. A következő fejezetben részletesen beszámolok az familiáris esetekkel kapcsolatos munkánkról, de a gén esetleges mutációjának és expressziójának szerepét a sporadikus hypophysis adenomákban is vizsgáltuk. Hét gyerekkorban fellépő acromegaliás (gigantismus) és 30 felnőttkori acromegaliás esetet vizsgáltunk genomiális (gDNS) eltérésre és 48 hypophysis adenomából kivont komplementáris DNS (cDNS) szomatikus AIP szekvencia eltérésre. AIP mutációt nem találtunk. Más kutatócsoportok is vizsgálták az AIP szekvenciáját sporadikus betegekben, és szomatikus mutációt (ahol a mutáció a tumorban alakult ki és a csíravonal DNS nem tartalmazza) nem közöltek, míg gDNS eltérést a vizsgált 1100 esetből 24 esetben írtak le. Valamennyi esetben azonban az egyik szülő is hordozta az eltérést, ami arra utal, hogy ezekben az esetekben is öröklődő a mutáció, és a betegség alacsony penetranciája vagy a hiányzó genealógiai adatok miatt tűnik a beteg sporadikus esetnek (Chahal et al., 2008). Real-time PCR módszerrel vizsgáltuk az AIP mRNS expresszióját és normális vagy emelkedett szintet láttunk a különböző adenomákban [(Leontiou et al., 2008) 4A. ábra, 199. oldal és Kiegészítő 1. ábra, 215. oldal]. Immunfestés során igen különleges megfigyelést tettünk: a normális hypophysisben kettős immunofluorescens festéssel csak a GH és prolaktin sejtekben fedeztünk fel AIP pozitivitást [(Leontiou et al., 2008) 2. és 4. ábra, 197 és 199. oldal]. Ezzel megegyezően, mind a sporadikus, mind a vizsgált familiáris esetek szomatotrop adenomáiban (AIP mutációval vagy anélkül) kimutattuk az AIP fehérjét. Szemben a normális ACTH és

gonadotrop sejtekkel, a sporadikus kortikotrop adenomák és NFPA-k szintén expresszálták az AIP fehérjét [(Leontiou et al., 2008) 2. és 4. ábra, 197 és 199. oldal]. E két utóbbi adenoma típusban a szubcelluláris lokalizáció megváltozott. Míg az immunelektromikroszkópos vizsgálat során a normális sejtekben AIP festődést a szekréción vezikulumban találtunk, addig a tumorokban az AIP a citoplazmában szabadon volt megtalálható [(Leontiou et al., 2008) 5. és 6. ábra, 200. oldal]. Ezekre az egyedülálló megfigyelésekre egyelőre nincsen megfelelő magyarázatunk, de az bizonyos, hogy az AIP hiánya nem játszik szerepet a sporadikus hypophysis adenomák kialakulásában.

5.5 Az AIP szerepe a familiáris izolált hypophysis adenomákban

Már a XIX. században leírtak gigantismusban szenvedő testvérpárokat, de az izolált familiáris szomatotrop adenomás betegeknek első orvosi leírása csak 1974-re tehető. Prof. Frohman munkacsoportja a 11q13 kromoszómán, a MEN1 lokusztól elkülönülő elhelyezkedésben adta meg a lehetséges gén lokációját (Soares et al., 2005) – ebben a vizsgálatban többek között a mi kutatócsoportunk által követett egyik családot is felhasználták –, de az AIP gént végül egy finn kutatócsoport lokalizálta (Vierimaa et al., 2006). Az AIP tumorszuppresszor génként viselkedik, és az érintett egyedek heterozigóta formában hordozzák az eltérést. A Knudson hipotézisnek megfelelően a betegek egy normális és egy mutáns gént örökölnek, és mivel a tumorszövetben a normális gén a szomatikus mutáció miatt elveszik, így csak a mutáns, funkcionális sérült AIP kópia expresszálódhat. A betegségnek több elnevezése is kialakult, tapasztalataink és az elérhető adatok tükrében az **3.1 ábrán** látható feloszlást tartjuk megfelelőnek.

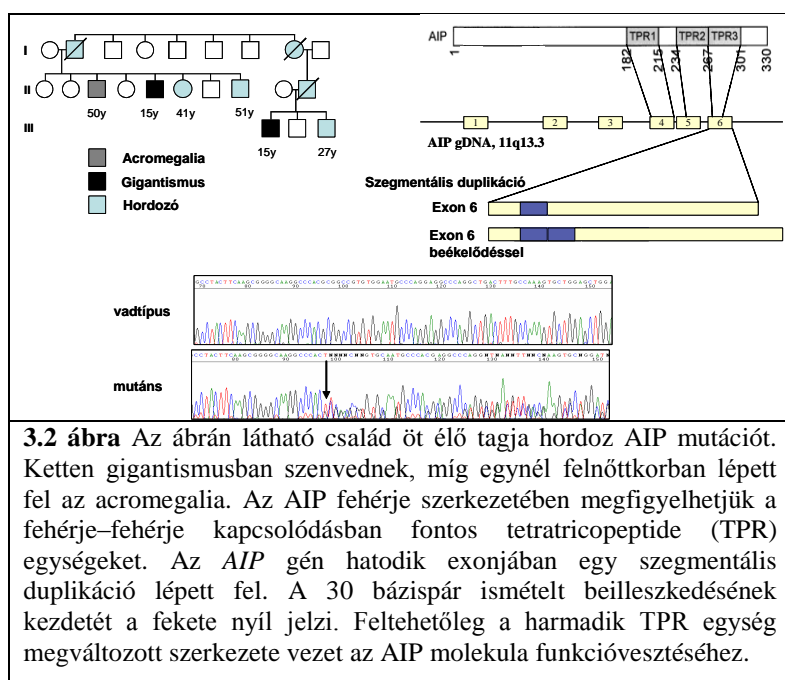


3.1 ábra Valamennyi izolált familiáris hypophysis adenomában szenvedő beteget a FIPA csoportba soroljuk. Ezen belül, azok a betegek, akikben AIP mutáció található, a hypophysis adenoma prediszpozíció (PAP) csoportba tartoznak. Valamennyi AIP mutációval rendelkező beteg esetében, így a látszólag sporadikus betegknél is, a szülői DNS-ben a mutáció megtalálható volt, tehát nem helytelen ezeket a betegeket is a FIPA csoportba osztani. Azok a családok, ahol az összes érintett betegnek acromegáliája volt, az IFS (izolált familiáris szomatotropinoma) csoportba oszthatók. Az eddigi adatok szerint az IFS betegek mintegy felének van AIP mutációja, a FIPA betegek ~30%-ának van AIP mutációja és a PAP betegek 87%-ának van IFS-je.

Kutatócsoportunk számos, a világ legkülönbözőbb országaiból származó, kitűnő kollaborátor segítségével egy rendkívül nagy FIPA családokból illetve gigantismusban szenvedő betegekből álló kohortot gyűjtött össze, és abban az izgalmas helyzetben van, hogy az elsők között vizsgálhatja ennek az „új” betegségnek a klinikai és genetikai jellemzőit, illetve a háttérben álló gén(ek) tulajdonságait. A 35 családból tizenegy esetben találtunk AIP mutációt [(Leontiou et al., 2008) és Chahal & Korbonits, nem publikált megfigyelés] ezek közül 7 korábban nem ismert mutáció volt, többek között az első promoter mutáció [(Leontiou et al., 2008) 1. táblázat, 194. oldal és „Kiegészítő adatok” 1.

ábra, 214. oldal]. A **3.2 ábrán** az egyik FIPA család mutációja és családfája látható. Az AIP 304-es aminosavját kódoló triplet négy családnál is az érintett. Szokatlan módon két különböző bázis mutációját figyeltük meg, két családban a R304X, c.910C>T mutáció van jelen, míg a másik kettőben a R304Q, c.911G>A mutáció. Miután a négy család nincs rokoni kapcsolatban egymással és ezeket az eltéréseket még három másik családban is leírták, ezt a régiót mutációs forró pontnak (hotspotnak) minősíthetjük. Egy másik általunk megfigyelt jellemzője az AIP mutációknak az, hogy az összes aminosavcsere (missense) mutáció a fehérje C-terminális szakaszát érinti, míg a fehérje struktúráját súlyosan károsító mutációk a gén teljes hosszában megtalálhatók. Ez arra enged következtetni, hogy az AIP fehérje C-terminális végének fontos szerepe van az AIP funkciójában. A betegség penetranciája alacsony, a legmegbízhatóbb adatok szerint a hordozó egyének mintegy 30–40%-ában

alakulnak ki a tünetek. A klinikai jellemzők eltérnek a sporadikus és az AIP mutációval nem rendelkező betegek fenotípusától. A betegség fiatalabb életkorban, gyakran gyermekkorban kezdődik, és a tumorok rendszerint agresszívan viselkedő macroadenomák, melyek többnyire nem reagálnak szomatostatin analóg kezelésre.



Kíváncsiak voltunk, hogy vajon a betegekben talált mutációk megváltoztatják-e az AIP fehérje tulajdonságait, ezért az aminosav sorrend célzott megváltoztatásával létrehozott mutáns AIP fehérjével végeztünk funkcionális vizsgálatokat. Az AIP gén szekvenciáját tartalmazó pCI-neoAIP-FLAG

vagy pCI-neoAIP-myc plazmidba hely-specifikus (site-directed) mutagenézis segítségével hét különböző mutációt ültettünk. A mutáns plazmidokat transzfekció vagy retrovírus segítségével humán fibroblaszt eredetű (HEK293 és TIG3), illetve patkány szomatomammotrop (GH3) sejtvonalba juttattuk és követtük a sejtek proliferációját. A VT AIP mindegyik esetben csökkentette a sejtproliferációt [(Leontiou et al., 2008) 1A, B és C. ábra, 196 oldal], ami összhangban van a klinikai adatok alapján feltételezett tumor szupressziós tulajdonságával. A mutációt tartalmazó plazmidok azonban nem változtatták meg a sejtproliferációt, és ennek a tulajdonságnak az elvesztése magyarázatot adhat a tumor kialakulására.

Az általunk leírt mutációk az AIP fehérje egy másik tulajdonságát is megváltoztatják. Az AIP számos proteinnel képes kapcsolódni, ezek közül az egyik a foszfodieszteráz-4A5, mely a

cAMP lebontását végző enzimcsalád egyik tagja. Dr. Bolgerrel kollaborációban kimutattuk, hogy a foszfodieszteráz-4A5–AIP interakció is károsodik mutáns AIP molekulák esetében [(Leontiou *et al.*, 2008) 1D. ábra, 196. oldal]. Miután a cAMP jelátvivő rendszerének fontos szerepe van a szomatotrop sejtek működésében és tumorgenezisében (l. gsp mutáció, McCune-Albright-szindróma és Carney-komplex), feltételezhető, hogy az AIP–foszfodieszteráz interakciónak meghatározó szerepe lehet az AIP hiánya miatt fellépő agyalapi mirigy tumorgenezisben.

6 A LEGFONTOSABB ÚJ EREDMÉNYEK ÖSSZEFOGLALÁSA

- 1.** A ghrelinnek és a GHS-R1b-nek rendkívül széles szöveti eloszlása van, míg a GHS-R1a expressziója csak néhány szövetben mutatható ki.
- 2.** A GHS-R1a változatos expressziót mutat a különböző típusú agyalapi mirigy tumorokban.
- 3.** A GHS-R ismételt stimulus hatására deszenzitizálódik.
- 4.** A ghrelin serkenti a hypophysis sejtek proliferációját.
- 5.** PWS betegeknek magasabb az éhgyomri ghrelin szintje, amely normálisan csökken táplálékbevitel után. A magas ghrelinszint csak részben magyarázható a viszonylag alacsony visceralis zsírszövet-tartalommal vagy a megtartott inzulin-érzékenységgel.
- 6.** A craniopharyngeomás, hypothalamus-sérült betegeknek alacsony ghrelinszintje van, tehát a hypothalamus sérülés önmagában nem vezet magas ghrelinszinthez.
- 7.** Extrém hosszú teljes éhezés alacsony ghrelinszintet okoz. Körültekintő lassú feltáplálás során is ügyelni kell a folyadék- és sóháztartás eltéréseinek potenciálisan súlyos szövődményeire.
- 8.** Annak ellenére, hogy a ghrelin és a GHS-R ígéretes funkcionális jelölt géneknek tűntek a testsúly és a testmagasság szabályozására, valamint a 2-es típusú diabetes kialakulására, számos felnőtt és gyermekpopulációt magába foglaló vizsgálatunk során nem találtunk ismételten megerősíthető szignifikáns kapcsolatot a ghrelin és GHS-R gén variációkkal.
- 9.** A ghrelin és a kannabinoidok szövetspecifikusan szabályozzák az AMPK aktivitását.
- 10.** A ghrelin étvágyserkentő és AMPK-szabályozó hatásaihoz szükség van működő CB1-receptorra.
- 11.** A ghrelin szöveti kannabinoidszint emelkedéshez vezet.
- 12.** Felvetjük egy ghrelin → endokannabinoid → CB1 → AMPK → étvágy tengely létezését.
- 13.** A GC-ok szövetspecifikusan szabályozzák az AMPK aktivitását.

14. A GC-ok emelik a hypothalamusban a szöveti endokannabinoid szintet, ami a CB1-receptorok aktiválásán keresztül étváagnövekedéshez vezethet.
15. A metformin kezelés megakadályozza a GC-ok AMPK hatásait.
16. Az RNS és fehérje array technikák nem várt jelölt génekre hívhatják fel a figyelmet, de rendkívül körültekintő és többszörös kontrollal biztosított vizsgálatok hozhatnak csak megbízható eredményeket.
17. Nem tartjuk valószínűnek, hogy a hypothalamicus faktorok indítják el a hypophysis sejtek transzformációját, de adataink arra utalnak, hogy a túlstimulált környezet nagyobb eséllyel vezet egy tumort okozó mutáció kialakulásához és a mutáns sejt növekedéséhez.
18. A sejtciklus fehérjék vizsgálata során számos esetben találtunk eltérő mRNS vagy protein expressziót, amely nagymértékben befolyásolja a sejtek proliferációját, bár a legtöbb esetben nem valószínű, hogy a tumor kialakulásában elsődleges szerepet játszik. A p27 kifejezetten alacsony expressziója és a szomatosztatin kezelés után fellépő szintemelkedése új mechanizmusra hívja fel a figyelmet az agyalapi tumorok tumorgenezisében és kezelésében.
19. A *PRKARIA*, a *MEN1* és a *AIP* öröklődő agyalapi tumort okozó gének nem játszanak jelentős szerepet a sporadikus adenomák kialakulásában.
20. A *CDKN1B* (p27) gén mutációi rendkívül ritkán játszanak szerepet a *MEN1* mutáció-negatív MEN1-szindróma kialakulásában.
21. Az *AIP* mutáció-negatív FIPA- és az *MEN1* mutáció-negatív MEN1-szindrómás betegek új agyalapi tumort okozó gének lokalizálásának a lehetőségét vetik fel.
22. A FIPA-szindrómás betegeink adatainak klinikai és genetikai feldolgozása során ennek az „új” szindrómának számos új jellemzőjét ismertük fel.
23. Tizenegy családban találtunk *AIP* mutációt, ezek közül hét korábban nem ismert mutáció volt.
24. Funkcionális vizsgálataink elsőként bizonyították az *AIP* tumor szupresszor szerepét és a mutáns fehérje inaktivitását.

7 AZ ÉRTEKEZÉS ALAPJÁUL SZOLGÁLÓ KÖZLEMÉNYEK

(Az értekezésben részletesen tárgyalt közleményeket félkövér szedéssel jelöltem és ezek egy másolatát a dolgozathoz csatoltam)

Lidhar, K.*, **Korbonits, M.***, Jordan, S., Khalimova, Z., Kaltsas, G., Lu, X., Clayton, R.N., Jenkins, P.J., Monson, J.P., Besser, G.M., Lowe, D.G., & Grossman, A.B. Low expression of the cell cycle inhibitor p27^{Kip1} in normal corticotroph cells, corticotroph tumors, and malignant pituitary tumors. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1999;84:3823-3830

***joint first authors**

IF: 5,805

Satta, M., **Korbonits, M.**, Jacobs, R.A., Bolden-Dwinfour, D.A., Kaltsas, G., Vangeli, V., Adams, E.F., Fahlbush, R., & Grossman, A.B. Expression of menin gene mRNA in pituitary tumours. *European Journal of Endocrinology* 1999;140:358-361.

IF: 2,421

Jordan, S., Lidhar, K., **Korbonits, M.**, Lowe, D.G., & Grossman, A.B. Cyclin D and cyclin E expression in normal and adenomatous pituitary. *European Journal of Endocrinology* 2000;143:R1-R6.

IF: 2,315

Korbonits, M., Bujalska, I., Shimojo, M., Nobes, J., Jordan, S., Grossman, A.B., & Stewart, P.M. Expression of 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase isoenzymes in the human pituitary: induction of the type 2 enzyme in corticotropinomas and other pituitary tumors. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2001;86:2728-2733.

IF: 5,160

Korbonits, M., Bustin, S.A., Kojima, M., Jordan, S., Adams, E.F., Lowe, D.G., Kangawa, K., & Grossman, A.B. The expression of the growth hormone secretagogue receptor ligand ghrelin in normal and abnormal human pituitary and other neuroendocrine tumors. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2001;86:881-887.

IF: 5,160

Korbonits, M.*, Chitnis, M.M.*, Gueorguiev, M., Norman, D., Rosenfelder, N., Suliman, M., Jones, T.H., Noonan, K., Fabbri, A., Besser, G.M., Burrin, J.M., & Grossman, A.B. The release of leptin and its effect on hormone release from human pituitary adenomas. *Clinical Endocrinology* 2001;54:781-789.

***Joint first authors**

IF: 2,465

Gnanapavan, S., Kola, B., Bustin, S.A., Morris, D.G., McGee, P., Fairclough, P., Bhattacharya, S., Carpenter, R., Grossman, A.B., & **Korbonits, M.** The tissue distribution of the mRNA of ghrelin and subtypes of its receptor, GHS-R, in humans. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2002;87:2988-2991.

IF: 5,199

Kaltsas,G.A., Kola,B., Borboli,N., Morris,D.G., Gueorguiev,M., Swords,F.M., Czirják,S., Kirschner,L.S., Stratakis,C.A., Korbonits,M., & Grossman,A.B. Sequence analysis of the PRKAR1A gene in sporadic somatotroph and other pituitary tumours. *Clinical Endocrinology* 2002;57:443-448.

IF: 2,674

Korbonits,M., Gueorguiev,M., O'Grady,E., Lecoeur,C., Swan,D.C., Mein,C.A., Weill,J., Grossman,A.B., & Froguel,P. A variation in the ghrelin gene increases weight and decreases insulin secretion in tall, obese children. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2002;87:4005-4008.

IF: 5,199

Korbonits,M.*, Chahal,H.S.*, Kaltsas,G., Jordan,S., Urmanova,Y., Khalimova,Z., Harris,P.E., Claret,F.X., & Grossman,A.B. Expression of phosphorylated p27^{Kip1} protein and Jab1 (Jun activation domain-binding protein 1) in human pituitary tumors. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2002;87:2635-2643.

*joint first authors

IF: 5,199

Musat,M., Korbonits,M., Pyle,M., Gueorguiev,M., Kola,B., Morris,D.G., Powell,M., Dumitrache,C., Poiana,C., & Grossman,A.B. The expression of the F-box protein Skp2 is negatively associated with p27 expression in human pituitary tumors. *Pituitary* 2002;5:235-242.

IF: -

Kola,B., Korbonits,M., Diaz-Cano,S., Kaltsas,G., Morris,D.G., Jordan,S., Metherell,L., Powell,M., Czirjak,S., Arnaldi,G., Bustin,S., Boscaro,M., Mantero,F., & Grossman,A.B. Reduced expression of the growth hormone and type 1 insulin-like growth factor receptors in human somatotroph tumours and an analysis of possible mutations of the growth hormone receptor. *Clinical Endocrinology* 2003;59:328-338.

IF: 2,767

Morris,D.G., Kola,B., Borboli,N., Kaltsas,G.A., Gueorguiev,M., McNicol,A.M., Ferrier,R., Jones,T.H., Baldeweg,S., Powell,M.P., Czirják,S., Hanzély,Z., Korbonits,M., & Grossman,A.B. Identification of ACTH receptor mRNA in the human pituitary and its loss of expression in pituitary adenomas. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2003;88:6080-6087.

IF: 5,873

Mozid,A.M., Tringali,G., Forsling,M.L., Hendricks,M.S., Ajodha,S., Edwards,R., Navarra,P., Grossman,A.B., & Korbonits,M. Ghrelin is released from rat hypothalamic explants and stimulates corticotrophin-releasing hormone and arginine-vasopressin. *Hormone and Metabolic Research* 2003;35:455-459.

IF: 1,669

Orkin,R.D., New,D.I., Norman,D., Chew,S.L., Clark,A.J.L., Grossman,A.B., & Korbonits,M. Rapid desensitisation of the growth hormone secretagogue (ghrelin)

receptor to hexarelin *in vitro*. *Journal of Endocrinological Investigation* 2003;26:743-747.
IF: 1,621

Pyle,M.E., Korbonits,M., Gueorguiev,M., Jordan,S., Kola,B., Morris,D.G., Meinhardt,A., Powell,M.P., Claret,F.X., Zhang,Q., Metz,C., Bucala,R., & Grossman,A.B. Macrophage migration inhibitory factor expression is increased in pituitary adenoma cell nuclei. *Journal of Endocrinology* 2003;176:103-110.
IF: 3,023

Vax,V.V., Gueorguiev,M., Dedov,I.I., Grossman,A.B., & Korbonits,M. The Krüppel-like transcription factor 6 gene in sporadic pituitary tumours. *Endocrine Related Cancer* 2003;10:397-402.
IF: 8,894

Vax,V.V., Bibi,R., Diaz-Cano,S., Gueorguiev,M., Kola,B., Borboli,N., Bressac-de Paillerets,B., Walker,G.J., Dedov,I.I., Grossman,A.B., & Korbonits,M. Activating point mutations in cyclin-dependent kinase 4 are not seen in sporadic pituitary adenomas, insulinomas or Leydig cell tumours. *Journal of Endocrinology* 2003;178:301-310.
IF: 3,023

Goldstone,A.P., Thomas,E.L., Brynes,A.E., Castroman,G., Edwards,R., Ghatei,M.A., Frost,G., Holland,A.J., Grossman,A.B., Korbonits,M., Bloom,S.R., & Bell,J.D. Elevated fasting plasma ghrelin in Prader-Willi syndrome adults is not solely explained by their reduced visceral adiposity and insulin resistance. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2004;89:1718-1726.
IF: 5,778

Nanzer,A.M., Khalaf,S., Mozd,A.M., Fowkes,R.C., Patel,M.V., Burrin,J.M., Grossman,A.B., & Korbonits,M. Ghrelin exerts a proliferative effect on a rat pituitary somatotroph cell line via the mitogen-activated protein kinase pathway. *European Journal of Endocrinology* 2004;151:233-240.
IF: 3,140

Tucci,S.A., Rogers,E.K., Korbonits,M., & Kirkham,T.C. The cannabinoid CB1 receptor antagonist SR141716 blocks the orexigenic effects of intrahypothalamic ghrelin. *British Journal of Pharmacology* 2004;143:520-523.
IF: 3,325

Goldstone,A.P., Patterson,M., Kalingag,N., Ghatei,M.A., Brynes,A.E., Bloom,S.R., Grossman,A.B., & Korbonits,M. Fasting and postprandial hyperghrelinemia in Prader-Willi syndrome is partially explained by hypoinsulinemia, and is not due to peptide YY3-36 deficiency or seen in hypothalamic obesity due to craniopharyngioma. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2005;90:2681-2690.
IF: 6,020

Kola,B., Hubina,E., Tucci,S.A., Kirkham,T.C., Garcia,E.A., Mitchell,S.E., Williams,L.M., Hawley,S.A., Hardie,D.G., Grossman,A.B., & Korbonits,M.

**Cannabinoids and ghrelin have both central and peripheral metabolic and cardiac effects via AMP-activated protein kinase. *Journal of Biological Chemistry* 2005;280:25196-25201.
IF: 5,854**

**Korbonits,M., Blaine,D., Elia,M., & Powell-Tuck,J.
Refeeding Blaine: studies following a 44 day fast
New England Journal of Medicine 2005;353:2307-2308.**

**Morris,D.G., Musat,M., Czirják,S., Hanzély,Z., Lillington,D.M., Korbonits,M., & Grossman,A.B. Differential gene expression in pituitary adenomas by oligonucleotide array analysis. *European Journal of Endocrinology* 2005;153:143-151.
IF: 2,962**

**Musat,M., Korbonits,M., Kola,B., Borboli,N., Hanson,M.R., Nanzer,A.M., Grigson,J., Jordan,S., Morris,D.G., Gueorguiev,M., Coculescu,M., Basuand,S., & Grossman,A.B. Enhanced protein kinase B/Akt signalling in pituitary tumours. *Endocrine Related Cancer* 2005;12:423-433.
IF: 4,905**

**Emery,M.N., Leontiou,C.A., Bonner,S.E., Merulli,C., Nanzer,A.M., Musat,M., Galloway,M., Powell,M., Nikookam,K., Korbonits,M., & Grossman,A.B. PPAR-gamma expression in pituitary tumours and the functional activity of the glitazones: evidence that any anti-proliferative effect of the glitazones is independent of the PPAR-gamma receptor. *Clinical Endocrinology* 2006;65:389-395.
IF: 3,358**

**Hubina,E., Nanzer,A.M., Hanson,M.R., Ciccarelli,E., Losa,M., Gaia,D., Papotti,M., Terreni,M.R., Khalaf,S., Jordan,S., Czirjak,S., Hanzely,Z., Nagy,G.M., Goth,M.I., Grossman,A.B., & Korbonits,M. Somatostatin analogues stimulate p27 expression and inhibit the MAP kinase pathway in pituitary tumours. *European Journal of Endocrinology* 2006;155:371-379.
IF: 3,145**

**Ewing,I., Pedder-Smith,S., Franchi,G., Ruscica,M., Emery,M., Vax,V., Garcia,E., Czirjak,S., Hanzely,Z., Kola,B., Korbonits,M., & Grossman,A.B. A mutation and expression analysis of the oncogene BRAF in pituitary adenomas. *Clinical Endocrinology* 2007;66:348-352.
IF: 3,370**

**Gueorguiev,M., Wiltshire,S., Garcia,E.A., Mein,C., Lecoer,C., Kristen,B., Allotey,R., Hattersley,A.T., Walker,M., O'Rahilly,S., Froguel,P., Grossman,A.B., McCarthy,M.I., Hitman,G.A., Korbonits,M. Examining the candidacy of ghrelin as a gene responsible for variation in adult stature in a United Kingdom population with type 2 diabetes. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2007;92:2201-2204.
IF: 5,493**

Korbonits,M., Blaine,D., Elia,M., & Powell-Tuck,J. Metabolic and hormonal changes during the refeeding period of prolonged fasting. *European Journal of Endocrinology* 2007;157:157-166.

IF: 3,239

Christ-Crain,M., Kola,B., Lolli,F., Fekete,C., Seboek,D., Wittmann,G., Feltrin,D., Igreja,S.C., Ajodha,S., Harvey-White,J., Kunos,G., Muller,B., Pralong,F., Aubert,G., Arnaldi,G., Giacchetti,G., Boscaro,M., Grossman,A.B., & Korbonits,M. AMP-activated protein kinase mediates glucocorticoid-induced metabolic changes: a novel mechanism in Cushing's syndrome. *FASEB Journal* 2008;22:1672-1683.

IF: 6,791

Garcia,E.A., Heude,B., Petry,C.J., Gueorguiev,M., Hassan-Smith,Z.K., Spanou,A., Ring,S.M., Dunger,D.B., Wareham,N., Sandhu,M., Ong,K.K., & Korbonits,M. Ghrelin receptor gene polymorphisms and body size in children and adults.

Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism 2008;doi:10.1210/jc.2008-0366.

IF: 5,493

Igreja,S., Chahal,H.S., Akker,S.A., Gueorguiev,M., Popovic,V., Damjanovic,S., Wass,J.A., Quinton,R., Grossman,A.B., & Korbonits,M. Assessment of p27 (cyclin-dependent kinase inhibitor 1B) and AIP (aryl hydrocarbon receptor-interacting protein) genes in MEN1 syndrome patients without any detectable MEN1 gene mutations. *Clinical Endocrinology* 2008;DOI 10.1111/j.1365-2265.2008.03379.x.

IF: 3,370

Kola,B., Farkas,I., Christ-Crain,M., Wittmann,G., Lolli,F., Amin,F., Harvey-White,J., Liposits,Z., Kunos,G., Grossman,A.B., Fekete,C., & Korbonits,M. The orexigenic effect of ghrelin is mediated through central activation of the endogenous cannabinoid system. *PloS One* 2008;3:e1797.

IF: -

Leontiou,C.A., Gueorguiev,M., van der,S.J., Quinton,R., Lolli,F., Hassan,S., Chahal,H.S., Igreja,S.C., Jordan,S., Rowe,J., Stolbrink,M., Christian,H.C., Wray,J., Bishop-Bailey,D., Berney,D.M., Wass,J.A., Popovic,V., Ribeiro-Oliveira,A., Jr., Gadelha,M.R., Monson,J.P., Akker,S.A., Davis,J.R., Clayton,R.N., Yoshimoto,K., Iwata,T., Matsuno,A., Eguchi,K., Musat,M., Flanagan,D., Peters,G., Bolger,G.B., Chapple,J.P., Frohman,L.A., Grossman,A.B., & Korbonits,M. The role of the aryl hydrocarbon receptor-interacting protein gene in familial and sporadic pituitary adenomas. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2008;93:2390-2401.

IF: 5,493

Ribeiro-Oliveira,A., Franchi,G., Kola,B., Dalino,P., Pinheiro,S., Salahuddin,N., Musat,M., Goth,M., Czirjak,S., Hanzely,Z., Silva,D., Paulino,E., Grossman,A., & Korbonits,M. Protein western array analysis in human pituitary tumours: insights and limitations. *Endocrine Related Cancer* 2008;DOI: 10.1677/ERC-08-0003.

IF: 5,193

Zavarella,S., Petrone,A., Zampetti,S., Gueorguiev,M., Spoletini,M., Mein,C.A., Leto,G., Korbonits,M., & Buzzetti,R. A new variation in the promoter region, the -604 C>T, and the Leu72Met polymorphism of the ghrelin gene are associated with protection to insulin resistance. *International Journal of Obesity* 2008;32:663-668.

IF: 3,560

Gueorguiev,M., Lecoecur,C., Benzinou,M., Mein,C.A., Meyre,D., Grossman,A.B., Froguel,P.*, & Korbonits,M.* A genetic study of the ghrelin and growth hormone secretagogue receptor (GHS-R) genes and stature. *Annals of Human Genetics* 2008; In press.

*joint last authors

IF: 2,307

Kola,B., Christ-Crain,M., Lolli,F., Arnaldi,G., Giacchetti,G., Boscaro,M., Grossman,A.B. & Korbonits,M. (2008) Changes in AMP-activated protein kinase as a mechanism of visceral obesity in Cushing's syndrome. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*; doi:10.1210/jc.2008-1297.

IF: 5,493

8 A SZERZŐ PhD ÉRTEKEZÉSE ÓTA PUBLIKÁLT EGYÉB KÖZLEMÉNYEI

Folyóirat cikkek

Kaltsas,G.A., **Korbonits,M.**, Isidori,A.M., Webb,J.A., Monson,J.P., Besser,G.M., & Grossman,A.B. How common are polycystic ovaries and the polycystic ovarian syndrome in women with Cushing's syndrome? *Clinical Endocrinology* 2000;53:493-500.
IF: 2,922

Korbonits,M. & Grossman,A.B.
Drug-induced hyperprolactinaemia. *Prescriber's Journal* 2000;40:157-172.
IF:-

Putignano,P., Kaltsas,G.A., **Korbonits,M.**, Jenkins,P.J., Monson,J.P., Besser,G.M., & Grossman,A.B. Alteration in serum protein levels in patients with Cushing's syndrome before and after successful treatment. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2000;85:3309-3312.
IF: 5,447

Skelly,R.H., **Korbonits,M.**, Grossman,A.B., Besser,G.M., Monson,J.P., Geddes,J.F., & Burrin,J.M. Expression of the pituitary transcription factor Ptx-1, but not that of the *trans*-activating factor Prop-1, is reduced in human corticotroph adenomas and is associated with decreased α -subunit secretion. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2000;85:2537-2542.
IF: 5,447

Gueorguiev,M., Góth,M.I., & **Korbonits,M.** Leptin and puberty - a review.*Pituitary* 2001;4:79-86.
IF: -

Hayward,B.E., Barlier,A., **Korbonits,M.**, Grossman,A.B., Jacquet,P., Enjalbert,A., & Bonthron,D.T. Imprinting of the G(s)alpha gene GNAS1 in the pathogenesis of acromegaly. *Journal of Clinical Investigation* 2001;107:R31-R36.
IF: 14,118

Kaltsas,G., **Korbonits,M.**, Heintz,E., Mukherjee,J.J., Jenkins,P.J., Chew,S.L., Reznick,R.H., Monson,J.P., Besser,G.M., Foley,R., Britton,K.E., & Grossman,A.B. Comparison of somatostatin analog and meta-iodobenzylguanidine radionuclides in the diagnosis and localization of advanced neuroendocrine tumors. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2001;86:895-902.
IF: 5,160

Korbonits,M., Kojima,M., Kangawa,K., & Grossman,A.B. Presence of ghrelin in normal and adenomatous human pituitary. *Endocrine* 2001;14:101-104.
IF: 1,503

Korbonits,M., Chitnis,M.M., Gueorguiev,M., Norman,D., Kaltsas,G.A., Burrin,J.M., & Grossman,A.B. Leptin in pituitary adenomas – a novel paracrine regulatory system. *Pituitary* 2001;4:49-56.
IF: -

Isidori,A.M., Kaltsas,G.A., **Korbonits,M.**, Pyle,M., Gueorguiev,M., Meinhardt,A., Metz,C., Petrovsky,M., Bucala,R., & Grossman,A.B. Response of serum macrophage migration inhibitory factor (MIF) levels to stimulation or suppression of the hypothalamo-

- pituitary-adrenal axis in normal subjects and patients with Cushing's disease. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2002;87:1834-1840.
IF: 5,199
- Newell-Price,J., Morris,D.G., Drake,W.M., **Korbonits,M.**, Monson,J.P., Besser,G.M., & Grossman,A.B. Optimal response criteria for the human CRH test in the differential diagnosis of ACTH-dependent Cushing's syndrome. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2002;87:1640-1645.
IF: 5,199
- Svensson,J., Monson,J.P., Vetter,T., Hansen,T.K., Savine,R., Kann,P., Bex,M., Reincke,M., Hagen,C., Beckers,A., Ilondo,M.M., Zdravkovic,M., Bengtsson,B.A., & **Korbonits,M.** Oral administration of the growth hormone secretagogue NN703 in adult patients with growth hormone deficiency. *Clinical Endocrinology* 2003;58:572-580.
IF: 2,767
- Góth,M.I. & **Korbonits,M.**
[Treatment of acromegaly]. *Orvosi Hetilap* 2004;145:867-871.
IF: -
- Grossman,A.B. & **Korbonits,M.**
Aktng and cycling: a tale of the pituitary. *Hormone Research* 2004;62 Suppl 3:117-123.
IF: 1,561
- Korbonits,M.**, Kipnes,M., & Grossman,A.B.
StriantTM SR: A novel, effective and convenient testosterone therapy for male hypogonadism. *International Journal of Clinical Practice* 2004;58:1073-1080.
IF: 1,223
- Korbonits,M.**, Morris,D.G., Nanzer,A.M., Kola,B., & Grossman,A.B.
Role of regulatory factors in pituitary tumour formation. *Frontiers of Hormone Research*. 2004, 32, p: 63-95.
IF: 0,480
- Musat,M., Vax,V.V., Borboli,N., Gueorguiev,M., Bonner,S., **Korbonits,M.**, & Grossman,A.B. Cell cycle dysregulation in pituitary oncogenesis. *Frontiers of Hormone Research*, 2004, 32,p: 34-62.
IF: 0,480
- Korbonits,M.**, Slawik,M., Cullen,D., Ross,R.J., Stalla,G., Schneider,H., Reincke,M., Bouloux,P.M., & Grossman,A.B. A comparison of a novel testosterone bioadhesive buccal system, striant, with a testosterone adhesive patch in hypogonadal males. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2004;89:2039-2043.
IF: 5,778
- Korbonits,M.**, Goldstone,A.P., Gueorguiev,M., & Grossman,A.B.
Ghrelin - a hormone with multiple functions. *Frontiers of Neuroendocrinology* 2004;25:27-68.
IF: 9,500
- Korbonits,M.** & Grossman,A.B.
Ghrelin: update on a novel hormonal system. *European Journal of Endocrinology* 2004;151 Suppl 1:S67-S70.
IF: 3,140

- Dahia,P.L., Ross,K.N., Wright,M.E., Hayashida,C.Y., Santagata,S., Barontini,M., Kung,A.L., Sanso,G., Powers,J.F., Tischler,A.S., Hodin,R., Heitritter,S., Moore,F., Dluhy,R., Sosa,J.A., Ocal,I.T., Benn,D.E., Marsh,D.J., Robinson,B.G., Schneider,K., Garber,J., Arum,S.M., **Korbonits,M.**, Grossman,A., Pigny,P., Toledo,S.P., Nose,V., Li,C., & Stiles,C.D. A HIF1alpha regulatory loop links hypoxia and mitochondrial signals in pheochromocytomas. *PLoS Genetics* 2005;1:72-80.
IF: -
- Góth,M.I., Hubina,E., & **Korbonits,M.**
[Correlations between the hypothalamo-pituitary-adrenal axis and the metabolic syndrome]. *Orvosi Hetilap* 2005;146:51-55.
IF: -
- Hubina,E., Ruscica,M., Nanzer,A.M., Czirjak,S., Goth,M.I., Grossman,A.B., & **Korbonits,M.**
Novel molecular aspects of pituitary adenomas. *Journal of Endocrinological Investigation* 2005;28:87-92.
IF: 1,496
- Hubina,E., Goth,M., & **Korbonits,M.**[Ghrelin--a hormone with multiple functions].
Orvosi Hetilap 2005;146:1345-1351.
IF: -
- Usmani,O.S., Belvisi,M.G., Patel,H.J., Crispino,N., Birrell,M.A., **Korbonits,M.**, Korbonits,D., & Barnes,P.J. Theobromine inhibits sensory nerve activation and cough. *FASEB Journal* 2005;19:231-233.
IF: 7,064
- Christ-Crain,M., Stoeckli,R., Ernst,A., Morgenthaler,N.G., Bilz,S., **Korbonits,M.**, Struck,J., Bergmann,A., Muller,B., & Keller,U. Effect of gastric bypass and gastric banding on pro-neurotensin levels in morbidly obese patients. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2006;91:3544-3547.
IF: 5,799
- Garcia,E.A. & **Korbonits,M.** Ghrelin and cardiovascular health. *Current Opinion in Pharmacology* 2006;6:142-147.
IF: 6,916
- Jackson,J.M., Blaine,D., Powell-Tuck,J., **Korbonits,M.**, Carey,A., & Elia,M. Macro- and micronutrient losses and nutritional status resulting from 44 days of total fasting in a non-obese man. *Nutrition* 2006;22:889-897.
IF: 2,229
- Kola,B., Boscaro,M., Rutter,G.A., Grossman,A.B., & **Korbonits,M.** Expanding role of AMPK in endocrinology. *Trends in Endocrinology and Metabolism* 2006;17:205-215.
IF: 7, 066
- Christ-Crain,M., Kola,B., Lolli,F., Grossman,A.B., & **Korbonits,M.** Role of AMP-activated protein kinase in metabolism. *Obesity and Metabolism* 2007;3:143-154.
IF: -
- Swales,K.E., **Korbonits,M.**, Carpenter,R., Walsh,D.T., Warner,T.D., & Bishop-Bailey,D. The farnesoid X receptor is expressed in breast cancer and regulates apoptosis and aromatase expression. *Cancer Research* 2006;66:10120-10126.
IF: 7,656
- Leontiou,C.A., Franchi,G., & **Korbonits,M.** Ghrelin in neuroendocrine organs and tumours. *Pituitary* 2007;10:213-225.
IF: -
- Higgins,S.C., Gueorguiev,M., & **Korbonits,M.** Ghrelin, the peripheral hunger hormone. *Annals of Medicine* 2007;39:116-136.

IF: 5,779

Grozinsky-Glasberg,S., Shimon,I., **Korbonits,M.**, & Grossman,A.B. Somatostatin analogues in the control of neuroendocrine tumours: efficacy and mechanisms. *Endocrine Related Cancer* 2008;15:701-720.

IF: 5,193

Grozinsky-Glasberg,S., Grossman,A.B., & **Korbonits,M.** The role of somatostatin analogues in the treatment of neuroendocrine tumours. *Molecular and Cellular Endocrinology* 2008;286:238-250.

IF: 2,971

Grozinsky-Glasberg,S., Franchi,G., Teng,M., Leontiou,C.A., Ribeiro de Oliveira,A. Jr., Dalino,P., Salahuddin,N., **Korbonits,M.**, & Grossman,A.B. Octreotide and the mTOR inhibitor RAD001 (everolimus) block proliferation and interact with the Akt-mTOR-p70S6K pathway in a neuro-endocrine tumour cell line. *Neuroendocrinology* 2008;87:168-181.

IF: 2,295

Kola,B., Grossman,A.B., & **Korbonits,M.** The role of AMP-activated protein kinase in obesity. *Frontiers of Hormone Research*. 2008, 36, p198-211.

IF: 1,075

Van Thuijl,H., Kola,B., & **Korbonits,M.** Appetite and metabolic effects of ghrelin and cannabinoids: involvement of AMP-activated protein kinase. *Vitamins and Hormones* 2008;77:121-148.

IF: 3,889

Varga,M., Rajczy,K., Telkes,G., Hidvegi,M., Peter,A., Rempert,A., **Korbonits,M.**, Fazakas,J., Toronyi,E., Sarvary,E., Kobori,L., & Jaray,J. HLA-DQ3 is a probable risk factor for CMV infection in high-risk kidney transplant patients. *Nephrology Dialysis Transplantation* 2008;23:2673-2678.

IF: 3,167

Gibson,C. & **Korbonits,M.**

The yin and yang of the ghrelin gene products. *Immunology, Endocrine & Metabolic Agents in Medicinal Chemistry* 2008; In press.

IF: -

Chahal,H.S., Chapple,J.P., Frohman,L.A., Grossman,A.B., & **Korbonits,M.** Clinical, genetic and molecular characterisation of patients with familial isolated pituitary adenomas. *Endocrine Reviews* 2008; In press.

IF: 18,493

Korbonits,M. & Carlsen,E. Recent clinical and pathophysiological advances in non-functional pituitary adenomas. *Hormone Research* 2008; In press.

IF: 2,015

Könyvfejezetek

Korbonits,M.

Tumours and Humors.

In: Central and Peripheral Mechanisms in Pituitary Disease

Ed: Kleinberg, D. L. and Clemmons, D. R. Bioscientifica Ltd., Bristol, 2002, pages: 245-262

Korbonits,M., Guimaraes,A.C., Bandeira,F., & Grossman,A.B.

Hyperprolactinaemia.

In: Endocrinology and Diabetes

Ed: Bandeira, F. MedSi, Rio de Janeiro, 2003, pages: 105-116.

Góth,M.I., Hubina,E., & **Korbonits,M.**

Aetiology and demography of patients with GH deficiency in KIMS.

In: Growth hormone deficiency in Adults - KIMS 10 years

Ed: Abs, R. and Feldt-Rasmussen, U. Oxford, 2004, pages: 75-82.

Korbonits,M. & Grossman,A.B.

Non-growth hormone endocrine actions of ghrelin.

In: Ghrelin and growth hormone secretagogues

Ed: Ghigo, E. Endocrine Updates, Springer, Berlin, 2004, pages: 73-88.

Korbonits,M., Gaylinn,B.D., Nass,R., & Thorner,M.O.

Growth Hormone-Releasing Hormone, Ghrelin and Growth Hormone Secretagogues.

In: Endocrinology

Ed: DeGroot, L. J. and Jameson, J. L., Elsevier, Philadelphia, 2005, pages: 601-642.

Góth,M.I. & **Korbonits,M.**

Acromegalia.

In: Az endokrin- és anyagcsere-betegségek korszerű gyakorlata

Ed: Leövey, A., Nagy, E., Parragh, Gy, and Rácz, K., Medicina, Budapest
2008; In press.

Korbonits,M. & Amin,F.

AMPK - A key metabolic enzyme.

In: Progress in paediatric endocrinology

Ed: Peter, F. Tudomány kiadó, 2008, pages: 41-48

Impakt faktor érték összesen: 352,437

Idézettségi adatok:

Összes idézetek száma: 2549

Független idézete száma: 2216

9 KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

- Mindenekelőtt köszönetet szeretnék mondani Prof. Ashley Grossmannak, aki rendkívüli lelkesedéssel, támogatással, kitartással és a nehéz helyzetekben segítő kézzel engedte, hogy mind klinikusként, mind pedig kutatóként eljussak ennek a munkának a megírásához.

- Hálás vagyok valamennyi közvetlen kollegámnak, medikus és PhD hallgatónak és társszerzőimnek a magas színvonalú munkáért. A sok kedves munkatárs közül Dr. Blerina Kolat, Dr. Gregory Kaltsast és Dr. Fekete Csabát szeretném külön kiemelni.

- Fontos szerepet játszott a pályám alakulásában Prof. Gláz Edit, Prof. Góth Miklós, Prof. Michael Besser és Prof. Adrian Clark segítségével, köszönöm nekik a tanítást és a bizalmat, amit belém fektettek.

- Végül nagyon köszönöm a családom támogatását, a gyermekeim türelmét, szüleim biztatását, férjem szeretetét és feltétel nélküli támogatását, akinek ezt a munkát ajánlom.

10 A ÉRTEKEZÉSben IDÉZETT KÖZLEMÉNYEK

- Andersson,U., Filipsson,K., Abbott,C.R., Woods,A., Smith,K., Bloom,S.R., Carling,D. & Small,C.J. (2004) AMP-activated protein kinase plays a role in the control of food intake. *Journal of Biological Chemistry*, **279**, 12005-12008.
- Bell,M.E., Bhatnagar,S., Liang,J., Soriano,L., Nagy,T.R. & Dallman,M.F. (2000) Voluntary sucrose ingestion, like corticosterone replacement, prevents the metabolic deficits of adrenalectomy. *Journal of Neuroendocrinology*, **12**, 461-470.
- Bequet,F., Uzabiaga,F., Desbazeille,M., Ludwiczak,P., Maftouh,M., Picard,C., Scatton,B. & Le,F.G. (2007) CB1 receptor-mediated control of the release of endocannabinoids (as assessed by microdialysis coupled with LC/MS) in the rat hypothalamus. *Eur.J.Neurosci.*, **26**, 3458-3464.
- Chahal,H.S., Chapple,J.P., Frohman,L.A., Grossman,A.B. & Korbonits,M. (2008) Clinical, genetic and molecular characterisation of patients with familial isolated pituitary adenomas. *Endocrine Reviews*, (In Press).
- Chang,L., Ren,Y., Liu,X., Li,W.G., Yang,J., Geng,B., Weintraub,N.L. & Tang,C. (2004) Protective effects of ghrelin on ischemia/reperfusion injury in the isolated rat heart. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, **43**, 165-170.
- Chau-Van,C., Gamba,M., Salvi,R., Gaillard,R.C. & Pralong,F.P. (2007) Metformin inhibits adenosine 5'-monophosphate-activated kinase activation and prevents increases in neuropeptide Y expression in cultured hypothalamic neurons. *Endocrinology*, **148**, 507-511.
- Christ-Crain,M., Kola,B., Lolli,F., Fekete,C., Seboek,D., Wittmann,G., Feltrin,D., Igreja,S.C., Ajodha,S., Harvey-White,J., Kunos,G., Muller,B., Pralong,F., Aubert,G., Arnaldi,G., Giacchetti,G., Boscaro,M., Grossman,A.B. & Korbonits,M. (2008) AMP-activated protein kinase mediates glucocorticoid-induced metabolic changes: a novel mechanism in Cushing's syndrome. *FASEB Journal*, **22**, 1672-1683.
- Daly,A.F., Rixhon,M., Adam,C., Dempegioti,A., Tichomirowa,M.A. & Beckers,A. (2006) High prevalence of pituitary adenomas: a cross-sectional study in the province of Liege, Belgium. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, **91**, 4769-4775.
- Dyck,J.R. & Lopaschuk,G.D. (2002) Malonyl CoA control of fatty acid oxidation in the ischemic heart. *J.Mol.Cell Cardiol.*, **34**, 1099-1109.
- Emery,M.N., Leontiou,C.A., Bonner,S.E., Merulli,C., Nanzer,A.M., Musat,M., Galloway,M., Powell,M., Nikookam,K., Korbonits,M. & Grossman,A.B. (2006) PPAR-gamma expression in pituitary tumours and the functional activity of the glitazones: evidence that any anti-proliferative effect of the glitazones is independent of the PPAR-gamma receptor. *Clinical Endocrinology*, **65**, 389-395.
- Ewing,I., Pedder-Smith,S., Franchi,G., Ruscica,M., Emery,M., Vax,V., Garcia,E., Czirjak,S., Hanzely,Z., Kola,B., Korbonits,M. & Grossman,A.B. (2007) A mutation and expression analysis of the oncogene BRAF in pituitary adenomas. *Clinical Endocrinology*, **66**, 348-352.
- Garcia,E.A., Gueorguiev,M., Cliona,B., Lecoer,C., Grossman,A.B., Froguel,P. & Korbonits,M. (2005) Is ghrelin involved in BMI determination in patients with type 2 diabetes? *Endocrine Abstracts*, **9**, P20 (Abstract).
- Garcia,E.A., Heude,B., Petry,C.J., Gueorguiev,M., Hassan-Smith,Z.K., Spanou,A., Ring,S.M., Dunger,D.B., Wareham,N., Sandhu,M., Ong,K.K. & Korbonits,M. (2008) Ghrelin receptor gene polymorphisms and body size in children and adults. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, doi:10.1210/jc.2008-0366.
- Garcia,E.A. & Korbonits,M. (2006) Ghrelin and cardiovascular health. *Current Opinion in Pharmacology*, **6**, 142-147.
- Georgitsi,M., Raitila,A., Karhu,A., van der Luijt,R.B., Aalfs,C.M., Sane,T., Vierimaa,O., Makinen,M.J., Tuppurainen,K., Paschke,R., Gimm,O., Koch,C.A., Gundogdu,S., Lucassen,A., Tischkowitz,M., Izatt,L., Aylwin,S., Bano,G., Hodgson,S., De Menis,E., Launonen,V., Vahteristo,P. & Aaltonen,L.A. (2007) Germline CDKN1B/p27Kip1 mutation in multiple endocrine neoplasia. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, **92**, 3321-3325.

- Ghigo,E., Arvat,E., Ramunni,J., Colao,A., Gianotti,L., Deghenghi,R., Lombardi,G. & Camanni,F. (1997) Adrenocorticotropin- and cortisol-releasing effect of hexarelin, a synthetic growth hormone-releasing peptide, in normal subjects and patients with Cushing's syndrome. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, **82**, 2439-2444.
- Gibson,C. & Korbonits,M. (2008) The yin and yang of the ghrelin gene products. *Immunology, Endocrine & Metabolic Agents in Medicinal Chemistry*, (In Press).
- Gnanapavan,S., Kola,B., Bustin,S.A., Morris,D.G., McGee,P., Fairclough,P., Bhattacharya,S., Carpenter,R., Grossman,A.B. & Korbonits,M. (2002) The tissue distribution of the mRNA of ghrelin and subtypes of its receptor, GHS-R, in humans. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, **87**, 2988-2991.
- Goldstone,A.P., Patterson,M., Kalingag,N., Ghatei,M.A., Brynes,A.E., Bloom,S.R., Grossman,A.B. & Korbonits,M. (2005) Fasting and postprandial hyperghrelinemia in Prader-Willi syndrome is partially explained by hypoinsulinemia, and is not due to peptide YY3-36 deficiency or seen in hypothalamic obesity due to craniopharyngioma. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, **90**, 2681-2690.
- Goldstone,A.P., Thomas,E.L., Brynes,A.E., Castroman,G., Edwards,R., Ghatei,M.A., Frost,G., Holland,A.J., Grossman,A.B., Korbonits,M., Bloom,S.R. & Bell,J.D. (2004) Elevated fasting plasma ghrelin in Prader-Willi syndrome adults is not solely explained by their reduced visceral adiposity and insulin resistance. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, **89**, 1718-1726.
- Gueorguiev,M., Lecoer,C., Benzinou,M., Mein,C.A., Meyre,D., Grossman,A.B., Froguel,P. & Korbonits,M. (2008) A genetic study of the ghrelin and growth hormone secretagogue receptor (GHS-R) genes and stature. *Annals of Human Genetics*, (In Press).
- Gueorguiev,M., Lecoer,C., Meyre,D., Weill,J., Mein,C.A., Grossman,A.B., Froguel,P. & Korbonits,M. (2003) Ghrelin and the growth hormone secretagogue receptor: a role in eating behaviour. *Digestive Hormones, Appetite & Energy Balance Symposium*, (Abstract).
- Gueorguiev,M., Wiltshire,S., Garcia,E.A., Mein,C., Lecoer,C., Kristen,B., Allotey,R., Hattersley,A.T., Walker,M., O'Rahilly,S., Froguel,P., Grossman,A.B., McCarthy,M.I., Hitman,G.A., Korbonits,M. & Froguel,P. (2007) Examining the candidacy of ghrelin as a gene responsible for variation in adult stature in a United Kingdom population with type 2 diabetes. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, **92**, 2201-2204.
- Hanahan,D. & Weinberg,R.A. (2000) The hallmarks of cancer. *Cell*, **100**, 57-70.
- Hayward,B.E., Barlier,A., Korbonits,M., Grossman,A.B., Jacquet,P., Enjalbert,A. & Bonthron,D.T. (2001) Imprinting of the G(s)alpha gene GNAS1 in the pathogenesis of acromegaly. *Journal of Clinical Investigation*, **107**, R31-R36
- Higgins,S.C., Gueorguiev,M. & Korbonits,M. (2007) Ghrelin, the peripheral hunger hormone. *Annals of Medicine*, **39**, 116-136.
- Hubina,E., Nanzer,A.M., Hanson,M.R., Ciccarelli,E., Losa,M., Gaia,D., Papotti,M., Terreni,M.R., Khalaf,S., Jordan,S., Czirjak,S., Hanzely,Z., Nagy,G.M., Goth,M.I., Grossman,A.B. & Korbonits,M. (2006) Somatostatin analogues stimulate p27 expression and inhibit the MAP kinase pathway in pituitary tumours. *European Journal of Endocrinology*, **155**, 371-379.
- Igreja,S., Chahal,H.S., Akker,S.A., Gueorguiev,M., Popovic,V., Damjanovic,S., Wass,J.A., Quinton,R., Grossman,A.B. & Korbonits,M. (2008) Assessment of p27 (cyclin-dependent kinase inhibitor 1B) and AIP (aryl hydrocarbon receptor-interacting protein) genes in MEN1 syndrome patients without any detectable MEN1 gene mutations. *Clinical Endocrinology*, doi 10.1111/j.1365-2265.2008.03379.x.
- Jordan,S., Lidhar,K., Korbonits,M., Lowe,D.G. & Grossman,A.B. (2000) Cyclin D and cyclin E expression in normal and adenomatous pituitary. *European Journal of Endocrinology*, **143**, R1-R6
- Kaltsas,G.A., Kola,B., Borboli,N., Morris,D.G., Gueorguiev,M., Swords,F.M., Czirják,S., Kirschner,L.S., Stratakis,C.A., Korbonits,M. & Grossman,A.B. (2002) Sequence analysis of the PRKAR1A gene in sporadic somatotroph and other pituitary tumours. *Clinical Endocrinology*, **57**, 443-448.

- Kirkham,T.C., Williams,C.M., Fezza,F. & Di,M., V (2002) Endocannabinoid levels in rat limbic forebrain and hypothalamus in relation to fasting, feeding and satiation: stimulation of eating by 2-arachidonoyl glycerol. *British Journal of Pharmacology*, **136**, 550-557.
- Kojima,M., Hosoda,H., Date,Y., Nakazato,M., Matsuo,H. & Kangawa,K. (1999) Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature*, **402**, 656-660.
- Kola,B., Boscaro,M., Rutter,G.A., Grossman,A.B. & Korbonits,M. (2006) Expanding role of AMPK in endocrinology. *Trends in Endocrinology and Metabolism*, **17**, 205-215.
- Kola,B., Christ-Crain,M., Lolli,F., Arnaldi,G., Giacchetti,G., Boscaro,M., Grossman,A.B. & Korbonits,M. (2008a) Changes in AMP-activated protein kinase as a mechanism of visceral obesity in Cushing's syndrome. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, doi:10.1210/jc.2008-1297.
- Kola,B., Christ-Crain,M., Lolli,F., Fekete,C., Seboek,D., Wittman,G., Ajodha,S., Harvey-White,J., Kunos,G., Muller,B., Arnaldi,G., Giacchetti,G., Boscaro,M., Grossman,A.B. & Korbonits,M. (2008b) The metabolic effects of ghrelin and glucocorticoids are mediated by AMP-activated protein kinase (AMPK) and endogenous cannabinoids. *European Congress of Endocrinology, Berlin, Germany, Endocrine Abstracts*, **16**, OC1.6 (Abstract).
- Kola,B., Farkas,I., Christ-Crain,M., Wittmann,G., Lolli,F., Amin,F., Harvey-White,J., Liposits,Z., Kunos,G., Grossman,A.B., Fekete,C. & Korbonits,M. (2008c) The orexigenic effect of ghrelin is mediated through central activation of the endogenous cannabinoid system. *PLoS One*, **3**, e1797
- Kola,B., Hubina,E., Tucci,S.A., Kirkham,T.C., Garcia,E.A., Mitchell,S.E., Williams,L.M., Hawley,S.A., Hardie,D.G., Grossman,A.B. & Korbonits,M. (2005) Cannabinoids and ghrelin have both central and peripheral metabolic and cardiac effects via AMP-activated protein kinase. *Journal of Biological Chemistry*, **280**, 25196-25201.
- Kola,B., Korbonits,M., Diaz-Cano,S., Kaltsas,G., Morris,D.G., Jordan,S., Metherell,L., Powell,M., Czirjak,S., Arnaldi,G., Bustin,S., Boscaro,M., Mantero,F. & Grossman,A.B. (2003) Reduced expression of the growth hormone and type 1 insulin-like growth factor receptors in human somatotroph tumours and an analysis of possible mutations of the growth hormone receptor. *Clinical Endocrinology*, **59**, 328-338.
- Kola,B., Lim,C.T., Feltrin,D., Perez-Tilve,D., Grossman,A.B., Tschöp,M. & Korbonits,M. (2008d) The effect of ghrelin on AMPK activity in growth hormone secretagogue receptor (GHS-R) knockout animals. *5th International AMPK meeting*, #32, (Abstract).
- Korbonits,M., Blaine,D., Elia,M. & Powell-Tuck,J. (2005) Refeeding Blaine: studies following a 44 day fast. *New England Journal of Medicine*, **353**, 2307-2308.
- Korbonits,M., Blaine,D., Elia,M. & Powell-Tuck,J. (2007) Metabolic and hormonal changes during the refeeding period of prolonged fasting. *European Journal of Endocrinology*, **157**, 157-166.
- Korbonits,M., Bujalska,I., Shimojo,M., Nobes,J., Jordan,S., Grossman,A.B. & Stewart,P.M. (2001a) Expression of 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase isoenzymes in the human pituitary: induction of the type 2 enzyme in corticotropinomas and other pituitary tumors. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, **86**, 2728-2733.
- Korbonits,M., Bustin,S.A., Kojima,M., Jordan,S., Adams,E.F., Lowe,D.G., Kangawa,K. & Grossman,A.B. (2001b) The expression of the growth hormone secretagogue receptor ligand ghrelin in normal and abnormal human pituitary and other neuroendocrine tumors. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, **86**, 881-887.
- Korbonits,M., Chahal,H.S., Kaltsas,G., Jordan,S., Urmanova,Y., Khalimova,Z., Harris,P.E., Claret,F.X. & Grossman,A.B. (2002a) Expression of phosphorylated p27^{Kip1} protein and Jab1 (Jun activation domain-binding protein 1) in human pituitary tumors. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, **87**, 2635-2643.
- Korbonits,M., Chitnis,M.M., Gueorguiev,M., Norman,D., Rosenfelder,N., Suliman,M., Jones,T.H., Noonan,K., Fabbri,A., Besser,G.M., Burrin,J.M. & Grossman,A.B. (2001c) The release of leptin and its effect on hormone release from human pituitary adenomas. *Clinical Endocrinology*, **54**, 781-789.

- Korbonits,M., Goldstone,A.P., Gueorguiev,M. & Grossman,A.B. (2004) Ghrelin - a hormone with multiple functions. *Frontiers of Neuroendocrinology*, **25**, 27-68.
- Korbonits,M., Gueorguiev,M., O'Grady,E., Lecoer,C., Swan,D.C., Mein,C.A., Weill,J., Grossman,A.B. & Froguel,P. (2002b) A variation in the ghrelin gene increases weight and decreases insulin secretion in tall, obese children. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, **87**, 4005-4008.
- Korbonits,M., Jacobs,R.A., Aylwin,S.J.B., Burrin,J.M., Dahia,P.L.M., Monson,J.P., Trainer,P.J., Chew,S.L., Besser,G.M. & Grossman,A.B. (1998) Expression of the growth hormone secretagogue receptor in pituitary adenomas and other neuroendocrine tumors. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, **83**, 3624-3630.
- Korbonits,M., Trainer,P.J. & Besser,G.M. (1995) The effect of an opiate antagonist on the hormonal changes induced by hexarelin. *Clinical Endocrinology*, **43**, 365-371.
- Lall,S., Tung,L.Y.C., Ohlsson,C., Jansson,J.O. & Dickson,S.L. (2001) Growth hormone (GH)-independent stimulation of adiposity by GH secretagogues. *Biochemical Biophysical Research Communications*, **280**, 132-138.
- Leontiou,C.A., Gueorguiev,M., van der,S.J., Quinton,R., Lolli,F., Hassan,S., Chahal,H.S., Igreja,S.C., Jordan,S., Rowe,J., Stolbrink,M., Christian,H.C., Wray,J., Bishop-Bailey,D., Berney,D.M., Wass,J.A., Popovic,V., Ribeiro-Oliveira,A., Jr., Gadelha,M.R., Monson,J.P., Akker,S.A., Davis,J.R., Clayton,R.N., Yoshimoto,K., Iwata,T., Matsuno,A., Eguchi,K., Musat,M., Flanagan,D., Peters,G., Bolger,G.B., Chapple,J.P., Frohman,L.A., Grossman,A.B. & Korbonits,M. (2008) The role of the aryl hydrocarbon receptor-interacting protein gene in familial and sporadic pituitary adenomas. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, **93**, 2390-2401.
- Lidhar,K., Korbonits,M., Jordan,S., Khalimova,Z., Kaltsas,G., Lu,X., Clayton,R.N., Jenkins,P.J., Monson,J.P., Besser,G.M., Lowe,D.G. & Grossman,A.B. (1999) Low expression of the cell cycle inhibitor p27^{Kip1} in normal corticotroph cells, corticotroph tumors, and malignant pituitary tumors. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, **84**, 3823-3830.
- Minokoshi,Y., Alquier,T., Furukawa,N., Kim,Y.B., Lee,A., Xue,B., Mu,J., Fofelle,F., Ferre,P., Birnbaum,M.J., Stuck,B.J. & Kahn,B.B. (2004) AMP-kinase regulates food intake by responding to hormonal and nutrient signals in the hypothalamus. *Nature*, **428**, 569-574.
- Morris,D.G., Kola,B., Borboli,N., Kaltsas,G.A., Gueorguiev,M., McNicol,A.M., Ferrier,R., Jones,T.H., Baldeweg,S., Powell,M.P., Czirják,S., Hanzély,Z., Korbonits,M. & Grossman,A.B. (2003) Identification of ACTH receptor mRNA in the human pituitary and its loss of expression in pituitary adenomas. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, **88**, 6080-6087.
- Morris,D.G., Musat,M., Czirják,S., Hanzély,Z., Lillington,D.M., Korbonits,M. & Grossman,A.B. (2005) Differential gene expression in pituitary adenomas by oligonucleotide array analysis. *European Journal of Endocrinology*, **153**, 143-151.
- Musat,M., Korbonits,M., Kola,B., Borboli,N., Hanson,M.R., Nanzer,A.M., Grigson,J., Jordan,S., Morris,D.G., Gueorguiev,M., Coculescu,M., Basuand,S. & Grossman,A.B. (2005) Enhanced protein kinase B/Akt signalling in pituitary tumours. *Endocrine Related Cancer*, **12**, 423-433.
- Musat,M., Korbonits,M., Pyle,M., Gueorguiev,M., Kola,B., Morris,D.G., Powell,M., Dumitrache,C., Poiana,C. & Grossman,A.B. (2002) The expression of the F-box protein Skp2 is negatively associated with p27 expression in human pituitary tumors. *Pituitary*, **5**, 235-242.
- Nanzer,A.M., Khalaf,S., Mozid,A.M., Fowkes,R.C., Patel,M.V., Burrin,J.M., Grossman,A.B. & Korbonits,M. (2004) Ghrelin exerts a proliferative effect on a rat pituitary somatotroph cell line via the mitogen-activated protein kinase pathway. *European Journal of Endocrinology*, **151**, 233-240.
- Orkin,R.D., New,D.I., Norman,D., Chew,S.L., Clark,A.J.L., Grossman,A.B. & Korbonits,M. (2003) Rapid desensitisation of the growth hormone secretagogue (ghrelin) receptor to hexarelin *in vitro*. *Journal of Endocrinological Investigation*, **26**, 743-747.
- Osei-Hyiaman,D., Depetrillo,M., Pacher,P., Liu,J., Radaeva,S., Batkai,S., Harvey-White,J., Mackie,K., Offertaler,L., Wang,L. & Kunos,G. (2005) Endocannabinoid activation at hepatic CB(1)

- receptors stimulates fatty acid synthesis and contributes to diet-induced obesity. *Journal of Clinical Investigation*, **115**, 1298-1305.
- Owens, M., Stals, K., Ellard, S. & Vaidya, B. (2008) Germline mutations in the CDKN1B gene encoding p27Kip1 are a rare cause of multiple endocrine neoplasia type 1. *Clinical Endocrinology*,
- Ozawa, A., Agarwal, S.K., Mateo, C.M., Burns, A.L., Rice, T.S., Kennedy, P.A., Quigley, C.M., Simonds, W.F., Weinstein, L.S., Chandrasekharappa, S.C., Collins, F.S., Spiegel, A.M. & Marx, S.J. (2007) The parathyroid/pituitary variant of multiple endocrine neoplasia type 1 usually has causes other than p27Kip1 mutations. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, **92**, 1948-1951.
- Pellegata, N.S., Quintanilla-Martinez, L., Siggelkow, H., Samson, E., Bink, K., Hofler, H., Fend, F., Graw, J. & Atkinson, M.J. (2006) Germ-line mutations in p27Kip1 cause a multiple endocrine neoplasia syndrome in rats and humans. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, **103**, 15558-15563.
- Pyle, M.E., Korbonits, M., Gueorguiev, M., Jordan, S., Kola, B., Morris, D.G., Meinhardt, A., Powell, M.P., Claret, F.X., Zhang, Q., Metz, C., Bucala, R. & Grossman, A.B. (2003) Macrophage migration inhibitory factor expression is increased in pituitary adenoma cell nuclei. *Journal of Endocrinology*, **176**, 103-110.
- Ribeiro-Oliveira, A., Franchi, G., Kola, B., Dalino, P., Pinheiro, S., Salahuddin, N., Musat, M., Goth, M., Czirjak, S., Hanzely, Z., Silva, D., Paulino, E., Grossman, A. & Korbonits, M. (2008) Protein western array analysis in human pituitary tumours: insights and limitations. *Endocrine Related Cancer*, DOI: 10.1677/ERC-08-0003.
- Satta, M., Korbonits, M., Jacobs, R.A., Bolden-Dwinfour, D.A., Kaltsas, G., Vangeli, V., Adams, E.F., Fahlbush, R. & Grossman, A.B. (1999) Expression of menin gene mRNA in pituitary tumours. *European Journal of Endocrinology*, **140**, 358-361.
- Smith, R.G. (2005) Development of Growth Hormone Secretagogues. *Endocrine Reviews*, **26**, 346-360.
- Soares, B.S., Eguchi, K. & Frohman, L.A. (2005) Tumor deletion mapping on chromosome 11q13 in eight families with isolated familial somatotropinoma and in 15 sporadic somatotropinomas. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, **90**, 6580-6587.
- Sun, Y., Asnicar, M., Saha, P.K., Chan, L. & Smith, R.G. (2006) Ablation of ghrelin improves the diabetic but not obese phenotype of ob/ob mice. *Cell Metabolism*, **3**, 379-386.
- Sun, Y., Wang, P., Zheng, H. & Smith, R.G. (2004) Ghrelin stimulation of growth hormone release and appetite is mediated through the growth hormone secretagogue receptor. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, **101**, 4679-4684.
- Tschöp, M., Smiley, D.L. & Heiman, M.L. (2000) Ghrelin induces adiposity in rodents. *Nature*, **407**, 908-913.
- Tucci, S.A., Rogers, E.K., Korbonits, M. & Kirkham, T.C. (2004) The cannabinoid CB1 receptor antagonist SR141716 blocks the orexigenic effects of intrahypothalamic ghrelin. *British Journal of Pharmacology*, **143**, 520-523.
- Ukkola, O., Ravussin, E., Jacobson, P., Perusse, L., Rankinen, T., Tschöp, M., Heiman, M.L., Leon, A.S., Rao, D.C., Skinner, J.S., Wilmore, J.H., Sjostrom, L. & Bouchard, C. (2002) Role of ghrelin polymorphisms in obesity based on three different studies. *Obesity Research*, **10**, 782-791.
- Ukkola, O., Ravussin, E., Jacobson, P., Snyder, E.E., Chagnon, M., Sjostrom, L. & Bouchard, C. (2001) Mutations in the preproghrelin/ghrelin gene associated with obesity in humans. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, **86**, 3996-3999.
- Vax, V.V., Bibi, R., Diaz-Cano, S., Gueorguiev, M., Kola, B., Borboli, N., Bressac-de Paillerets, B., Walker, G.J., Dedov, I.I., Grossman, A.B. & Korbonits, M. (2003a) Activating point mutations in cyclin-dependent kinase 4 are not seen in sporadic pituitary adenomas, insulinomas or Leydig cell tumours. *Journal of Endocrinology*, **178**, 301-310.
- Vax, V.V., Gueorguiev, M., Dedov, I.I., Grossman, A.B. & Korbonits, M. (2003b) The Krüppel-like transcription factor 6 gene in sporadic pituitary tumours. *Endocrine Related Cancer*, **10**, 397-402.
- Vierimaa, O., Georgitsi, M., Lehtonen, R., Vahteristo, P., Kokko, A., Raitila, A., Tuppurainen, K., Ebeling, T.M., Salmela, P.I., Paschke, R., Gundogdu, S., De Menis, E., Makinen, M.J.,

- Launonen,V., Karhu,A. & Aaltonen,L.A. (2006) Pituitary adenoma predisposition caused by germline mutations in the AIP gene. *Science*, **312**, 1228-1230.
- Wiltshire,S., Frayling,T.M., Hattersley,A.T., Hitman,G.A., Walker,M., Levy,J.C., O'Rahilly,S., Groves,C.J., Menzel,S., Cardon,L.R. & McCarthy,M.I. (2002) Evidence for linkage of stature to chromosome 3p26 in a large u.k. Family data set ascertained for type 2 diabetes. *American Journal of Human Genetics*, **70**, 543-546.
- Zavarella,S., Petrone,A., Zampetti,S., Gueorguiev,M., Spoletini,M., Mein,C.A., Leto,G., Korbonits,M. & Buzzetti,R. (2008) A new variation in the promoter region, the -604 C>T, and the Leu72Met polymorphism of the ghrelin gene are associated with protection to insulin resistance. *International Journal of Obesity*, **32**, 663-668.
- Zhang,J.V., Ren,P.G., Avsian-Kretchmer,O., Luo,C.W., Rauch,R., Klein,C. & Hsueh,A.J. (2005) Obestatin, a peptide encoded by the ghrelin gene, opposes ghrelin's effects on food intake. *Science*, **310**, 996-999.

11 MELLÉKLET

Az értekezés alapjául szolgáló kiemelt közlemények másolatai

1. Lidhar et al., 1999	57
2. Korbonits et al., 2001	65
3. Gnanapavan et al., 2002	72
4. Korbonits et al., 2002a.	76
5. Korbonits et al., 2002b	80
6. Mozid et al., 2003	89
7. Orkin et al., 2003	94
8. Nanzer et al., 2004	99
9. Tucci et al., 2004	107
10. Goldstone et al., 2005	111
11. Kola et al., 2005	121
12. Korbonits et al., 2005	127
13. Morris et al., 2005	129
14. Hubina et al., 2006	138
15. Gueorguiev et al., 2007	147
16. Korbonits et al., 2007	151
17. Christ-Crain et al., 2008	161
18. Garcia et al., 2008a	173
19. Igreja et al., 2008	177
20. Kola et al., 2008c Plos One	184
21. Leontiou et al., 2008	192
22. Ribeiro-Oliveira et al., 2008	218
23. Gueorguiev et al., 2008a	234
24. Kola et al., 2008b JCEM	244