

dc_25_10

Akadémiai Doktori Értekezés Tézisei

**A hypothalamicus szabályozás egyes funkcióinak
vizsgálata**

Sótonyi Péter

**Budapest
2010**

Tartalomjegyzék

1. BEVEZETÉS.....	3
1.1 A hypothalamus funkciói	3
1.2 A nucleus suprachiasmaticus szerkezete és celluláris szerveződésének kialakulása különböző nemű egyedekben.....	3
1.3 A hypothalamicus hypocretin (orexin) szerepe a főemlősök energiaháztartásában	4
1.4 A ghrelin szerepe a hypothalamicus energia-homeostasis szabályozásában	4
1.5 A nucleus arcuatus melanocortin rendszerének neuroanatómiai szerkezete és szerepe a hypothalamicus szabályozásban	5
1.6 A hypothalamus plasztikus szabályozóműködésének szerepe az elhízásban.....	5
1.7 A hypothalamicus NTPDáz-3 purinerg rendszer celluláris szerkezetének morfológiai és funkcionális vizsgálata.....	6
2. CÉLKITŰZÉSEK.....	7
3. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK.....	8
3.1 Felhasznált gerinces állatok	8
3.2 Kísérleti elrendezések és egyéb beavatkozások	8
3.3 Immunhisztokémiai jelölések, ill. festések.....	9
3.4 Elektronmikroszkópos feldolgozás.....	10
3.5 Statisztikai elemzések	10
4. EREDMÉNYEK ÉS KÖVETKEZTETÉSEK.....	10
4.1 A nucleus suprachiasmaticus szerkezetének prenatális kialakulása hím és nőstény egyedekben.....	10
4.2 A hypocretin (orexin) hypothalamicus szabályozó-mechanizmusa főemlősökben.....	12
4.3 A Ghrelin szerepe a hypothalamus energiaháztartást szabályozó funkciójában	13
4.4 A nucleus arcuatus melanocortin rendszerének celluláris szerkezete és szerepe a szaporodás és a táplálkozás idegrendszeri szabályozásában	15
4.5 A hypothalamus plasztikus szabályozóműködésének szerepe az elhízásban.....	17
4.6 NTPDáz 3 hypothalamicus szerveződése, funkciója és energiaháztartásban betöltött szerepe.....	19
5. ÖSSZEFOGLALÁS.....	21
6. BIBLIOGRÁFIÁK.....	24
Az értekezés témakörében megjelent közlemények	24
A tudományos munkásságot meghatározó egyéb közlemények	25
Rövidítések jegyzéke	34
7. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	35

1. BEVEZETÉS

1.1 A *hypothalamus* funkciói

Az emlős köztiagy (diencephalon) három fő részből áll: epithalamus, thalamus és hypothalamus. A hypothalamus neve a görög hypo (ὑπό) = „alatt” és thalamosz (θάλαμος) = „szoba, terem” szóösszetételből ered, mivel a hypothalamus a diencephalon ventralis részén, a sulcus hypothalamicus alatt helyezkedik el, a III. agykamra alapját képezi. Minden gerinces állat rendelkezik hypothalamusszal, és funkciói az evolúció során szinte alig változtak. A hypothalamus elsődleges és alapvető funkciója a vegetatív idegrendszer és az endocrín rendszer működésének összehangolása illetve a homeostasis fenntartása. Több évtizedes, lassan egy évszázados kutatási eredmények világítottak rá arra, hogy a hypothalamus egyes magjaihoz ill. magcsoportjaihoz jól definiálható, egymástól eltérő szabályozó funkció köthető. Nem a teljességre törekedve néhány fontos és jól ismert, hypothalamicus területhez, anatómiai képlethez köthető funkciót felsorolásszerűen bemutatunk:

- a) táplálékfelvétel és táplálkozási viselkedés szabályozása, testsúlyszabályozás (*nucleus lateralis, nucleus ventromedialis, nucleus arcuatus*)
- b) folyadékfelvétel – szomjúság (*nucleus paraventricularis*)
- c) testhőmérséklet szabályozása (*nucleus anterior et posterior*)
- d) alvás-ébrenlét (cirkadián) ciklusos szabályozása (*nucleus suprachiasmaticus*)
- e) részvétel a memóriával és viselkedéssel kapcsolatos folyamatokban ill. szexuális viselkedés (*nucleus mamillaris, nucleus ventromedialis*)
- f) vegetatív idegrendszer szabályozása (*tractus hypothalamospinalis, medialis előagyi köteg, fasciculus longitudinalis dorsalis*)
- g) endocrín szabályozás (*hypothalamo-hypophyseális rendszer*: magnocelluláris magok: *nucleus paraventricularis et supraopticus*, parvocelluláris magok: *nucleus arcuatus*)

Az értekezésben azok a magok kerülnek funkcionális szempontból bemutatásra, amelyek a kutatások fókuszában álltak.

1.2 A *nucleus suprachiasmaticus* szerkezete és celluláris szerveződésének kialakulása különböző nemű egyedekben

A *nucleus suprachiasmaticus* (SCN) áll a legtöbb ciklikus, megvilágítási ritmushoz köthető (nappal-éjszaka) viselkedési, motoros aktivitási, testhőmérsékleti, alvási folyamat és viselkedési mintázat neuronális szabályozásának hátterében. A mag glutamáterg beidegződést kap a retina ganglion sejtjeitől, amelyek a külső megvilágítás mértékéről szállítanak ide információt, de érdekes, hogy nem alapvető fontosságúak ezek a bemenetek a SCN ritmikus működésének szabályozásához, mert vak egyedekben is fennmarad a SCN ritmicitása. A SCN-ban számos neurotranszmitter megtalálható, elsősorban vasopressin, vasoaktív intestinalis polypeptid (VIP), neuropeptid-Y (NPY), neurotenzin és rendkívül komplex belső és külső synapticus kapcsolatrendszere van. Leírtak dendro-dendritikus kapcsolatokat is a SCN területén. Arról azonban mind a mai napig kevés információ áll rendelkezésünkre, hogy a SCN miképpen képes a cirkadián ritmus létrehozására, fenntartására és szabályozására.

A SCN szerkezetében és méretében a különböző nemű egyedekben anatómiai különbségek figyelhetők meg: rágcsálókban a hím egyedek lényegesen nagyobb SCN-al rendelkeznek, más emlősökben pedig a hím és nőstény egyedek SCN-ának alakja tér el. Szintén eltérés figyelhető meg a SCN belső synapticus hálózatában és neuroendocrín sejtcsoportokhoz való projekciós viszonyában is. Számos adat utal arra, hogy a különböző nemű egyedekben megfigyelhető egyértelmű különbségek (pl. különböző cirkadián és szezonális ritmusok és ezekhez kapcsolódó lokomotoros aktivitás, ill. viselkedés, alvás-

ébrenléti ritmus és endocrin funkciók) hátterében a szexuálisan dimorph SCN szerkezet húzódik. Éppen ezért különösen fontos, hogy a SCN szexuális dimorfizmusát és annak kialakulását megértsük, alapjait tisztázzuk.

Az agy szexuális differenciálódását szteroid hormonok irányítják, amelyek hatásukat a fejlődő agyszövetre jól meghatározott időközönként fejtik ki. Ezek az ún. kritikus periódusok hím egyedek esetében a hím nemi hormon, a tesztoszteron termelés maximumaival (csúcsaival) hozhatók összefüggésbe. A tesztoszteront az aromatáz enzim alakítja ösztrogénné, amely az agy nemi differenciálódásáért nagymértékben felelős. Ezért a kritikus periódusokban emelkedett prenatális tesztoszteron szint „nyersanyag” szerepet tölt be, amely ösztrogénné transzformálódva az egyes agyi területek differenciálódásának kulcsszereplője. Ezért megvizsgáltuk a tesztoszteron idegrendszeri fejlődésre gyakorolt hatását az SCN és az IGL területén.

1.3 A hypothalamicus hypocretin (orexin) szerepe a főemlősök energiabáztartásában

Az energia-háztartás (energia-homeostasis) szabályozásában jól körülhatárolható központi idegrendszeri neuronális hálózatok vesznek részt, amelyek elsősorban hypothalamicus területeken lokalizálódnak, és igen érzékenyen reagálnak külső metabolikus jelekre. A humán hypothalamus normál és kóros működésről kialakított tudásunk nagy része azonban olyan kísérletekből származik, amelyben rágcsálókát használtak, és nagyon kevés ismeretünk van főemlősök energia-háztartásának hypothalamicus mechanizmusairól. Különösképp nem tisztázott az, hogy a hypothalamicus peptiderg energia-szabályozás rágcsálókban már régóta ismert hálózatainak főemlős megfelelője milyen idegrendszeri struktúrákhoz köthető, illetve, hogy a két rendszer hasonló felépítésű és működésű-e?

A hypocretin (HCRT, orexin) nevű peptid kizárólag a hypothalamus területén termelődik és régóta ismert, hogy rágcsálókban kulcsszerepet játszik számos endocrin, autonóm és metabolikus folyamatban. Különböző anyagcsere-változásokat követően patkányban számos, jól körülhatárolható hypothalamicus neuronpopulációban *c-fos* termelés indukálódik, amihez hasonló majmokban is megfigyeltek. Ezt a megfigyelést felhasználva arra kerestünk választ, hogy a majom hypothalamicus HCRT sejtek és post-synapticus célsejtjeik vajon aktiválódnak-e anyagcsere-változást követően.

1.4 A ghrelin szerepe a hypothalamicus energia-homeostasis szabályozásában

A nemrég felfedezett *ghrelin* nevű hormon számos fontos élettani funkció mediátora: befolyásolja a növekedési hormon szekrécióját, az energiabáztartás szabályozásához pedig elengedhetetlen. Ez a peptid hormont elsősorban a gyomor mirigyeiben termelődik. A ghrelin termelése és mRNS expressziója megnövekszik súlyvesztés vagy csökkent energia-bevitel, ill. inzulin-kiváltotta hypoglykémia hatására. Megnövekedett kalóriabevitel vagy krónikusan pozitív energiamérleg esetén a ghrelin termelése és elválasztása csökken. Ezért azt feltételezzük, hogy a ghrelin egyfajta, a tápcsatornából közvetlenül kiinduló „táplálkozási jelzőfunkció”-val rendelkezik. A ghrelin a növekedési hormon szekrécióját serkenti, növeli a táplálékbevitelt és csökkenti a zsír felhasználását a szervezetben. A ghrelin közvetlenül növeli az AGRP és NPY peptid mRNS expresszióját és a nucleus arcuatusban beindítja a *c-fos* termelést az AGRP és NPY tartalmú neuronokban. Érdekes, hogy a ghrelin a leptinnel ellentétes hatást fejt ki a nucleus arcuatus NPY és AGRP rendszerére (az NPY és AGRP immunpozitív sejtek gazdagok leptin receptorokban).

Ezért azt tűztük ki célul, hogy megvizsgáljuk, hogy a ghrelin milyen centrális mechanizmusokon keresztül szabályozza a táplálékfelvételben fontos szerepet játszó neuronális hálózatokat. Ehhez megvizsgáltuk a hypothalamicus ghrelin-expresszió mintázatát, azt, hogy mely neuronokon vannak specifikus ghrelinkötőhelyek, és a ghrelin elektrofiziológiai hatását.

1.5 A *nucleus arcuatus melanocortin* rendszerének neuroanatómiai szerkezete és szerepe a hypothalamicus szabályozásban

A GnRH neuronok különleges hypothalamicus sejtek, hiszen fejlődésük során a szaglóplacodból migráció révén jutnak el az előagyi preoptikus / Broca-féle diagonális köteg határterületére. A GnRH sejtek a mediobasalis hypothalamus eminentia mediana területére projektálnak, ahol a portális keringésbe juttatják az általuk termelt GnRH-t, ezáltal szabályozzák az anterior hypophysis sejtek LH-termelését. Szinte alig van információnk arról, hogy a GnRH expresszáló sejteknek mely egyéb agyterületekkel van kapcsolata, ha egyáltalán létezik ilyen. Ezért kíváncsiak voltunk arra, hogy a GnRH sejtek axonterminálisai vajon eljutnak-e a *nucleus arcuatus* POMC-termelő sejtjeihez, ill. létezik-e kapcsolat a két rendszer között. Mindkét rendszer kulcsszerepet játszik a hypothalamicus funkciókban: a GnRH sejtek a szaporodási funkciókban míg a POMC sejtek a táplálkozás, az energiafelhasználás és a glükóz homeostasis szabályozásához elengedhetelenek.

Mivel a *nucleus arcuatus* POMC sejtjei alapvető szerepet játszanak a táplálékfelvételben, működésükben bekövetkező zavar alapvetően befolyásolja az energiaháztartás szabályozását. Az inzulin és a zsírszövet által termelt leptin számos hypothalamicus központon keresztül fejtik ki hatásukat. Amint azt korábban már említettük, a *nucleus arcuatus* különösen gazdag leptin- és inzulin receptorokban. Az ARC területén ezek a receptorok éppen az étvágycsökkentő hatásukról ismert POMC-expresszáló sejtek felszínén fordulnak elő legnagyobb mennyiségben. A POMC tartalmú idegsejtekhez számos axon tér, közöttük mind a GABA, mind a glutamát tartalmúakat megtaláljuk, amely a ARC neuronok kiterjedt és sokszínű neuronális kontrolljára utal. Számos eredmény támasztja alá a serkentő és gátló bemenetek közötti egyensúly funkcionális jelentőségét és tudjuk, hogy ezen bemenetek befolyásolják az anyagcsere-háztartást. Érdekes, hogy a legtöbb POMC sejt csak az AMPA receptorok GluR-1-es altípusát expresszálja és csak néhányban fordul elő a GluR-2-es altípus.

A POMC neuronokon a GluR-1-es altípus dominanciája arra enged következtetni, hogy a glutamát kötődést követően kialakuló calcium beáramlás (influx) egy kalcium-kötő fehérje, a parvalbumin indukcióját okozza. Arra voltunk tehát a továbbiakban kíváncsiak, hogy a ARC ösztrogén kezelés hatására megnövekedett serkentő bemenetei befolyásolják-e a POMC sejtekben található parvalbumin expresszióját? Ezért kontroll és ösztrogénnel kezelt állatok ARC-nak vizsgálatát végeztük el, és a parvalbumin szintjének változásait követtük ösztrogén-kezelés hatására.

1.6 A *hypothalamus* plasztikus szabályozóműködésének szerepe az elhízásban

A mai napig nem kellően tisztázottak az elhízás hátterében húzódó pathológiás folyamatok. Egyáltalán nem ismert, hogy magas kalóriatartalmú táplálék tartós fogyasztása esetén miért hajlamosak egyesek elhízni, mások pedig ellenállni a súlygyarapodásnak.

A patkányokban megfigyelt táplálkozásfüggő elhízás számos tekintetben megfelel az embereknél tapasztalt elhízási folyamatoknak: magas kalóriatartalmú táplálék hatására elhízásra hajlamos (*Diet Induced Obesity* – DIO), és annak ellenálló (*Diet Resistent* – DR) patkányok ezen tulajdonságai ráadásul genetikailag öröklődnek. Mivel a patkányok ezen két genetikai változata magas kalóriatartalmú táplálék (*High Calorie Diet* - HCD vagy *High Fat Diet* - HFD) fogyasztása előtt egyformán soványak, és ezért tulajdonképpen morfológiai és anatómiai paramétereiknél fogva hasonlóak, rendkívül hasznos modellállatok lehetnek az elhízás pathogenesisének és idegrendszeri szabályozásának tanulmányozására. Segítségükkel megérthetjük a humán elhízás hátterében húzódó idegrendszeri folyamatokat.

Jelenlegi ismeretienk szerint a központi idegrendszer melanocortin rendszere a testsúlyszabályozás '*primum movens*'-e. Hibás melanocortin receptorokon (MC4R) keresztül

zajló jelátvitel, illetve nem megfelelő mennyiségű funkcionális endogén melanocortin agonista (amely a hypothalamus POMC termelő sejtjeiben termelődik) mind rágcsálókban, mind pedig emberben elhízási hajlamot alakít ki (DIO). Ezzel ellentétben, a nucleus arcuatus AGRP expresszáló sejtjeinek célzott elpusztítása - amely neuronok termelik az MC4R inverz agonistáját, és fiziológias körülmények között a POMC neuronokhoz tónikus gátlást közvetítenek - a táplálékfelvétel megszűnését, súlyos testsúlycsökkenést, és végül halált okozhat. Ugyanakkor a POMC-expresszáló neuronok nem megfelelő afferens stimulációja (pl. nem megfelelő leptin vagy inzulin mennyiség vagy szignalizáció) esetén csökken a melanocortin tónus a központi idegrendszerben, ami bizonyos esetekben hozzájárulhat az elhízási hajlam kialakulásához.

Az AGRP és POMC neuronok transzkripciós szabályozása mellett (melyben elsősorban a leptin, a ghrelin és egyéb afferens szignálmolekulák vesznek részt), a keringési rendszerben előforduló metabolitok lehetnek a melanocortin-AGRP rendszerre közvetlen hatással, nevezetesen megváltoztathatják ezen idegsejtek tüzelési ill. aktivitási mintázatát *in vitro*. Mindemellett számos bizonyíték támasztja alá, hogy azok a specifikus hypothalamicus és extrahypothalamicus neuronrendszerek között kialakult reciprok kapcsolatok - amelyek kulcsszerepet játszanak az energiaháztartás endocrin szabályozásának és az ezzel összefüggő viselkedési mintázatok kialakításában - megváltoznak metabolikus hormonok, pl. a leptin és a ghrelin hatására. Különösen a hypothalamicus POMC idegsejtekkel kapcsolatban álló serkentő és gátló bemenetek reagálnak intenzíven a periférás hatásokra, amelynek eredményeképpen a testsúlyszabályozás zavart szenved. Ezek a megfigyelések vezettek ahhoz a hypothesishez, miszerint a melanocortin rendszer bemeneti synapticus szerveződése ill. plaszticitása alapvetően befolyásolja az ún. „anyagcsere fenotípust”.

Ezt szem előtt tartva, azt vizsgáltuk, hogy vajon a POMC neuronok kvalitatív és kvantitatív bemeneti synapticus szerveződése különbözik-e az elhízásra hajlamos és a nem hajlamos állatok között, még azelőtt, hogy az adott állatra jellemző anyagcsere fenotípus kialakulna, és hogy a különböző metabolikus állapotokra adott válaszuk során van-e különbség a synapticus válasz tekintetében.

1.7 A hypothalamicus NTPDáz-3 purinerg rendszer celluláris szerkezetének morfológiai és funkcionális vizsgálata

A purinerg rendszer részét képező NTPDáz-3 immunreaktivitást kizárólag idegsejtek mutatnak és a legtöbb immunreaktivitás axonra emlékeztető képletekben volt, elsősorban a hypothalamus, a thalamus és a középagyi struktúrák területén. Immunreaktív sejttesteket kizárólag a hypothalamus nucleus lateralis és nucleus arcuatusa területén lokalizáltak. Mivel ezek a hypothalamicus magvak elsősorban a táplálékfelvétel és a reprodukció szabályozásában játszanak igen fontos szerepet, feltételeztük, hogy az NTPDáz-3 is résztvesz ezen funkciók szabályozásában. Ezek a következtetések csupán az NTPDáz-3 fénymikroszkópos feltérképezésén alapultak, és nincsen információnk ezen fontos purinerg jelátviteli rendszer subcelluláris megoszlásáról, architektúrájáról, ami elengedhetetlenül szükséges az NTPDáz-3 celluláris funkcióinak megértéséhez. Ezért tűztük ki célul, hogy feltérképezzük immunhisztokémia és elektronmikroszkópia segítségével az NTPDáz-3 intracelluláris elrendeződését. Arra is kíváncsiak voltunk, hogy vajon az NTPDáz-3 a serkentő, a gátló, esetleg mindkét rendszerrel kapcsolatban van-e. Mivel a ventrobasalis hypothalamus ismertén ösztrogén érzékeny, arra is kíváncsiak voltunk, hogy ösztrogén (17β -ösztradiol, E2) hatására hogyan változik meg az NTPDáz-3 mennyisége ovariectomizált, ill. ovariectomia után E2-kezelésen átesett nőstény patkányok hypothalamusa esetében.

2. CÉLKITŰZÉSEK

Kutatásunk legfontosabb célkitűzése, hogy felderítsük a hypothalamicus rendszer működésének egyes molekuláris, szerkezeti és celluláris hátterét, hogy ezáltal jobban megértsük ezen komplex agyterület működését és jelentőségét. Kutatásainkat az alábbi kérdések megválaszolása vezérelte.

A hypothalamicus nucleus suprachiasmaticus felnőtt állatban szexuálisan dimorph mag, amely dimorphismus az embrionális fejlődés során alakul ki. Igen kevés ismerettel rendelkezünk a nemek közötti különbségek kialakulásának mechanizmusáról, ezért kísérleteink során a következőket vizsgáltuk:

- *Nemre specifikus számban és eloszlásban vannak-e jelen késői prenatalis korban újonnan kialakuló SCN és IGL neuronok?*
- *Megváltozik-e a késői prenatalis korban újonnan kialakuló neuronok nemre specifikus száma és eloszlása a tesztoszteron hatására?*
- *Milyen neurokémiai természetűek az SCN-ban és IGL-ben újonnan keletkezett sejtek?*

A táplálékfelvétel szabályozásában szerepet játszó hypocretin-expresszáló neuronhálózat rágszálókban igen jól jellemzett, azonban a főemlősök esetében alig ismert az anyagcsereváltozások hatására létrejövő hypothalamicus synapticus válasz a HCRT rendszerben.

- *Megvizsgáltuk tehát, hogy milyen hatással van az anyagcsere-változás a főemlősök hypothalamicus hypocretin (orexin)-tartalmú sejtjeire és azok postsynapticus célsejtjeire?*

A gyomor-bélrendszer által termelt ghrelin hormon alapvető szerepet játszik a táplálékfelvétel szabályozásában, képes ellensúlyozni a zsírszövet által termelt leptin hatását. Számos adat utalt arra azonban, hogy endogén eredetű ghrelin is kulcsszerepet játszik a hypothalamus energiaháztartást szabályozó funkciójában. Kísérleteink során a centrális ghrelin rendszer celluláris és funkcionális tulajdonságaira voltunk kíváncsiak és a következő kérdésekre kerestünk válaszokat:

- *Milyen hypothalamicus mechanizmusokon keresztül képes a ghrelin a leptin energiaháztartásra gyakorolt hatásainak kiegyensúlyozására?*
- *Milyen szerepet játszik a ghrelin abban a komplex neuropeptid tartalmú idgerendszert hálózatban, amelyről régóta ismert, hogy kulcsszerepet játszik a táplálkozás és az anyagcsere szabályozásában?*

A hypothalamus nucleus arcuatus melanocortin rendszere kiterjedt specifikus kapcsolatai révén nemcsak az energiaháztartás hanem a szexuális funkciók szabályozásában is alapvető szerepet játszik. Az ARC POMC termelő neuronjainak synapticus környezete, kapcsolatainak jellege és az általuk termelt neuropeptidek és felszíni receptorok mennyiségi és minőségi jellemzői alapvetően befolyásolják ezen hypothalamicus mag funkcióját. Ezért az ARC celluláris és funkcionális vizsgálata során a következő kérdésekre kerestük választ:

- *Eljutnak-e a GnRH sejtek axonterminálisai a nucleus arcuatus POMC-termelő sejtjeibe, ill. létezik-e reciprok kapcsolat a két rendszer között?*
- *Befolyásolják-e a POMC sejtekben található parvalbumin expresszióját a nucleus arcuatus ösztrogén kezelés hatására megnövekedett serkentő bemenetei?*
- *Különbözik-e a POMC neuronok kvalitatív és kvantitatív bemeneti synapticus szerveződése azelőtt, hogy az adott állatra jellemző anyagcsere fenotípus kialakulna?*
- *A különböző metabolikus állapotokra adott válaszuk során mutatnak-e különbséget a melanocortin rendszer synapticus átrendeződésében az elhízásra hajlamos és nem hajlamos állatok?*

A purinerg jelátviteli rendszer tagja, az NTPDáz-3 ektonukleotidáz rágcáló agyban kizárólag a hypothalamus nucleus lateralis és nucleus arcuatus területén található idegsejtekben termelődik. Mivel mindkét mag alapvető szerepet játszik a táplálékfelvétel és a szexuális funkciók szabályozásában, az NTPDáz-3 rendszer vizsgálata során a következő kérdésekre kerestünk választ:

- *Milyen a hypothalamicus NTPDáz-3 intracelluláris szerveződése illetve serkentő és gátló rendszerekkel kialakított kapcsolata hím patkányokban?*
- *Hogyan változik meg ösztrogén hatására a hypothalamicus NTPDáz-3 mennyisége ovariectomizált, ill. ovariectomia után E2-kezeléssel átesett nőstény patkányoknál?*

3. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

3.1 Felhasznált gerinces állatok

Leggyakrabban Sprague-Dawley patkányokat és egereket használtunk, ill. egy esetben majmot (*Ceropithecus aethiops*). A kísérleteket minden érintett intézet etikai és állatvédelmi bizottsága jóváhagyta, azokat a hatályos jogszabályoknak és direktíváknak ill. rendeleteknek megfelelően végeztük. A kísérleteket embryonális (E18), valamint felnőtt, 3-5 hónapos Sprague-Dawley patkányokon, C57BL/6J egereken, ghrelin-KO egereken, NPY neuronokban sapphire-green fluorescent proteint (NPY-SFP) expresszáló transzgenikus egereken, green-fluorescent proteint POMC sejtekben (POMC-GFP) expresszáló transzgenikus egereken, valamint majmon végeztük.

3.2 Kísérleti elrendezések és egyéb beavatkozások

A kísérletekbe vont állatok fájdalmat nem, az exterminálás előtt csupán az altatószer beadásával járó kellemetlenséget érezték. A teljes érzéketlenség megállapítása után, a mellkas megnyitását követően az állatokat a bal szívkamrán keresztül perfundáltuk, majd az agy kiemelése után Vibratómmal készítettünk általában kb. 50-90 µm vastag metszeteket.

Tesztoszteronkezelés, BrDU beadás. A vemhes patkányok egyenként, műanyag ketrecekben voltak elhelyezve. A vemhes patkányok egyik fele naponta tesztoszteron propionát (TP, 10mg/0.1 mL szezám olaj) subcutan injekciót kapott a vemhesség 15. napjától egészen szülésig. A kontroll állatok csak vivőanyagot (szezám olajat) kaptak subcutan (n = 5, csoportonként). Minden vemhes patkány egyszeri, intraperitoneális 5-bromo-2'-deoxiuridin mitoticus jelzőanyagot tartalmazó injekciót (50mg/kg testsúly, Sigma) kapott a vemhesség 18. napján (E18 – 18. embryonális nap).

Ösztrogén és Kolchicin kezelés. Az ösztrogént bőr alá beültethető kristályos ösztradiollal töltött kapszulákon keresztül juttattuk az állatokba, melyeket anesztézia alatt ültettük be subcutan, intrascapulárisan. A kontroll állatokba üres kapszulát helyeztünk. Kolchicin beadás mindig a perfúzió előtt 24 órával történt, intracerebroventricularisan, ketamin anesztézia alatt.

Táplálék megvonás, ill. speciális táplálás

- *Majmok.* A majmokat két csoportba osztottuk (n = 3 csoportonként). Az egyik csoport 24 órán keresztül nem kapott táplálékot, míg a másik csoport *ad libitum* fogyasztott.
- *Patkányok.* Felnőtt 7 hónapos DIO és DR patkányokat használtunk fel táplálkozási kísérleteinkhez (outbred Sprague-Dawley elhízásra hajlamos (DIO) és nem hajlamos (DR) patkányok, szelekíven tenyésztve). Az állatokat egyesével helyeztük el ketrecekben, 22 °C-ot, és 12 órás megvilágítási ciklust alkalmaztunk. N = 6 db testsúly és életkor szempontjából megegyező patkányt vizsgáltunk egy csoportban, amelyek a következők voltak: DIO-SD, DIO-HFD, DR-SD, DR-HFD. Az állatok 3 hónapig normál (standard) vagy magas zsírtartalmú táplálékot kaptak. A testsúly hetente egyszer mértük. A testösszetételt minden patkány esetében NMR technológiával vizsgáltuk (Teljes

Testösszetétel Analízis, EchoMRI). A méréseket minden patkány esetében elvégeztük a 3 hónapos táplálási periódus végén.

- *Egerek.* Az NPY ill. POMC sejtek synapticus bemenetét elhízásra hajlamos ill. nem hajlamos egereken is vizsgáltuk. 6 hetes C57BL/6J egerek GFP- NPY (C57Bl) és GFP-POMC (C57 Bl6) egerekkel keresztezett változatát standard vagy magas zsírtartalmú táplálékkal etettünk ad libitum 20 ill. 37 hétig. Az NPY és POMC sejtek synaptológiáját 20 hét után vizsgáltuk a SD ill. HFD táplált állatok agyából készült metszeteken. A kapillárisok számát és átmérőjét is kvantifikáltuk a metszeteken.

Immunoassay és Western Blot. A plazma leptin és inzulinszintje Luminex Multiplex Analizátorral került meghatározásra. A plazma teljes ghrelin szintjének meghatározása kereskedelmi forgalomban elérhető, rutin radioimmunoassay vizsgálattal történt. Standard western blot eljárással jelenítettük meg az immunreaktív sávokat, amelyeket kemilumineszcens röntgenfilmekben detektáltuk.

3.3 Immunhisztokémiai jelölések, ill. festések

Fluoreszcens jelölés: A metszeteket a primer antitestekkel történő inkubáció után fluoreszcens festékekkel jelölt szekundér antitestekkel történő inkubáció követte, majd tárgylemezre kerültek Vectashield (Vector) beágyazó anyag segítségével.

Immunperoxidáz immunhisztokémia: primer antitestekkel történő inkubáció után a szekundér antitest ebben az esetben biotinylát, amit mosás után ABC komplexben vagy Extravidinben történő inkubáció követett. Az immunpozitív elemeket 3,3'-Diaminobenzidinnel (DAB) vagy többes jelölés esetén először nikkkel-ammónium-szulfát-konjugált diaminobenzidinnel (Ni-DAB) jelenítettük meg ismételt mosást követően.

Kettős jelölés esetén az első lépést mosás követte, majd a másik vizualizálni kívánt megfelelő szekundér antitesttel inkubáltuk a metszeteket, de ebben az esetben nem Nikkel-ammónium-szulfát-konjugált diaminobenzidin (Ni-DAB), hanem DAB segítségével jelenítettük meg az immunpozitív elemeket. Így barna - fekete (esetenként sötétkék), egymástól jól és megfelelően elkülöníthető immunjelölt képleteket kaptunk. *Hármas jelölés* esetén a metszeteket először 24 órán keresztül HCRT és *c-fos* antiszérumban inkubáltuk (a HCRT az ARC területén nincsen jelen a sejttestekben, a *c-fos* viszont csak sejtmagokban lokalizálódik), és az ABC módszer valamint Ni-DAB segítségével vizualizáltuk, ami feketés színt eredményez. Az NPY jelölésére ezt követően került sor, „hagyományos” DAB reakcióval, amely barnás színt eredményezett.

Tükör technika alkalmazása kolokalizáció megállapításához: Egymást követő metszeteket párosítottuk, a pár egyik felét (esetünkben) NTPDáz-3, másik felét GAD primér ellenanyaggal inkubáltuk, majd a standard immunhisztokémiai (peroxidáz) feldolgozáson mentek keresztül a metszetsíkok. A metszetsíkokat később összevetettük és a kolokalizáció mértékét meghatároztuk. A mikroszkópos feldolgozás során minden esetben a metszetek felszínére fókuszáltunk és digitális képeket rögzítettünk különböző nagyításokkal. A metszet megfelelő területeit az erek és a sejtek mintázata alapján azonosítottuk.

Pre- és posztembedding (beágyazás előtti és utáni) immunarany jelölés: A metszetek a peroxidáz immunhisztokémiánál említett módon kerültek feldolgozásra a szekundér antiszérumból. Mosás után azonban 10 nm-es arany-jelölt antitesttel inkubáltuk 3 óra hosszan, szobahőmérsékleten. A mosást és utófixálást követően OsO₄-ban történő posztfixálás következett az elektrondenzitás növelése céljából. Alkoholos és propilén-oxidos dehidrált követően a metszeteket Durcupan műgyantában ágyaztuk be. Posztembedding (beágyazás utáni) immunarany jelölés során az elektronmikroszkópos metszeteken a következő lépéseket végeztük el, 1 grid/csepp inkubációs konfigurációban, standard postembedding technika laklamazásával. Ezt második immunarany jelölés is követheti, esetünkben GABA, ekkor a fent

ismertetett lépéseket kell megismételni, de ekkor tengerimalac-anti GABA antiszérumot használtunk és a szekundér antitest 10 nm-es arany konjugált anti-tengerimalac IgG volt.

3.4 Elektronmikroszkópos feldolgozás

OsO₄-ban történő posztfixálás, majd uranil-acetátos inkubálás következett az elektrondenzitás növelése céljából. Alkoholos és propilén-oxidos dehidrált követően a metszetek Durcupan ill. műgyantában kerültek beágyazásra, Aclar lapok közé. Polimerizáció és blokk-készítés után Reichert ultramikrotómmal készült 70 nm vékony metszetek réz-gridekre kerültek. A kontrasztozás Sato-féle ólommal történt. A metszetek Philips TECNAI ill. JEOL elektronmikroszkópokban kerültek megtekintésre és analízisre.

3.5 Statisztikai elemzések

Az adatok átlag $\pm$ s.e.m.-ként (standard hiba) kerültek megadásra. A statisztikai szignifikancia szintje $P \leq 0.05$, minden kísérletben. A morfometriai analízis a minta csoportba tartozásának tudta nélkül, vakon lett elvégezve. Az adatok kiértékeléséhez Student-féle t-próbát vagy egyutas ANOVA Tukey's összehasonlító vizsgálatot használtunk. Fisher LSD post-hoc analízist használtunk post-hoc tesztként, amikor arra szükség volt.

4. EREDMÉNYEK ÉS KÖVETKEZTETÉSEK

4.1 A *nucleus suprachiasmaticus* szerkezetének prenatális kialakulása hím és nőstény egyedekben

A BrDU-jelölt sejtek megoszlása a SCN és a IGL területén

A hypothalamuson belül a BrDU jelölt sejtek egyértelműen azonosíthatóak voltak az area preopticus medialis, area preopticus lateralis, a hypothalamus anterio-lateralis területein, valamint a stria terminalis magvaiban. BrDU jelölt sejtek nagy számban voltak jelen a SCN, a nucleus arcuatus és a nucleus tubero-mammillare területén is.

A SCN kérgi (shell) és központi területeit (core) neuropeptid-Y (NPY) immunfestés segítségével határoztuk meg, amely szelektíven a SCN központi, core területén fordul elő. A BrDU jelölt sejtek a SCN teljes rostrocaudalis tengelye mentén előfordultak. Megállapítottuk, hogy a sejtszámban nem volt különbség az egyes SCN szegmensekből származó metszetek között. A SCN-on belül, a BrDU jelölt sejtek a dorsalis szegmensben domináltak, a kéreggel határos területen. Ennek ellenére, a SCN központi területének ventralis részén is megfigyeltünk BrDU jelölt sejteket. Az IGL területén a BrDU jelölés sokkal visszafogottabb volt és elsősorban kisebb sejtmagok jelölődtek.

Nemi különbségek a SCN és IGL területén a BrDU jelölt sejtek megoszlásában

Statisztikai elemzéssel kimutattuk, hogy a BrDU jelölt sejtek száma csökken a SCN területén prenatális tesztoszteron kezelés hatására. Érdekességgéppen, a sejtszám nem különbözött szignifikánsan a hím és nőstény egyedek között. A BrDU jelölt sejtek száma ugyanakkor egyes alrégiókban különbséget mutatott a nemek között a SCN rostrocaudalis tengelye mentén. Statisztikailag szignifikánsan kimutatható volt, hogy ez a nemek között megfigyelt BrDU jelölésbeni különbség a prenatális tesztoszteron-kezelés hatásának köszönhető.

Hasonlóan, a SCN caudalis részén található BrDU jelölés szignifikánsan több sejtet érintett a csak vivőanyaggal kezelt nőstények esetében, mint a hím egyedek ugyanezen területén, és a különbség tesztoszteron kezelés esetén is megmaradt. A SCN többi részén tesztoszteron kezelés hatására a BrDU jelölt sejtek száma drámaian csökkent. Általánosságban

megállapítható azonban, hogy a SCN központi és kérgi területei között nem volt detektálható különbség a tesztoszteron hatás szempontjából.

Nem találtunk szignifikáns különbséget a rostralis SCN BrDU-jelölt sejtszámában a metszetek összehasonlító vizsgálatakor. Tesztoszteron kezelés hatására ugyanakkor szignifikánsan csökkent ebben a rostralis subregióban a BrDU jelölt sejtek száma, és a tesztoszteron ezen hatása sokkal nyilvánvalóbb nőstényekben.

A BrDU jelölt sejtek fenotípusának meghatározása

A SCN ventrolateralis területén találtunk VIP-BrDU kettősjelölt sejteket. A ventralis területen igen szembetűnőek voltak. A legtöbb VIP-BrDU kettősjelölt sejt a ventrolateralis SCN központi területén (core) fordult elő, ill a chiasma opticum területén találtunk még ilyen populációt. BrDU jelölést egyáltalán nem találtunk GFAP-t expresszáló asztorcytáknak. GFAP immunoreaktív gliasejtek nagyobb mennyiségben a SCN ventromedialis területén lokalizálódtak, míg a BrDU jelölt sejtek a SCN dorsolateralis részén voltak nagyobb számban jelen. SCN területén mind a kérgi, mind a központi részen előfordultak calbindin immunreaktív sejtek, különösen a medialis területen, az anterio-posterior sík mentén. Kettős immunjelölést alkalmazva jól láthatóvá vált, hogy a két marker igen markáns kolokalizációt mutat.

Megbeszélés

BrDU-jelölés segítségével megállapítható tehát, hogy milyen nemek közötti különbségek fordulnak elő a SCN területén. Eredményeink egyértelműen jelzik, hogy a kritikus periódus alatt keletkező SCN sejtek szexuálisan differenciáltak.

Eredményeink kimutatták, hogy a nőstény kontroll állatok több BrDU-jelölt sejttel rendelkeznek a medialis és caudalis SCN területeken, mint a hímek, ill., hogy a kísérletek során alkalmazott tesztoszteron kezelés drámaian lecsökkenti a BrDU jelölt sejtek számát a nőstény SCN teljes területén.

A kettős immuncitokémiai jelölésekkel sikerült kimutatnunk, hogy az E18. napon keletkező sejtek neurokémiai változatosak, és egyik specifikus fenotípus proliferációjához sem köthető kizárólagosan a BrDU-jelölés. A BrDU-jelölt sejtek lokalizációja alapján megállapíthatjuk, hogy a jelölt sejtek közül a VIP pozitívak a SCN központi részén, az AVP-pozitívak a kérgi területeken, a calbindin immunpozitív sejtek pedig mind a központi, mind pedig a kérgi területeken megtalálhatóak. Jóllehet a BrDU-jelölt sejtek elsősorban a dorsalis régió központi és perifériás területén koncentráálódtak, olyan sejtek, amelyek a ventralis SCN-ban lokalizálódtak szintén expresszáltak VIP-t. Kutatási eredmények rávilágítottak, hogy a patkány és hörcsög SCN ventralis területei korábban kifejlődnek, mint a dorsalis részek, és csak kevés sejt proliferációját figyelték meg a fejlődés kései szakaszában. VIP sejteket megfigyeltek az SCN fejlődés korai szakaszában is. Eredményeink szerint azonban biztosan történik VIP tartalmú sejtproliferáció a patkány SCN fejlődésének kései szakaszában is.

Különösen érdekes azonban a BrDU és a calbindin kolokalizáció kiterjedt mivolta. A calbindin azon kalcium-kötő fehérjék közé tartozik, amelyek igen fontos szerepet játszanak az agy fejlődésében, meghatározzák egyes sejtpopulációk sorsát azáltal, hogy apoptosist, vagy proliferációt indukálnak, esetleg védelmet nyújtanak neurokémiai káros behatások ellen. Ezért, lehetséges, hogy a calbindin, vagy akár más kalcium-pufferolásra képes kalcium-kötő fehérjék kulcsszerepet játszanak a SCN szexuális dimorphismust eredményező szerkezetének kialakításában.

Mivel a felnőtt nőstény agyban az IGL területén nagy mennyiségben található szteroid hormon receptor, és ez a terület kiterjedt kapcsolatokkal rendelkezik olyan neuroendocrin sejtcsoportokkal, amelyek egyértelműen szexuálisan differenciálódott fiziológiás funkcióval rendelkeznek, azt vártuk, hogy az IGL területén a BrDU-jelölés mintázatban is lesznek a

különböző nemű egyedekben különbségek. A SCN-al ellentétben azonban nem tudunk kimutatni ilyet a E18. napon. A jelölt sejtek alacsony számából következően valószínűsíthető, hogy az IGL területén a sejtproliferáció nincs szinkronban az SCN-ban zajló hasonló folyamatokkal.

Eredményeink tehát egyértelműen bemutatták, hogy a SCN területén szexuálisan dimorph sejtpopulációk találhatóak, és a nőstény egyedekben több ilyen sejt található, amelyek az aromatizációs aktivitás csúcsán keletkeztek. Ez a sejtpopuláció nagy valószínűséggel résztvesz a szex-specifikus folyamatok szabályozásában, amelyek elsősorban reprodukciós és viselkedési mintázatokban jelentkeznek.

4.2 A hypocretin (orexin) hypothalamicus szabályozó-mechanizmusa főemlősökben

HCRT a majom hypothalamusban

Immunhisztokémiai festést követően a majom hypothalamus HCRT mintázata megfelelt a már korábban megfigyelt mintázatnak. HCRT immunpozitív sejtek kizárólag a lateralis hypothalamusban, a fornix körüli régióban és valamivel kisebb mennyiségben a dorsomedialis hypothalamusban voltak jelen. A HCRT immunpozitív sejtekből projektáló axonok gazdag hálózatot alakítottak ki számos hypothalamicus magban. Nem tapasztaltunk egyértelmű és nyilvánvaló eltérést az éheztetett és kontroll állatok HCRT immunreaktív struktúráiban.

c-fos immunreaktivitás

Kontroll majmokban a medialis preopticus area (MPOA), a periventricularis régió, a paraventricularis terület (mind a parvo- ill. magnocelluláris részek), az anterior hypothalamus, a nucleus suprachiasmaticus, nucleus arcuatus dorsomedialis és ventromedialis területén volt homogén, egyenletes megoszlású, mérsékelt mennyiségű *c-fos* jelölt sejtmag. Az éheztetett állatokban azonban a *c-fos*-jelölt sejtek mennyisége jelentősen különbözött a kontroll állatokban megfigyelt megoszlástól, az alábbi területeken figyeltünk meg szignifikánsan magasabb mennyiségű *c-fos* immunreaktív sejtet: MPOA, lateralis hypothalamus preformicalis területe, nucleus arcuatus, nuclei dorsomediales.

c-fos a HCRT sejtekben

c-fos immunreaktivitást mindkét megvizsgált csoport (kontroll és éheztetett) HCRT termelő sejteinek sejtmagjaiban ki lehetett mutatni. Nem volt különbség a kontroll és az éheztetett állatok HCRT-jelölt sejteinek átlagában sem. Ugyanakkor a *c-fos*-t expresszáló sejtek mennyisége a HCRT sejtek százalékos arányához viszonyítva egyértelműen és szignifikánsan magasabb volt az éheztetett állatokban a kontroll állatokhoz képest.

HCRT-immunreaktív synapsysok a c-fos tartalmú sejteken

Azokon a területeken, ahol szignifikánsan megemelkedett éheztetést követően a *c-fos* szintje (ezek a MPOA, nucleus arcuatus, lateralis hypothalamus preformicalis területe, nucleus dorsomedialis), akár a kontroll, akár az éheztetett csoportot vizsgáltuk, nem találtunk olyan *c-fos* immunreaktív sejtet, amellyel ne alakított volna ki synapticus kapcsolatokat több HCRT immunpozitív axon is. A synapticus kapcsolat fajtáját elektronmikroszkópos szinten megvizsgáltuk és minden esetben aszimmetrikus synapsysnak bizonyult a kapcsolat. A nucleus arcuatusban, ahol megemelkedett éheztetést követően a *c-fos* expressziója, és NPY sejtek is jelen vannak, a HCRT tartalmú boutonok az NPY/*c-fos* kettősjelölt sejtek közelében helyezkedtek el.

Megbeszélés

Kutatási eredményeinknek köszönhetően először nyertünk betekintést a főemlősök anyagcsere-szabályozásában résztvevő HCRT-tartalmú hypothalamicus szignáltranszdukciós rendszerbe. Az, hogy rövid táplálékmegevőzés hatására is erőteljesen aktiválódik a laterális hypothalamicus HCRT rendszer, amelynek ráadásul kiterjedt kapcsolatai vannak a homeostasis szabályozásában fontos szerepet játszó egyéb hypothalamicus központokkal arra enged következtetni, hogy a főemlős hypothalamicus HCRT rendszernek fontos koordináló szerepe van a különböző autonóm, endocrin és metabolikus folyamatokban.

Egy korábbi tanulmányban, a majom nucleus arcuatusában erőteljes HCRT innervációt írtak le, ahol a HCRT immunreaktív axonok NPY tartalmú sejteket innerváltak. Hogy ez a főemlősökben leírt arcuatus-NPY rendszer részt vesz-e a HCRT táplálkozást szabályozó funkciójában még nem tisztázott, de rágsálókban már nagyrészt bebizonyosodott egy ilyen funkció. Mindenesetre az a jelen munkában megfigyelt szerveződés, hogy a ARC éhezés hatására aktiválódó NPY sejtei HCRT bemenettel rendelkeznek, alátámasztja ezt a feltételezést. Ugyanakkor az is lehetséges, hogy az éheztetés hatására a HCRT neuronok aktiválódására csak később, a ARC aktiválása után kerül sor. Az ARC NPY sejteit nagy valószínűséggel védelmezi a véragy-gát, ill. az ARC közvetlen laterális hypothalamicus összeköttetése majmokban nem kifejezett. Az is valószínűsíthető, hogy a HCRT rendszer jól ismert alvás-ébrenléti szabályozási funkciója szenved zavart az éheztetés során, és ez befolyásolja a HCRT szabályozási funkcióit.

4.3 A Ghrelin szerepe a hypothalamus energiaháztartást szabályozó funkciójában

A ghrelin agyi expressziója

Ghrelin-immunreaktív sejtesteket lokalizáltunk mind a patkány, mind pedig az egér hypothalamusban. Ezen sejtestek egy folyamatos sáv mentén helyezkedtek el, amely kitöltötte a laterális hypothalamus (LaH), a nucleus arcuatus (ARC), a ventromedialis hypothalamus (VMH), a dorsomedialis hypothalamus (DMH) és a nucleus paraventricularis (PVN) közötti területet, ill. benyomult a harmadik agykamra ependymális rétegébe. Ugyanezekkel az antiszérumokkal ghrelin knock-out egerekben nem találtunk sem ezeken az agyterületeken, sem pedig a gyomorban jelölődést.

Ghrelin erőteljesen expresszáldott axonokban is, és az immunjelölés az axonterminálisokban gyakran ún. „denz-core” vezikulákkal asszociálódott. A ghrelin-tartalmú axonterminálisok számos hypothalamicus magot innerváltak, többek között az ARC, DMH, LaH és PVN magokat. Az energiaháztartás szabályozásában fontos szerepet játszó hypothalamicus központok közül a nucleus arcuatus területén fordultak elő ghrelin tartalmú boutonok, ahol az NPY/AGRP és a POMC (pro-opiomelanocortin) tartalmú neuronok dendritjeivel és sejtestjeivel hoztak létre synapticus kapcsolatokat. Fény- és elektronmikroszkópos egyes- és kettős-immunhisztokémiai jelölések használatával egyértelművé vált, hogy a ghrelin tartalmú boutonok közvetlen synapticus kapcsolatokat hoznak létre NPY és GABAerg axonterminálisokkal az ARC és PVN területén.

A ghrelin elektrofiziológiailag mérhető hatása

A ghrelin növelte az NPY sejtek aktivitását, a megnövekedett aktivitás a kimosást követően vizatért eredeti szintjére. Ez a hatás azt valószínűsíti, hogy a ghrelin megnöveli az NPY és AGRP felszabadulást a nucleus arcuatus NPY/AGRP célneuronjainál.

Patch-clamp elektrofiziológiai beállítást használva, vizuálisan azonosítani tudtunk POMC idegsejteket a nucleus arcuatus területén, és azt figyeltük meg, hogy 50-100 nM ghrelin hatására a POMC neuronokra érkező spontán gátló postsynapticus áramok (spontaneous

inhibitory postsynaptic currents (IPSCs) frekvenciája megnövekedett, akár 300%-kal is. A GABA POMC neuronokra gyakorolt hatásával párhuzamosan a POMC idegsejtek spontán aktivitása lecsökkent és egy kismértékű, de szignifikáns hyperpolarizációs hatás jelentkezett, amely értelemszerűen ezen neuronok akciós-potenciál frekvenciájának csökkenésével járt.

A GABA_A receptorok (GABA_AR) picrotoxinnal történő blokkolása nem változtatta meg a POMC neuronok ghrelin-kiváltotta, ami azt valószínűsíti, hogy a ghrelin nem a GABA, hanem valamilyen egyéb faktor felszabadulását serkentette. Legvalószínűbb, hogy az NPY felszabadulás növekedett, amely viszont képes a POMC neuronok hyperpolarizációjára. Ha GABA_AR és a POMC neuronokon előforduló NPY Y1 receptor altípust együttesen blokkoltuk, a ghrelin-kiváltotta hyperpolarizáció eltűnt, ugyanakkor paradox módon a ghrelin POMC neuronokra gyakorolt depolarizációs hatása jelent meg. Ez a hatás nagy valószínűséggel a ghrelin NPY/AGRP/GABA terminálisok AGRP szekrécióját serkentő hatásával hozható összefüggésbe, mivel az AGRP antagonizál a POMC neuronok auto-inhibítoros melanocortin-3-receptorain keresztül kiváltotta tónikus gátlásával.

NPY adagolása minden esetben meggátolta a PVN ghrelin szenzitív neuronjainak IPSC-jét. Megfigyeltük, hogy a ghrelin és az NPY ugyanazon PVN neuronok ugyanazon bemeneteire fejt ki hatását, hasonló módon.

A PVN ghrelin-szenzitív neuronjainak neuropeptid-fenotípusának meghatározásához a perforált patch-clamp kísérletek végén biocytinnel töltöttük fel ezeket a sejteket és CRH ill. TRH (thyreotrop-serkentő hormon, thyrotropin – releasing hormon) tartalmukat vizsgáltuk immuncytokémiaili módszerekkel. A húsból nyolc neuron CRH immunpozitív volt, ebből a nyolcból hét mutatott csökkent IPSC-t ghrelin hatására. A húsból mindössze kettő neuron expresszált TRH-t, és ezek közül egyik sem volt ghrelin-szenzitív.

Megbeszélés

A ghrelin neuronok anatómiája

Az általunk megfigyelt ghrelin-immunreaktív neuronok egy folyamatos sáv mentén helyezkedtek el a lateralis hypothalamus (LaH), a nucleus arcuatus (ARC), a ventromedialis hypothalamus (VMH), a dorsomedialis hypothalamus (DMH) és a nucleus paraventricularis hypothalami (PVN) területén. Ez a különleges megoszlás nem esik egybe egyik ismert, hypothalamicus energia-háztartást szabályozó neuronpopuláció megoszlásával sem. Feltételezhető ezért, hogy a ghrelin igen fontos szerepet játszik a központi idegrendszerben mint endogén faktor, a már ismert perifériás hormon-hatásán túl.

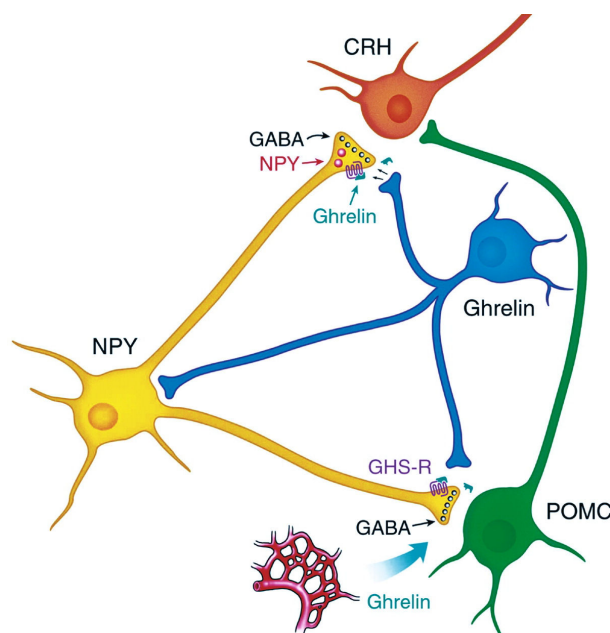
Az elektronmikroszkópos vizsgálatok alapján egyértelmű, hogy a ghrelin jelen van hypothalamicus neuronokban, valamint, hogy ghrelin tartalmú axonterminálisok olyan hypothalamicus peptiderg rendszerekkel állnak kapcsolatban, amelyek az anyagcsere szabályozásában alapvető játszanak (mint pl. az AGRP ill. POMC termelő idegsejtek a nucleus arcuatusban, vagy a CRH ill. TRH termelő neuronok a nucleus paraventricularisban). A ghrelin és az NPY rendszer közötti egyértelmű anatómia kapcsolat mindenképpen megerősíti a ghrelin szerepét a táplálékfelvétel idegrendszeri neuronköreinek szabályozásában.

A ghrelin működés központi idegrendszeri modellje

A felvázolt anatómiai és fiziológiai eredmények alapján létrehoztuk a ghrelin energia-háztartás szabályozásában betöltött szerepét bemutató modellt. A ghrelin expresszálo hypothalamicus sejtpopuláció egybeesik a hypothalamus internuclearis területével, pont ahová a nucleus suprachiasmaticusból ill. a ventralis lateralis thalamus területéről érkezik projekció. Mivel a cirkadián és napi ritmusért elsősorban a nucleus suprachiasmaticus felel közösen a thalamus ventralis lateralis területével, megalapozott azt feltételezni, hogy az általunk leírt központi ghrelin neuronhálózat felelős a cirkadián ill. vizuális információk táplálékfelvételt

szabályozó célneuronokhoz való eljuttatásáért, amely egybevág a ghrelin táplálkozást/táplálkozási viselkedést aktiváló hatásával is.

A hypothalamicus ghrelin neuronok efferens terminálisai megfelelő és hatékony kapcsolatot hoznak létre ahhoz, hogy megváltoztassák ill. modulálják a GABAerg NPY tartalmú terminálisok működését (ld. színes ábra). Bemutattuk, hogy a ghrelin stimulálja az NPY/AGRP neuronok aktivitását, elsősorban az axonterminálisokra kifejtett hatásán keresztül. Ez a megnövekedett aktivitás nagy valószínűséggel megnöveli az NPY/AGRP neuronokból a neuropeptidek és neurotranszmitterek felszabadulását. Erről a folyamatról viszont igen régóta ismert, hogy integráló szerepet tölt be a táplálékfelvétel beindításában és az energiafelhasználás csökkentésében. Ezért elmondhatjuk, hogy az általunk leírt hypothalamicus ghrelin neuronhálózat valószínűleg kulcsszerepet játszik majd mind a humán medicinában az elhízás elleni harcban, mind pedig az állati takarmányozás területén.



A ghrelin és egyéb hypothalamicus neuronkörök kapcsolatának sematikus ábrázolása. A ghrelin aktivitás hypothalamicus modellje. A hypothalamicus ghrelin tartalmú axonok az NPY tartalmú terminálisokat presynapticusan érik el a ARC és a PVN területén. A ghrelin GHS receptorokhoz kötődik és ezeken keresztül fejt ki hatását, amely által az NPY axonterminálisok aktivitása megnő. A ghrelin a GABA felszabadulását is serkenti, és nagy valószínűséggel az NPY és AGRP felszabadulást is megnöveli. Ez a megnövekedett GABA és neuropeptid felszabadulás szabályozza a POMC és CRH neuronok postsynapticus aktivitását. A véráramból ide jutó ghrelin is a GHS receptorokon keresztül fejt ki hatását, de nem valószínű, hogy ilyen módon fizikailag hozzáfér a PVN területén található GHS-receptorokhoz.

4.4 A *nucleus arcuatus melanocortin* rendszerének celluláris szerkezete és szerepe a szaporodás és a táplálkozás idegrendszeri szabályozásában

A melanocortin és a GnRH rendszer anatómiai viszonya

Számos esetben figyeltük meg, hogy a POMC jelölt sejttestek közvetlen kapcsolatban voltak GnRH-immunjelölt boutonokkal. A megvizsgált 100 bouton közül 25 POMC immunreaktív sejttest és/vagy proximális dendrit alakított ki közvetlen kapcsolatot GnRH-pozitív axonnal. Korrelált elektronmikroszkópos vizsgálataink alátámasztották, hogy ezek direkt, fizikai kapcsolatok GnRH axonterminálisok és a POMC tartalmú sejttestek között. Ugyanakkor egyik elektronmikroszkópban megvizsgált kapcsolat sem bizonyult klasszikus synapticus membránspecializációnak.

Ösztrogén-kezelés hatása a melanocortin rendszer parvalbumin expressziójára

A kontroll (nem ösztrogén-kezelt) patkányok ARC neuronjainak parvalbumin-tartalmát vizsgálva azt találtuk, hogy csak kevés idegsejt expresszálja ezt a kalcium-kötő fehérjét. Ösztrogén-kezelés hatására azonban a parvalbumint expresszáló sejtek száma drámaian megemelkedett. Kontroll állatokhoz képest a parvalbumin immunpozitív sejtek száma növekedett az ösztrogén kezelt állatokban.

Ismert, hogy az ösztradiol megnöveli az arcuatus magban a POMC neuronok serkentő bemeneteinek számát még a GluR-2 receptoraltípus hiányában is. Mivel a GluR-2-es altípus kalcium influxot indukál amely megnövekedett parvalbumin expresszióval jár, megvizsgáltuk, hogy vajon az ösztrogén megnöveli-e az arcuatus mag POMC neuronjainak parvalbumin expresszióját. Azt találtuk, hogy mindegyik parvalbumin expressziót mutató neuron egyben POMC tartalmú is volt.

Megbeszélés*GnRH immunreaktivitás a nucleusban*

A leptinhez hasonlóan, a gonadális szteroid hormon, az ösztrogén is képes - hypothalamicus szabályozófunkcióján keresztül - a táplálékbevitelt és a testzsír mennyiségét csökkenteni, ezzel párhuzamosan megnövelni az energiafelhasználást, mind állatokban, mind pedig emberben, nemtől függetlenül. Valójában az ösztrogén hypothalamicus GnRH neuronhálózatára kifejtett hatása szükséges ahhoz, hogy megtörténjen a GnRH szakaszos felszabadulása, amely végül is a LH jó ismert pulzáló felszabadulási mintáját eredményezi. Egyértelmű tehát, hogy mind a gonadális input, mind pedig az anyagszere aktuális állapota (amelyért nagyrészt a leptin felelős) erőteljes hatást gyakorol a GnRH neuronok aktivitására, és ezáltal a gonadális tengely megfelelő működésére. Ugyanakkor nem ismert, hogy ezek a GnRH neuronok vajon kapcsolatban állnak-e azokkal a melanocortin tartalmú neuronokkal, amelyek kulcsfontosságúak az energiaháztartás szabályozásában. Eredményeink egyértelműen kimutatták, hogy a nucleus arcuatus területén található GnRH tartalmú efferensek közvetlen kapcsolatban vannak a POMC expresszáló sejttestekkel. Ugyan nem láttunk klasszikus, synapticus membránspecializációt a két rendszer között, de a közvetlen fizikai kapcsolat morfológiailag megalapozza, hogy a GnRH axonok befolyásolják tudják a POMC sejtek elektromos tulajdonságait.

A parvalbumin expresszió változása ösztrogén-hatásra

Kísérleteink során azt is megfigyeltük, hogy ösztrogén hatására megnövekszik a POMC sejtek parvalbumin expressziója. Ismert az ösztrogén táplálékbevitelt és elzsírosodást csökkentő hatása is. Ennek megfelelően feltételezhető, hogy a magasabb ösztrogén szint megnöveli a POMC sejtekbe irányuló kalcium influxot, ami nagy valószínűséggel a POMC sejtek aktívabb tüzelését és a fent leírt szisztémás hatásokat eredményezi.

Az ösztradiol hypothalamicus plaszticitást befolyásoló hatását már régóta ismerjük. A nucleus arcuatusban az ösztradiol szignifikánsan csökkenti a synapticus denzitások méretét (feltehetően GABAerg afferensek érintettek) és a glutamát receptorok számának emelésén keresztül növeli a serkentő neurotranszmissziót. Éppen a POMC sejtek esetében figyelték meg, hogy az ösztradiol növeli a serkentő synapticus bemenetek számát a sejttestjeiken és a POMC tónust, amely végül csökkenő táplálékbevitelben, valamint testzsír- és súlycsökkenésben realizálódik. Feltételezhető, hogy a hypothalamicus táplálkozás-szabályozó neuronkörök az energiaháztartás egyik alapvető és nem elhanyagolható részét képezik. A leptin és ösztrogén receptorok hypothalamicus kolokalizációja felveti annak lehetőségét, hogy az ösztradiol, a leptinhez hasonlóan, közvetlenül a melanocortin sejteken hat és ugyanazokat a synapticus plaszticitásért felelős géneket aktiválja, mint a leptin.

Az ösztrogén POMC neuronokban parvalbumin expressziót fokozó hatása valószínűleg a megnövekedett AMPA-receptor mediálta glutamaterg aktiváció indirekt, valamint a megnövekedett kalcium influx közvetlen következménye lehet. Elképzelhető, hogy a melanocortin sejtek ilyen módon védekeznek a megnövekedett kalcium-influx sejthalált indukáló hatása ellen, tehát a parvalbumin termelés egy protektív mechanizmus a POMC sejtekben.

Az ösztrogén parvalbumin expressziót serkentő hatása rövidtávon ésszerű mechanizmusnak tűnik, hiszen így a POMC sejteket úgy lehet kalcium-influx függő módon gyorsabb tüzelésre bírni, hogy közben nem károsodnak. Azonban, ha ez a kalcium beáramlás krónikus méreteket ölt, a POMC sejtek nem képesek fenntartani a megnövekedett aktivitást és apoptotikus sejtpusztulási folyamatok beindulása várható. Ismert, hogy magas ösztrogéndózisok hatására a hypothalamus POMC sejtei szelektíven elpusztulnak. Az még tisztázásra vár, hogy csak az ösztrogén képes ilyen hatást kiváltani a POMC sejtekben, vagy más, ezen sejtek aktivitását növelni képes egyéb faktor is hasonló eredményre vezet. Ennek a folyamatnak a tisztázása döntő fontosságú lehet a különböző táplálkozással, természetes öregedéssel, elhízással kapcsolatos kórképek kóroktanának megértéséhez, és hozzájárulhat ahhoz, hogy olyan gyógyszereket tudjunk kifejleszteni amely a POMC sejtek tónusát effektíven tudják befolyásolni.

4.5 A hypothalamus plasztikus szabályozóműködésének szerepe az elhízásban

A DIO és DR patkányok testtömege nem különbözött a kísérletek kezdetén és nem volt testsúly-különbség a kísérletek végén sem, abban az esetben, ha standard táplálékot fogyasztottak az állatok. Ez arra utal, hogy a két állat-törzs közötti anyagcsere és elzsírosodási különbség csak magas kalóriatartalmú vagy magas zsírtartalmú táplálék fogyasztása esetén jelenik meg.

A POMC sejtek synapticus bemeneti szerveződése DIO és DR patkányokban

Standard táplálékbevitel esetén, illetve amikor még a testsúly és az anyagcsereprofil a két patkánytörzs között hasonló volt, a DIO patkányok POMC neuronjai több synapticus kapcsolattal rendelkeztek, mint a DR patkányok ugyanezen sejtei. A DR patkányok POMC sejttestjein az aszimmetrikus és szimmetrikus synapticus kapcsolatok száma nem különbözött, azonban DIO patkány POMC sejttestjein szignifikánsan több szimmetrikus, gátló synapticus kapcsolatot találtunk, mint serkentő, asszimmetrikusat.

Három hónapos magas zsírtartalmú táplálék (HFD) bevitelt követően a hypothalamicus ARC POMC neuronjainak synapticus kapcsolatai mindkét patkánytörzsben megváltoztak: a DR patkányok esetében megnövekedett a teljes synapsys-szám a standard, kiindulási állapothoz viszonyítva. HFD bevitel során a DIO patkányokban azonban ezzel ellentétes, synapsys-szám csökkenést tapasztaltunk. A serkentő (tehát aszimmetrikus) synapticus kapcsolatok száma egyik kísérleti felállásban sem mutatott szignifikáns eltérést. Standard táplálékbevitel esetén a DIO patkányok jóllakottságérzés kiváltásáért felelős POMC sejttestjein több gátló synapticus kapcsolat volt, mint a DR patkányok POMC sejteiben, természetesen hasonló táplálkozás esetén.

Asztrogliát a DIO és DR patkányokban

A HFD-n tartott DIO patkányok esetében, a POMC sejtek sejttestjein alacsonyabb synapsys-számot regisztráltunk, ugyanakkor a sejtek felszínén a gliaborítottság megnövekedett. DIO patkányok melanocortin sejteinek felszínén szignifikánsan több asztrocyta-végtag fordult elő, mint a DR állatok neuronjainak felszínén.

A melanocortin rendszer synapticus bemeneteinek vizsgálata egerekben standard és magas kalóriatartalmú táplálkozás esetén

A továbbiakban GFP-NPY és GFP-POMC expresszálo egértörzseken vizsgáltuk meg az NPY/AGRP és POMC sejtek bemeneti synapticus szerkezetét különböző kalóriatartalmú táplálási kondíciókat alkalmazva. Megfigyeltük, hogy HFD táplálást követően mind a POMC-mind pedig az NPY-expresszálo neuronok felszínére érkező synapsys-szám lecsökkent, azonban eltérést tapasztaltunk a két rendszer változásai között: míg a synapsys-szám csökkenés a POMC sejtek esetén a szimmetrikus, gátló kontaktusokat érintette elsősorban, addig az NPY sejtek esetében az aszimmetrikus, serkentő bemenetek száma csökkent.

Hypothalamicus gliasejtek vizsgálata egerekben standard és magas kalóriatartalmú táplálkozás esetén

A patkánytörzseken végzett megfigyeléseinknek megfelelően, HFD táplálás eredményeképpen megnőtt a nucleus arcuatusban a GFAP immunjelölt profilok mennyisége a GFP pozitív sejtek környezetében pedig megnőtt a glianyúlványok mennyisége. Mind a POMC mind pedig az NPY-expresszálo sejtek esetében szignifikánsan nőtt a gliális borítottság a HFD táplálású egerek esetében, a standard táplálkozású társaikhoz viszonyítva. Amikor ezeket a sejteket elektronmikroszkóppal megvizsgáltuk azt találtuk, hogy a nucleus arcuatus POMC és NPY expresszálo sejtjeinek az erekhez való viszonya drámaian megváltozott. Standard táplálás esetén gyakran előfordult, hogy a POMC és NPY tartalmú sejtek erek közvetlen szomszédságában helyezkedtek el. Ilyen elrendeződés esetén, a neuronális profilokat egy vékony glia(nyúlvány)-réteg választotta el az ereket bélelő endothel sejtektől.

Megbeszélés

Az elhízásra hajlamosító tényezők ill. az „elhízási rezisztencia” mögött húzódó molekuláris háttér igen kevésbé ismert. A kísérleteinkben használt polygenetikus DIO és DR patkány- és egér modellek jól közelítik a humán populációban jelentkező elhízásos pathomechanizmusokat. A legnagyobb előnye ezeknek az állatoknak, hogy még az elhízás előtti állapotban vizsgálhatók rajtuk az elhízás háttérben húzódó molekuláris mechanizmusok. A DIO patkányok számos jellemzőikben eltérnek a hasonló testzsír-mennyiséggel rendelkező DR társaiktól. Ugyanakkor a mai napig semmilyen synaptológiát érintő háttérmechanizmust nem sikerült azonosítani, ami a már meglévő ill. HFD táplálás hatására kialakuló különbségekért felelős lenne.

A POMC neuronok synapticus kapcsolatrendszere DIO és DR patkányokban

Eredményeink kimutatták, hogy az elhízásra hajlamos DIO patkányok a DR patkányokhoz képest szignifikáns és tipikus különbségeket mutatnak a POMC neuronok synapticus kapcsolatrendszerében, még hasonló anyagcsere állapot és standard táplálási körülmények között is. A még nem elhízott DIO állatok nucleus arcuatus POMC sejtjein megnövekedett gátló tónus figyelhető meg DR társaikhoz képest. Ez a synapticus organizáció rávilágít arra, hogy miért hajlamosabbak a DIO patkányok elhízásra HFD táplálás esetén. Azonban amint a magas kalória- és zsírtartalmú táplálék bevezetésre került, a DIO és DR állatok POMC neuronjai egészen különböző synapticus plaszticitással reagálnak a megváltozott metabolikus állapotra. Ezt az a tény támasztja alá, hogy a DIO állatok POMC idegsejtjei (amelyek működésüket tekintve anorexigén hatásúak!) elvesztik synapticus kapcsolataik egy részét, de a megmaradt bemenetek közül magasabb a serkentő synapsysok aránya, míg a DR állatok POMC neuronjai HFD táplálás hatására több synapticus bemenetet fogadnak, és az újonnan kialakult kapcsolatok között több a gátló hatású.

Táplálkozás indukálta astrocyta változások

Mindkét modell-rendszer esetében megfigyelhető volt, hogy megváltozott a sejttestek közvetlen környezetében és a neuropilben megfigyelhető astrocyta-profilok mennyisége („reaktív gliosis”) HFD táplálás hatására. Érdekes párhuzam figyelhető meg a metabolikus változás hatására bekövetkező gliaválasz és a lézió (ill. trauma) hatására kialakuló „távoli glia válasz” (remote astrocytic response) között. Korábbi elektronmikroszkópos vizsgálataink során ugyanis megfigyeltük, hogy a corpus geniculatum laterale kísérletes lézióját követően a primer vizuális kéregben megnövekedett mind a GFAP immunfestés, mind az astrocyta végtalpak mennyisége. A metabolikus hatás eredményeképpen létrejött reaktív gliosis sok tekintetben megegyezik a korábban megfigyelt távoli gliaválasz esetén megfigyelhető gliosisal. Mindkét esetben a synapticus bemenetek számának lokális változása volt megfigyelhető. Ugyankor reaktív gliosis gyakran gyulladásos folyamatok kísérőjelensége is lehet. Annak megértése azonban, hogy HFD táplálás hatására milyen folyamatok zajlanak le a nucleus arcuatusban, amelyek ilyen irányban befolyásolják az asztrocytákat, még várat magára.

4.6 NTPDáz 3 hypothalamicus szerveződése, funkciója és energiaháztartásban betöltött szerepe

Fény-és elektronmikroszkópos vizsgálatok

Elektronmikroszkópos vizsgálataink megállapították, hogy NTPDáz-3 immunreaktív a nyúlvány-szerű struktúrák között mind dendritek, mind pedig axonok előfordulnak. A dendritekben előfordult cytosolban lokalizálódó, ribosomákhoz asszociálódott, ill. mitokondriális jelölés. Myelinizált axonokban és axon-terminálisokban azonban csak mitokondriális immunreaktivitás volt megfigyelhető. Immunreaktivitás gyakran fordult elő aszimmetrikus (feltehetően serkentő) synapticus membrán-specializáció közelében, de szimmetrikus, azaz feltehetően gátló synapsysok esetében nem találtunk NTPDáz-3 immunjelölést.

Az LaH és ARC magvak sejttestjeiben az immuncsapadék a cytoplasmában elsősorban szabad ribosomákhoz kötődött, azonban a jelölés döntő többsége endoplasmaticus reticulumhoz asszociálódott ribosomák közelében volt megtalálható. A mitokondriumokhoz köthető NTPDáz-3 immunreakció elsősorban azok belső membránjához asszociálódott. Az immunjelölt mitokondriumok jellemzően aszimmetrikus synapticus membránspecializációk közelében helyezkedtek el (serkentő synapsysok), mind a presynapticus terminális, mind pedig a postsynapticus profilokban, valamint a dendritekben egyaránt előfordultak.

Western blot; az ösztrogén hatása a hypothalamicus NTPDáz expressziójára

Mivel NTPDáz-3 immunreaktív sejtek a hypothalamus területén csak a LaH és az ARC területén fordultak elő, izolált medialis és laterális hypothalamicus szövetmintákat vettünk az ovariectomizált és az ösztrogén kezelt állatokból, és megvizsgáltuk western blot technikával, milyen hatással van az ösztrogén kezelés a hypothalamicus NTPDáz-3 expressziójára. Mind idő-, mind pedig ösztrogén-függő eltéréseket figyeltünk meg a laterális és a medialis hypothalamicus területen. Ugyanakkor az NTPDáz-3 enzim időbeni változásai eltérő mintázatot mutatott a két terület között. A LaH területén az enzim mennyisége szignifikáns emelkedett az E2 subcutan beadását követő 4-12 óra elteltével, majd a beadást követően 16-26 órával fokozatosan visszatért az eredeti (ovariectomizált állatnál megfigyelt) expressziós szintre. Ettől eltérő változásokat detektáltunk a medialis hypothalamus területén: 6-10 órával az E2 kezelést követően az enzim szintje megemelkedett, majd gyorsan visszaesett a kontrol szintre, amit egy második emelkedés követett 22-26 órával az eredeti E2 beadást követően. Tehát a laterális hypothalamus területén csupán egy enzim-expressziós csúcs, míg a

medialis hypothalamus területén (ahol a nucleus arcuatus is megtalálható) két ilyen enzim termelési csúcs jelentkezett.

Megbeszélés

Fény és elektronmikroszkópia

Korábbi tanulmányok alapján az ismert volt, hogy az NTPDáz-3 kizárólag neuronokban és azok nyúlványaiban van jelen. Kísérleteinkben ezt megerősítettük, és leírtuk immunreaktív sejttestek jelenlétét a LaH és a ARC területén, a többi hypothalamicus területen azonban csak immunreaktív nyúlványok (axonok ill. dendritek) jelenlétét detektáltuk, gyakran erek közelében, azokkal szoros morfológiai kapcsolatban.

A korrelált fény- és elektronmikroszkópos vizsgálatok kimutatták, hogy az NTPDáz-3 a sejtmembrán bizonyos, jól körülhatárolható szegmensében van jelen. Ez összhangban van az NTPDázokról kialakult korábbi ismereteinkkel, hiszen ezen enzimek transzmembrán fehérjeként foszforilált nukleotidokat hidrolizálnak a sejten kívül. A sejten belül az NTPDáz-3 kisebb mennyiségben szabad riboszómákhoz asszociálódva, de elsősorban endoplasmaticus reticulum felszínéhez kötött riboszómák közelében fordult elő. Az immunjelölés harmadik fontos helyszíne a sejten belül mitochondriumokhoz asszociálódott. Mivel jelölt mitochondriumok elsősorban serkentő, aszimmetrikus synapsysok közelében fordultak elő, feltételezhető, hogy az NTPDáz-3 aktivitás elsősorban a serkentő synapticus működéshez kötődik funkcionálisan, és nem játszik jelentős szerepet a gátló funkciókban.

Ösztrogén hatása a hypothalamicus NTPDáz-3 expressziójára

Kísérleteink azt mutatták, hogy egyszeri E2 subcután beadását követően az NTPDáz-3 expresszió megnövekedett mindkét hypothalamicus területen már néhány órával a kezelést követően, azonban az expresszió időbeli lefutása a két területen különböző mintázatot mutatott. Mivel a mediobasalis hypothalamus (ahol a nucleus arcuatus is elhelyezkedik) kulcsszerepet játszik a bifázikus gonadotróp szekrécióban (vagyis a gonadotróp szekréció pozitív- és negatív-feedback szabályozásában is részt vesz), feltételezzük, hogy a hypothalamus medialis részében az NTPDáz-3 részt vesz a gonadotróp hormonok ösztrogén által kifejtett szabályozásában. Korábban megfigyelték, hogy az E2-kiváltotta gonadotropin felszabadulást követően, E2 függő synapticus reorganizáció történik a hypothalamicus neuronokon. Az E2 közvetlen hatásaként a serkentő synapsysok számának gyors emelkedését figyeltük meg, és ezen megnövekedett serkentő bemenetek nagy valószínűséggel érintik az NTPDáz-3 expresszálo sejteket is, hiszen több aszimmetrikus serkentő synapticus specializáció több ATP felhasználást jelent, ami értelemszerűen több NTPDáz-3 tartalmú mitochondrium jelenlétét teszi szükségessé.

A lateralis hypothalamusból származó mintákon az NTPDáz-3 expressziójának szintje 4 órával az E2 beadást követően megemelkedett, majd fokozatosan lecsökkent, és később visszaállt az ovariectomizált állatban található szintre. Korábbi tanulmányokból tudjuk, hogy a lateralis hypothalamus NTPDáz-3 expresszálo sejteinek túlnyomó többsége hypocretint is expresszál. Ezekről az idegsejtekről ismert, hogy közvetlen befolyást gyakorolnak a nucleus raphe serotoninerg sejteire és ezáltal részt vesznek az alvás-ébrenléti ciklus szabályozásában. Tehát elképzelhető, hogy az E2 alvás-ébrenléti ciklust szabályozó hatása az NTPDáz-3 expresszálo sejtek aktivitásán keresztül manifesztálódik.

5. ÖSSZEFOGLALÁS

Munkánk célja az volt, hogy jobban megérthessük a hypothalamus homeostasisban betöltött szabályozó funkcióit és olyan új információkhoz jussunk, amelyek elmélyítik ezen igen komplex agyterületről kialakított tudásunkat. Ezért a hypothalamus bizonyos specifikus magcsoportjait vizsgáltuk meg, elsősorban neuroanatómiai módszerekkel, amely által számos új celluláris, szerkezeti és működési elvre bukkantunk.

A hypothalamusban található a cirkadián ritmus kialakításáért felelős *nucleus suprachiasmaticus*. A SCN-ről már régóta ismert, hogy szerkezetében és méretében a különböző nemű egyedekben anatómiai különbségek figyelhetők meg, nemcsak rágsálókban, hanem más emlősben is. Ez a szexuális dimorphismus húzódik meg a különböző nemű egyedekben megfigyelhető jellemző különbségek (pl. különböző cirkadián és szezonális ritmusok és ezekhez kapcsolódó lokomotoros aktivitás, ill. viselkedés, alvás-ébrenléti ritmus és endocrin funkciók) hátterében. Ismert tény az is, hogy a nemek közötti eltérés alapvetően az embrionális fejlődés során alakul ki, amikor a hypothalamus egyes magcsoportjai, ill. azon belül a különböző neuropeptid tartalmú sejtpopulációk differenciálódnak. Mivel a szteroid hormonoknak rendszerező, struktúra kialakító szerepük van a hypothalamicus neuronhálózatok fejlődésére, kézenfekvő volt, hogy megvizsgáljuk, gyakorolnak-e hatást a szteroidok az SCN fejlődésére.

- *Kutatási eredményeink egyértelműen rámutattak, hogy az embrionális fejlődés kritikus periódusa alatt keletkező SCN sejtek szexuálisan differenciálódnak és hogy a nőstény kontroll állatok több újonnan keletkezett sejtrel rendelkeznek a medialis és caudalis SCN területeken, mint a hímek.*
- *Eredményeink szerint a tesztoszteron kezelés drámaian lecsökkenti újonnan keletkező sejtek számát a nőstény SCN teljes területén.*
- *Továbbá megállapítottuk, hogy az SCN sejt differenciálódása legalább az embrionális 18. napig folytatódik, de az IGL területén a sejtproliferáció nincs szinkronban az SCN-ban zajló hasonló folyamatokkal.*

A hypothalamus az energia-háztartást alapvetően a táplálékfelvétel szabályozásán keresztül képes befolyásolni. Rágsálók hypothalamicus szabályozórendszerének neuroanatómiai alapjait viszonylag behatóan ismertük, azonban a főemlősök megfelelő szabályozórendszerének hypothalamicus neuroanatómiai alapjairól nem álltak rendelkezésre adatok. Megvizsgáltuk tehát, hogy főemlősökben is megtalálható-e az a hypothalamicus hypocretin rendszer, amelyről rágsálókban már bebizonyosodott, hogy a táplálékfelvételben alapvető szerepet játszik. Kísérleteink során a hypocretin rendszer hypothalamicus szerveződését és annak reakcióját vizsgáltuk megváltozott anyagcserekörülmények között majomokban.

- *Leírtuk a főemlősök metabolikus szabályozásban résztvevő HCRT-tartalmú hypothalamicus szignáltranszdukciós rendszer neuroanatómiai organizációját;*
- *Megfigyeltük, hogy a nucleus arcuatus éhezés hatására aktiválódó NPY sejtei HCRT bemenettel rendelkeznek;*
- *Megállapítottuk, hogy a rágsálókhoz hasonlóan, rövid táplálékmegegyezés hatására erőteljesen aktiválódik a lateralis hypothalamus HCRT rendszere főemlősökben*

Ismert, hogy a gyomor-bélrendszerben felszabaduló ghrelin hormonális úton befolyásolni tudja a táplálékfelvételt, és részben kompenzálja a zsírszövet által termelt leptin hatását. Korábbi vizsgálatok azonban kimutatták, hogy a véragygáton nem képes a keringő ghrelin a hypothalamicus energiaháztartást-szabályozó központokhoz eljutni, ezért felmerült

annak lehetősége, hogy létezik egy endogén, centrális ghrelin-expresszálo hálózat a hypothalamus területén. Megvizsgáltuk tehát, a központi idegrendszer ghrelin-termelő sejtjeinek neuroanatómiai szerveződését és funkcionális jellezőit. Munkánk egy új, eddig nem ismert ghrelint expresszálo hypothalamicus sejtpopulációt írt le.

- *Leírtuk a ghrelin hypothalamicus neuroanatómiai organizációját, megoszlását és megállapítottuk, hogy e rendszer nem esik egybe egyik ismert, hypothalamicus energia-háztartást szabályozó neuronpopuláció megoszlásával sem.*
- *Elektronmikroszkópos vizsgálatok alapján egyértelművé vált, hogy a ghrelin jelen van hypothalamicus neuronokban, valamint, hogy ghrelin tartalmú axonterminálisok olyan hypothalamicus peptiderg rendszerekkel állnak kapcsolatban, amelyek az anyagcsere szabályozásában kulcsszerepet játszanak.*
- *Bemutattuk, hogy a ghrelin stimulálja a nucleus arcuatus NPY/AGRP neuronok aktivitását, elsősorban az axonterminálisokra kifejtett hatásán keresztül.*

A hypothalamicus energia-homeostasis szabályozásában már régóta ismert a nucleus arcuatus melanocortin rendszerének alapvető szerepe. Az arcuatus mag POMC termelő sejtjei nemcsak a táplálékfelvétel, de bizonyos szexuális funkciók során is kulcsszerepet játszanak. A POMC sejtek kiterjedt synapticus kapcsolataik révén számos hypothalamicus szabályozómechanizmus megkerülhetetlen építőkövei. Pl.: a leptin GnRH aktivitásra gyakorolt hatását a nucleus arcuatusban található pro-opiomelanocortin (POMC) neuronok közvetítik, de az is ismert, hogy a POMC tartalmú idegsejteket számos GABA (gátló) ill. glutamát (serkentő) axon idegzi be, amely a ARC neuronok kiterjedt és sokszínű neuronális kontrolljára utal és tudjuk, hogy ezen bemenetek befolyással bírnak az anyagcsere-háztartásra. Kíváncsiak voltunk arra, hogy az arcuatus mag POMC sejtjei közvetlen kapcsolatban állnak-e a GnRH rendszerrel és hogyan változik meg ezen sejtek neurokémiai jellege szteroid nemi hormonok (pl. ösztrogén) hatására.

- *Kísérleti eredményeink egyértelműen kimutatták, hogy a nucleus arcuatus területén található GnRH tartalmú efferensek közvetlen kapcsolatban vannak a POMC expresszálo sejttestekkel, azonban ez a kapcsolat nem klasszikus synapticus jellegű.*
- *Megfigyeltük, hogy a nucleus arcuatus POMC neuronjainak csak igen kevés százaléka expresszálo parvalbumint, azonban ösztrogén hatására a parvalbumint expresszálo sejtek száma drámaian megemelkedik.*

A hypothalamus alapvető szerepet játszik a táplálkozással összefüggő elhízás kialakításában és létrjöttében. Ismert, hogy vannak olyan egyedek ill. egyének, amelyek elhízásra hajlamosabbak, mint társaik, de ennek a különbségnek az okát, esetleges idegrendszeri hátterét nem, vagy csak alig ismertük. Az előbb vázolt jelenség idegrendszeri ill. neuroanatómai hátterét azonban rendkívül jól lehet vizsgálni olyan modellállatokon, amelyek genetikailag ismert elhízási hajlammal rendelkeznek. Amennyiben az ilyen állatok hypothalamicus szabályozórendszerének celluláris szerveződését hasonlítjuk elhízási hajlammal nem rendelkező egyedekhez, számos új információhoz juthatunk, és megérthetjük az elhízás hátterében álló idegrendszeri plasztikus folyamatokat.

- *Eredményeink kimutatták, hogy az elhízásra hajlamos DIO patkányok a DR patkányokhoz képest szignifikáns és tipikus különbségeket mutatnak a POMC neuronok synapticus kapcsolatrendszerében, még hasonló anyagcsere állapot és standard táplálási körülmények között is;*
- *Megállapítottuk, hogy magas kalóriatartalmú táplálkozás hatására mind a POMC, mindpedig az NPY sejtekre érkező teljes synapsys-szám lecsökkent és ennek a synapsys-szám csökkenésének hátterében a POMC sejtek esetében a gátló kontaktusok, az NPY sejtek esetében pedig a serkentő bemenetek számának változása játszotta a döntő szerepet;*

- *megfigyeltük, hogy megnőtt a sejtestek közvetlen környezetében és a neuropilben megfigyelhető astrocyta-profilok mennyisége („reaktív gliosis”).*

Mivel a purinerg jelátviteli rendszer tagja, az NTPDáz-3 ektonukleotidáz rágcsáló agyban kizárólag a hypothalamus nucleus lateralis és nucleus arcuatus területén található idegsejtekben termelődik és mindkét mag alapvető szerepet játszik a táplálékfelvétel és a szexuális funkciók szabályozásában, megvizsgáltuk az NTPD-áz-3 rendszer celluláris szerveződését.

- *Megfigyeltük, hogy NTPDáz-3 immunreaktív sejtestek vannak a LAH és a ARC területén, míg a hypothalamus többi területén elsősorban erekkel kapcsolatot kialakító immunpozitív profilokat lehetett vizualizálni,*
- *Kimutattuk, hogy subcellularisan az NTPD-áz-3 elsősorban sejtmembrán-szegmensekhez, riboszómákhoz, endoplasmaticus reticulumhoz és mitochondriumokhoz asszociálódik.*
- *Megállapítottuk, hogy az NTPDáz-3 elsősorban serkentő típusú sejtekben termelődik. Kísérleteink kimutatták, hogy egyszeri ösztrogén-beadást követően az NTPDáz-3 expresszió már néhány órával a kezelést követően megnövekedett mind az LAH, mind az ARC területen, azonban az expresszió időbeli lefutása a két területen különböző mintázatot mutatott.*

6. BIBLIOGRÁFIÁK

Az értekezés témakörében megjelent közlemények

1. Hajós F, Kálmán M., Zilles K, Schleicher A, **Sótonyi P** (1990) *Remote astrocytic response as demonstrated by glial fibrillary acidic protein immunohistochemistry in the visual cortex of dorsal lateral geniculate nucleus lesioned rats.* GLIA, 3. 01-310. **IF: 4.010 Független bív. száma: 30**
2. Hajós F, Jancsik V, **Sótonyi P** (1996) *Remote astroglial response associated with synaptic degeneration results in a net increase of perisynaptic glial fibrillary acidic protein.* ACTA BIOL. HUNG. 47, 175-179. **IF: 0.239 Független bív. száma: -**
3. Horvath TL, Diano S, **Sótonyi P**, Heiman M, Tschop M (2001) *Minireview: Ghrelin and the regulation of energy balance - A hypothalamic perspective.* ENDOCRINOLOGY 142:(10) pp. 4163-4169. **IF: 4.971 Független bív. száma: 307**
4. Diano S, Horvath B, Urbanski HF, **Sótonyi P**, Horvath TL (2003) *Fasting activates the nonhuman primate hypocretin (orexin) system and its postsynaptic targets.* ENDOCRINOLOGY 144:(9) 3774-3778. **IF: 5.063 Független bív. száma: 27**
5. Cowley MA, Smith RG, Diano S, Tschop M, Pronchuk N, Grove KL, Strasburger CJ, Bidlingmaier M, Esterman M, Heiman ML, Garcia-Segura LM, Nillni EA, Mendez P, Low MJ, **Sótonyi P**, Friedman JM, Liu HY, Pinto S, Colmers WF, Cone RD, Horvath TL (2003) *The distribution and mechanism of action of ghrelin in the CNS demonstrates a novel hypothalamic circuit regulating energy homeostasis.* NEURON 37(4) 649-661. **IF: 14.109 Független bív. száma: 315**
6. Abizaid A, Mezei G, **Sótonyi P**, Horvath TL (2004) *Sex differences in adult suprachiasmatic nucleus neurons emerging late prenatally in rats.* EUR. J. NEUROSCI. 19:2488-2496. **IF: 3.872 Független bív. száma: 12**
7. Kiss DS, Zsarnovszky A, Horvath K, Gyorffy A, Bartha T, Hazai D, **Sótonyi P**, Somogyi V, Frenyo LV, Diano S (2009) *Ecto-nucleoside triphosphate diphosphohydrolase 3 in the ventral and lateral hypothalamic area of female rats: morphological characterization and functional implications.* REPRODUCTIVE BIOLOGY AND ENDOCRINOLOGY 7: p. 31. **IF: 2.077 Független bív. száma: -**
8. **Sótonyi P**, Mezei G, Racz B, Dallman MF, Abizaid A, Horvath TL (2010) *Gonadotropin-Releasing Hormone Fibers Contact POMC Neurons in the Hypothalamic Arcuate Nucleus.* REPRODUCTIVE SCIENCES (in press) **IF: 2.314 Független bív. száma: -**
9. **Sótonyi P**, Gao Q, Bechmann I, Horvath TL (2010) *Estrogen Promotes Parvalbumin Expression in Arcuate Nucleus POMC Neurons.* REPRODUCTIVE SCIENCES (in press) **IF: 2.314 Független bív. száma: -**
10. Horvath TL, Sarman B, Garcia-Caceres C, Enriori PJ, **Sótonyi P**, Shanabrough M, Borok E, Argente J, Chowen JA, Perez-Tilve D, Pfluger PT, Bronneke HS, Levin BE, Diano S, Cowley MA, Tschop MH (2010) *Synaptic input organization of the melanocortin system predicts diet-induced hypothalamic reactive gliosis and obesity.* PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE UNITED STATES OF AMERICA (PNAS) 107:(33) pp. 14875-14880. **IF: 9.432 Független bív. száma: -**

A tudományos munkásságot meghatározó egyéb közlemények

Külföldi impakt faktoros lapokban megjelent közlemények

Fokozat megszerzése után

11. Hajós F, Gerics B, **Sótonyi P** (1992) *Slices from the rat olfactory bulb maintained in vitro. Morphological aspects* JOURNAL OF NEUROSCIENCE METHODS, 44. 225-232. **IF: 1.567 Független hív. száma: 2**
12. Zilles K., Hajós F., Csillag A, Kálmán M, **Sótonyi P**, Schleicher A (1993) *Vasoactive intestinal polypeptide immunoreactive structures in the mouse barrel field.* BRAIN RES 618, 149-154 **IF: 2.854 Független hív. száma: 2**
13. Hajós F, Zilles K, Zsarnovszky A, **Sótonyi P**, Gallatz K, Schleicher A (1998) *Modular distribution of vasoactive intestinal polypeptide in the rat barrel cortex: changes induced by neonatal removal of vibrissae.* NEUROSCIENCE 85, 45-52 **IF: 3.591 Független hív. száma: 1**
14. Szatmári V, Németh T, Kótai I, Vörös K, **Sótonyi P** (2000) *Doppler ultrasonographic diagnosis and anatomy of congenital intrahepatic arterioportal fistula in a puppy.* VETERINARY RADIOLOGY & ULTRASOUND, 41. (3), pp. 284-286., 2000 **IF: 0.526 Független hív. száma: 7**
15. Szatmári V, **Sótonyi P**, Fenyves B, Vörös K (2000): *Doppler-ultrasonographic detection of retrograde pulsatile flow in the caudal vena cava of a puppy with cor triatriatum dexter.* VETERINARY RECORD, 147., pp. 68-72. **IF: 1.236 Független hív. száma: 3**
16. Szatmári V, **Sótonyi P**, Vörös K (2001) *Normal duplex Doppler waveforms of major abdominal blood vessels in dogs: a review.* VET RADIOL ULTRASOUND. 2001, 42(2): 93-107. **IF: 0.731 Független hív. száma: 25**
17. Szatmári V, van den Ingh TS, Fenyves B, **Sótonyi P**, Kotai I, Petrasi Z, Vörös K (2002): *Portal hypertension in a dog due to circumscribed fibrosis of the wall of the extrahepatic portal vein.* VETERINARY RECORD. 11: 150(19):602-5 **IF: 1.221 Független hív. száma: 1**
18. Horváth TL, Diano S, Leranth C, Garcia-Segura LM, Cowley MA, Shanabrough M, Elsworth JD, **Sótonyi P**, Roth RH, Dietrich EH, Matthews RT, Barnstable CJ, Redmond DE Jr (2003) *Coenzyme Q induces nigral mitochondrial uncoupling and prevents dopamine cell loss in a primate model of Parkinson's disease.* ENDOCRINOLOGY, 2003 Jul; 144 (7): 2757-60. **IF: 5.063 Független hív. száma: 26**

Hazai idegen nyelvű impakt faktoros közlemények

Fokozat megszerzése előtt

1. Fehér Gy, Fazekas S, **Sótonyi P**, Székessy-Hermann V (1984) *Myosin with increased P content in the muscles of exercised horses.* ACTA AGRONOMICA ACADEMIAE SCIENTIARUM HUNGARICAE, 33. 1-2. 118-130. **IF: 0.039 Független hív. száma: -**
2. Bartalits L, Székely L, Tóth B, Fáncsi T, Fehér Gy, **Sótonyi P**, Rády M (1985) *Quantitative changes in the inorganic and organic components of amniotic and allantoic fluid, egg-white and yolk during incubation of goose.* ACTA AGRONOMICA ACADEMIAE SCIENTIARUM HUNGARICAE, 34. 1-2. 17-45. **IF: 0.057 Független hív. száma: -**

3. **Sótonyi P**, Dobozy O, Csaba G (1985) *The damaging effect of diethylstilbestrol and allylestrenol in the chick embryo*. ACTA MORPHOLOGICA HUNGARICA, 33. 69-75. **IF: 0.204 Független bív. száma: -**
4. **Sótonyi P**, Dobozy O, Csaba G (1986) *Changes of free histones in chick testicular and ovarian cells after embryonic and/or neonatal treatment with diethylstilbestrol (DES) or allylestrenol (AE)* ACTA MORPHOLOGICA HUNGARICA, 34. 23-29. **IF: 0.265 Független bív. száma: -**
5. **Sótonyi P**, Csaba G, Treit P (1986) *Free histones in the cells of the rat uterus after neonatal treatment with diethylstilbestrol or allylestrenol*. ACTA MORPHOLOGICA HUNGARICA, 34. 47-52. **IF: 0.265 Független bív. száma: -**
6. **Sótonyi P**, Dobozy O, Csaba G. (1986) *Late effects of embryonic allylestrenol treatment in chicken*. ACTA MORPHOLOGICA HUNGARICA, 37. 1189-196. 1986. **IF: 0.265 Független bív. száma: -**
7. **Sótonyi P**, Csaba G (1986) *Effect of prenatal and/or neonatal diethylstilbestrol and allylestrenol treatment on the postnatal development of the chicken ovary*. ACTA BIOLOGICA HUNGARICA, 37. 189-196. **IF: 0.255 Független bív. száma: -**
8. **Sótonyi P**, Csaba G (1986) *Influence of prenatal steroid exposure on neonatal gonadotropin imprinting. Effect of single and combined hormone treatments on the chicken ovary*. ACTA BIOLOGICA HUNGARICA, 37. 197-203. **IF: 0.255 Független bív. száma: -**
9. **Sótonyi P**, Csaba G (1987) *Effect of embryonic and/or neonatal diethylstilbestrol and allylestrenol treatment on the postnatal development of the chick testis*. ACTA BIOLOGICA HUNGARICA, 35. 19-30. **IF: 0.132 Független bív. száma: -**
10. **Sótonyi P**, Csaba G (1988) *Hormonal imprinting and damages caused by fetal steroid treatment. Influence of fetal treatment with pregnancy-protecting steroid (allylestrenol, diethylstilbestrol) on the effect of gonadotropin administered to cockerels perinatally and at the age of six weeks*. ACTA PHYSIOLOGIA HUNGARICA, 71. 5-18. **IF: 0.271 Független bív. száma: -**

Fokozat megszerzése után

1. Bodó G, Hangody L, Szabó Zs, Peham CH, Schinzel M, Girtler D, **Sótonyi P** (2000) *Arthroscopic autologous osteochondral mosaicplasty for the treatment of subchondral cystic lesion in the medial femoral condyle in a horse*. ACTA VET. HUNG 48(3) 343-354. **IF: 0.511 Független bív. száma: 13**
2. Balogh E, **Sótonyi P** (2003) *Histological studies on embryonic development of the rabbit heart*. ACTA VET. HUNG. 51(1) 1-13. **IF: 0.535 Független bív. száma: 1**
3. Balogh E, **Sótonyi P** (2003) *Multiple cardiac anomaly in sheep: A case study and review of the literature* ACTA VET. HUNG. 51(1) 15-27. **IF: 0.535 Független bív. száma: -**
4. Halmay D, **Sótonyi P**, Vajdovich P, Gaál T (2005) *Morphological evaluation of canine platelets on Giemsa and Pas-stained blood smears*. ACTA VET. HUNG. 53(3) 337-350 **IF: 0.530 Független bív. száma: -**
5. Kutasi O, Vörös K, Biksi I, Szenci O, **Sótonyi P** (2007) *Common atrioventricular canal in a newborn foal — Case report and review of the literature*. ACTA VET. HUNG. 55. (1.) pp. 51-65. **IF: 0.474 Független bív. száma: -**

Hazai magyar nyelvű impakt faktoros közlemények

Fokozat megszerzése előtt

1. Schalkház I, Fehér Gy, Bartalits L, Sik J, **Sótonyi P** (1982) *Nyirokvétel a lúd phallus protrudenséből. Újabb adatok a phallus morfológiájához.* MAGYAR ÁLLATORVOSOK LAPJA, 37(12) 829-834. **IF: 0.134 Független hív. száma: 2**

Fokozat megszerzése után

1. Szladovits Zs, Szladovits B, Gaál T, **Sótonyi P** (2006) *Az agy-gerincvelői folyadék (liquor cerebrospinalis) vizsgálatának jelentősége a kutyák idegrendszeri betegségeinek kórjelzésében 1. A liquorvételezés módszere, indikációi és a liquor vizsgálata.* MAGYAR ÁLLATORVOSOK LAPJA 10 624-631 **IF: 0.155 Független hív. száma: -**
2. Szladovits Zs, Szladovits B, Gaál T, **Sótonyi P** (2006) *Az agy-gerincvelői folyadék (liquor cerebrospinalis) vizsgálatának jelentősége a kutyák idegrendszeri betegségeinek kórjelzésében 1. A liquorvételezés módszere, indikációi és a liquor vizsgálata.* MAGYAR ÁLLATORVOSOK LAPJA 11 649-654 **IF: 0.155 Független hív. száma: -**

Önálló fejezetek külföldi és hazai kiadású könyvekben, monográfiákban

1. **Sótonyi P:** *A fejlődés genetikája és szabályozása*, Fehér, Gy.: Háziállatok fejlődéstana. Egyetemi jegyzet, Budapest, 1979. 113-161.
2. **Sótonyi P:** *A tejmirigy anatómiája és a tejtermelés élettana* c. fejezet. Tejgazdasági kézikönyv 17-42, Gazda Kistermelői Lap és Könyvkiadó Kft Bp. 1996
3. **Sótonyi P:** *A tőgy funkcionális anatómiája és élettana.* In: Simon F. (szerk.): *A tőgyegészség és a minőségi tehéntej-termelés alapjai.* Mezőgazda Kiadó, Budapest, 2000. P. 12-56.
4. **Sótonyi P.** Mitarbeiter In: Thomas David (Hrsg.), *Atlas der Kleintierchirurgie.* Hannover, Schlütersche, 2000. p. 408.
5. **Sótonyi P:** *Lymfatický systém psa* (The lymphatic system of the dog). In: F. Lesník, J. Danko: *Medicinska lymfológia*, Hajko & Hajková Bratislava 2005. pp. 72-83.
6. **Sótonyi P,** Petneházy Ö, Szladovits Zs: *Lymfatický systém potkana* (The lymphatic system of the rat). In F. Lesník, J. Danko: *Medicinska lymfológia*, *Medicinska lymfológia*, Book chapter, Hajko & Hajková Bratislava 2005. pp. 64-68.
7. Horn P, **Sótonyi P,** Repa I: *Cross-sectional CT and MR Anatomy Atlas of the Domestic Pig.* University of Kaposvár, Láng Publishing and Holding Company, 2005.
8. **Sótonyi P:** *Az állatok mozgásának elemzése (A csirke kikelésétől a Spanyol Lovasiskoláig).* Mindentudás Egyeteme, Hatodik kötet Kossuth Kiadó 2006. pp. 185-208
9. König HE, **Sótonyi P,** Liebich HG: *Verdauungsapparat* pp. 301-366. Herausgegeben von: Horst Erich König, Hans-Georg Liebich: *Anatomie der Haussaugetiere*, német nyelvű Schattauer GmbH, Stuttgart, Germany, 2009 ISBN 978-3-7945-2650-5
10. König HE, **Sótonyi P,** Probst A, Maierl J und Liebich HG: *Topographisch-klinische Anatomie* pp. 657-719. Herausgegeben von: Horst Erich König, Hans-Georg Liebich: *Anatomie der Haussaugetiere*, német nyelvű Schattauer GmbH, Stuttgart, Germany, 2009 ISBN 978-3-7945-2650-5
11. König HE, **Sótonyi P,** Liebich HG: *Digestive system (apparatus digestorius)* pp. 301-368. Editors: Horst Erich König, Hans-Georg Liebich: *Veterinary Anatomy of Domestic*

- Mammals, angol nyelvű Schattauer GmbH, Stuttgart, Germany 2009 ISBN 978-3-7945-2677-2
12. König HE, **Sótonyi P**, Probst A, Maierl J und Liebich HG: *Topographical-clinical anatomy* pp. 661-726. Editors: Horst Erich König, Hans-Georg Liebich: Veterinary Anatomy of Domestic Mammals, angol nyelvű Schattauer GmbH, Stuttgart, Germany 2009 ISBN 978-3-7945-2677-2
 13. **Sótonyi P**: *A magyar állatorvosi szaknyelv változása* pp. 44-52 Járomfa, mozcány, nőtövény... A nyelvújítás során született szaknyelvünk „szokott és szokatlan” szavai, Magyar Mezőgazdasági Múzeum, Budapest, 2009. ISBN: 978-963-7092-68-8
 14. König HE, **Sótonyi P**, Liebich HG: *Digestive system (apparatus digestorius)* pp. 331-434 In: König HE, Liebich HG (szerk.) Veterinary Anatomy of Domestic Mammals, japán nyelvű. Stuttgart ; New York: Schattauer Verlag, 2010. ISBN:978-4-88500-671-5
 15. König HE, **Sótonyi P**, Probst A, Maierl J, Liebich HG: *Topographical-clinical anatomy* pp 737-804 In: König HE, Liebich HG (szerk.) Veterinary Anatomy of Domestic Mammals, japán nyelvű. Stuttgart ; New York: Schattauer Verlag, 2010. ISBN:978-4-88500-672-2
 16. **Sótonyi P**: *Anatomie und Physiologie*. In: Tóth J, Hollerrieder J, Sótonyi P Augenheilkunde beim Pferd: Lehrbuch und Atlas. Schattauer GmbH, Stuttgart, Germany 2010. pp. 3-31. ISBN:978-3-7945-2638-3
 17. **Sótonyi P**: *Széchenyi a magyar lóversenyzés meghonosítója*. In: Gróf Széchenyi István hatása hazánk sportkultúrájára. Kiadó: Magyar Sporttudományi Társaság Szerkesztő: dr. Szóts Gábor (2010 - in press) ISBN: 978-963-87701-6-5

Multimédiás CD-ROM-ok

1. **Sótonyi P**: *Anatomia canis CD-ROM I.: Extremitas cranialis*, magyar, német, angol és japán nyelven. Székesfehérvár, Kisállatklinika Kft., 1999-2010.
2. **Sótonyi P**: *Anatomia canis CD-ROM II.: Extremitas caudalis*, magyar, német, angol és japán nyelven. Székesfehérvár, Kisállatklinika Kft., 1999-2010.

Egyéb szakcikkek, tanulmányok nem impakt faktoros osztálylistás folyóiratokban

Fokozat megszerzése után

1. **Sótonyi P**: *A ló anatómiai sajátosságainak összefüggése a ló teljesítményével*. (2010) ÁLLATTENYÉSZTÉS ÉS TAKARMÁNYOZÁS 59:(4) pp. 233-248.
2. Langer D, Faludi J, Tóth M, **Sótonyi P** (2010) *Ló teljesítményét megalapozó sportélettani kutatások*. ÁLLATTENYÉSZTÉS ÉS TAKARMÁNYOZÁS 59:(4) pp. 267-276.

Teljes dolgozat konferencia kiadványokban

Fokozat megszerzése előtt

1. Fazekas S, **Sótonyi P**, Medve G, Fehér Gy, Székessy-Hermann V: *Foszfoarginin kromatográfiás tisztítása és azonosítása újszülött liba nyaknyújtó izom (m. complexus) miozín preparátumában* 8. Kromatográfiai Vándorgyűlés Előadásai, Sopron, 1980. 19-20.
2. Fazekas S, **Sótonyi P**, Fehér Gy, Székessy-Hermann V: *Purification and some properties of the Increased P-containing myosin of exercised horse's skeletal muscles*. Proc. 20th Hung. Annu. Meet. Biochem., Siófok, 1980. 19-20.
3. **Sótonyi P**: *A gyakorlati oktatás helyzete és korszerűsítésének lehetőségei az állatorvosképzésben. A gyakorlati oktatás jelenlegi helyzete és fejlesztésének lehetőségei az*

agrárszakoktatásban. Szerk.: Rendek László, Nemes Kornélia. AGROINFORM, Budapest, 1982 99-102.

4. **Sótonyi P**, Csaba G: *Szteroid kezelések hatása a madarak nemi mirigyeinek fejlődésére.* MAHET VI. Kongresszusa, Szeged 1986

Fokozat megszerzése után

1. Szatmári V, **Sótonyi P**, Kótai I, Petrási Zs, Vörös K: *Unusual cause of presinusoidal portal hypertension in a dog.* 34th „Voorjaarsdagen” International Veterinary Congress, Amsterdam, The Netherlands, 2001. Proceedings pp. 157.
2. **Sótonyi P**, Szladovits Zs, Horváth TL: *Upc2 in a mouse model of parkinson's disease.* Italian Journal of Anatomy and Embryology XXVI Congress of the European Association of Veterinary Anatomists Messina, Italy Vol. 111 – Supplemento n. 1 al Fasc. 3 – July –September 2006. pp152
3. **Sótonyi P**: *Application of cross-sectional anatomical, ct and mri images in veterinary education.* Italian Journal of Anatomy and Embryology XXVI Congress of the European Association of Veterinary Anatomists Messina, Italy Vol. 111 – Supplemento n. 1 al Fasc. 3 – July –September 2006. pp25
4. Pál L, Farkas R, DublecZK, Barna J, Végi B, Váradi É, Péczely P, RácZ B, **Sótonyi P**: *Effect of dietary fats and feed intake on faecal testosterone levels and tissue morphology of testis in broiler breeder males.* Proc. of 17th European Symposium on Poultry Nutrition. SC3.1, 2009, Edinburgh, Scotland

Konferencia absztraktok

Fokozat megszerzése előtt

1. **Sótonyi P**: *Die Bewegung des Gansembryos und die Struktur- veränderung des m. complexus während des Schlupfes.* Abstracts of Morfological Symposium, Brno, 1979
2. **Sótonyi P**, Dobozy O, Csaba G: *The influence of the embryonal allylestrenol and diethylstilbestrol treatment on the free histones of the chick gonad.* Abstracts of VII.th International Congress of Histochemistry and Cytochemistry, Helsinki, 1984.
3. **Sótonyi P**, Dobozy O, Csaba G: *Changes of free histones in chick testicular and ovarian cells after embryoonic and/or neonatal treatment with diethylstilbestrol (DES) or allylestrenol (AE).* Abstracts of Second European Congress on Cell Biology, Budapest, 1986.

Fokozat megszerzése után

1. Hajós F, Mészáros M, **Sótonyi P**, Halász N: *A bulbus olfactorius glia - mintázatának posztnatális fejlődése besugárzott patkányban.* MÉT Idegtudományi Szakosztály Éves Konferenciája, Szeged 1990.
2. **Sótonyi P**, Hajós F: *Az agykéreg vasoaktiv intestinális polipeptid (VIP) tartalmú sejteinek szinaptikus kapcsolatai.* MÉT LV. Vándordorgyulése, Budapest 1990
3. **Sótonyi P**, Gebhard R, Hajós F: *Immunhistochemische Untersuchungen zur Lokalisation von Cholinazetyltransferase im Mittelhirn der Ratte.* 87. Versammlung der Anatomischen Gesellschaft, Mainz 1992.
4. Jancsik V, **Sótonyi P**, Hajós F: *Quantitative assesement of the time course and extent of GFAP immunoreactivity enhancement accompanying lesion induced remote astrocytic response.* IV. European Congress of Cell Biology, Prague, 1994
5. Tóth J, **Sótonyi P**: *Eine besondere Sektionstechnik beim Kolikpferd.* III. Internationale Kongress über Kleintier- und Pferdekrankheiten, Budapest, 1998

6. **Sótonyi P:** *Állatorvosi anatómia oktatása a továbbképzésben (A kutya gyakorlati anatómiája multimédia CD-ROM bemutatása)* X. Magyar Anatómus Kongresszus, Budapest, 1999.
7. **Sótonyi P:** *A ló lábvégének anatómiája.* VIII. Lógyógyászati Kongresszus, Budapest, 2000.
8. **Sótonyi P:** *A ló hasüregének topográfiája és rectalis vizsgálata.* IX. Lógyógyászati Kongresszus, Budapest, 2001.
9. **Sótonyi P:** *Az állatorvosi anatómia oktatása a továbbképzésben, MAVSZ konferencia,* 2002. március 22-24, Palics
10. **Sótonyi P:** *A szarvas keresztmetszeti anatómiai CT és MRI vizsgálata,* MAVSZ konferencia, 2002. május 24., Dobogókő
11. **Sótonyi P:** *A lágycsatorna, az ondócsínór és a herezacskó anatómiája lovon.* X. Lógyógyászati Kongresszus, Budapest, 2002.
12. **Sótonyi P:** *Practical anatomy of the dog, Multimedia CD-ROM XXIVth Congress of the European Association of Veterinary Anatomists,* Brno, 2002.
13. **Sótonyi P, Tóth M, Petneházy Ö:** *Comparative anatomy of the canine and equine middle and inner ear.* XXIVth Congress of the European Association of Veterinary Anatomists, Brno, 2002.
14. **Sótonyi P:** *A ló hasüregének topográfiája és rektális vizsgálata (Multimédia CD-bemutató)* MÁVSZ konferencia– 2002 szept. 26-29, Tusnádfürdő
15. **Sótonyi P:** *A szarvasmarha hasüregének topográfiája és az oltógyomor helyzetváltozás modellezése (Multimédiás bemutató).* MAVSZ konferencia, 2003. április 24-27., Ungvár
16. **Sótonyi P, Szladovits Zs:** *A kutya női nemi szerveinek anatómiája.* HSAVA évenkénti kongresszusa, Budapest, 2003. május
17. **Sótonyi P:** *Az anatómia oktatása az állatorvosképzésben.* Magyar Anatómus Társaság XII. Kongresszusa, Budapest, 2003. jún. 19-21.
18. **Sótonyi P:** *A nem kialakulásának biológiája.* MÁVSZ konferencia, Nyitra 2003 szept.
19. **Sótonyi P:** *A szarvasmarha hasüregének topográfiája.* Magyar Buiatrikusok Társaságának 14. Nemzetközi Kongresszusa, Keszthely, 2003. okt. 9-11.
20. **Sótonyi P:** *A ló szájüregének anatómiája I-II.* XI.. Lógyógyászati Kongresszus, Budapest, 2003. nov. 7.
21. **Sótonyi P:** *The biology of the development of the genital organs. A multimedia teaching program.* XXVth Congress of the European Association of Veterinary Anatomists, Oslo, Norway, 2004. July 28-31.
22. **Sótonyi P:** *Teaching of practical anatomy in the University of Veterinary Science.* XXVth Congress of the European Association of Veterinary Anatomists, Oslo, Norway, 2004. July 28-31.
23. **Petneházy Ö, Sótonyi P, Tóth M:** *Blood supply to the pigeon wing and flying muscles.* XXVth Congress of the European Association of Veterinary Anatomists, Oslo, Norway, 2004. July 28-31.
24. **Sótonyi P:** *A fültájék anatómiája,* MÁVSZ konferencia, Budapest, 2004. november 19-20.
25. **Sótonyi P:** *Anatomie des Rückenmarkes,* XVI. Tagung über Pferdekrankheiten mit begleitendere Industrieausstellung im Rahmen der Equitana, Essen, 4-5. März 2005.
26. **Sótonyi P:** *A szájüreg anatómiája.* A Klinikus Állatorvosok Egyesülete Kisállat Szekciója (HSAVA) 14. Országos Konferenciája Budapest, 2005. április 23-24.
27. **Sótonyi P:** *A ló mozgásának elemzése.* MÁVSZ konferencia, Szabadka, 2005. április 28-30.

28. **Sótonyi P:** *A ló hasüregének anatómiája és topográfiája.* MÁVSZ hallgatói tagozatának konferenciája, Temesvár, 2005. május 13-14.
29. Szladovits Zs, O'Brien D, **Sótonyi P:** *Háromdimenziós mozgáselemzés kutyákon.* Magyar Anatómus Társaság XIII. Kongresszusa, Pécs, 2005. jún. 16-18.
30. **Sótonyi P:** *Az elektronikus médiumok szerepe az anatómia oktatásban.* Magyar Anatómus Társaság XIII. Kongresszusa, Pécs, 2005. jún. 16-18.
31. **Sótonyi P:** *Magyar állatorvosképzés a Kárpát-medencében.* Magyar Professzorok Világtalálkozója Marosvásárhely, 2005. szeptember 16-17.
32. **Sótonyi P:** *Topografija abdomena goveda I modeliranje dislokacije abomazusa.* Simpozijum Ishrana, Reprodukcijska I Zastita Zdravlja Goveda Szabadka, 2005. szeptember 27-október 1.
33. **Sótonyi P:** *A lovak bélcsatornájának anatómiája* MÁVSZ Nemzetközi Lógyógyászati Konferencia Kolozsvár, 2005. október 8.
34. **Sótonyi P:** *A lovak hasüregének anatómiája* MÁVSZ Nemzetközi Lógyógyászati Konferencia Kolozsvár, 2005. október 8.
35. **Sótonyi P:** *A felső légutak és a mellüreg topográfiája* MÁVSZ Nemzetközi Konferenciája Félix-fürdő, 2006. február 16-17.
36. **Sótonyi P:** *A fájdalom morfológiai vonatkozásai* MÁOK Zala Megyei Területének Szervezete 2006. évi I. Továbbképző Konferenciája, Hévíz, 2006. március 10-11.
37. **Sótonyi P:** (meghívott előadó Európából) *Application of Multimedia Teaching Programs in Veterinary Anatomy Education* Conference of Asian Association of Veterinary Anatomists, Tsukuba city Japán 2006. március 19-23.
38. **Sótonyi P:** *A felső légutak anatómiája* XIV. Lógyógyászati Kongresszus Üllő, 2006. november 23-24.
39. **Sótonyi P:** *Orrjáratok a sinusok és a gége anatómiája cadaver fejeken.* XIV. Lógyógyászati Kongresszus Üllő, 2006. november 23-24.
40. **Sótonyi P:** *A bőr, az epidermális szervek, valamint a fültájék funkcionális anatómiája* MÁOK Zala Megyei Területének Szervezete 2007. évi I. Továbbképző Konferenciája, Hévíz, 2007. március 2-3.
41. **Sótonyi P:** *Belastbarkeit und Heilung.* XVII. Tagung über Pferdekrankheiten im Rahmen der Equitana, Essen, 2007. március 17.
42. Zsarnovszky A, Gyorffy A, Kovács ÉG, Frenyó VL, Kirley T, Belcher SM, **Sótonyi P:** *Analysis of NTPDase3-expression in the CNS: mapping and functional considerations.* Abstracts. Joint Meeting of The Slovak Physiological Society, The Physiological Society and The Federation of European Physiological Societies, 2007.
43. Kovács ÉG, Frenyó VL, Kirley T, Belcher SM, **Sótonyi P,** Zsarnovszky A: *NTPDase 3 in the CNS of the rat: mapping and functional considerations.* Abstract. ECO 2007 Satellite Congress (Nutrition and the brain) Tihany, Hungary
44. Kovács ÉG, Frenyó V, Kirley T, Belcher MS, **Sótonyi P,** Zsarnovszky A: *Az NTPDáz 3 immunolokalizálása patkány központi idegrendszerében.* Abstract. Kongresszusi kiadvány. Magyar Élettani Társaság LXXI. Vándorgyűlése, Pécs, 2007
45. Kovács ÉG, Frenyó VL, Kirley T, Belcher SM, **Sótonyi P,** Zsarnovszky A: *NTPDase 3 in the CNS of the rat: mapping and functional considerations.* Abstract. MITT Vándorgyűlés Szeged, 2007
46. **Sótonyi P:** *A garat és gége anatómiája.* HSAVA XVIII. Országos Konferencia Budapest, 2008.
47. **Sótonyi P:** *A húgyszervek anatómiája.* HSAVA XIX. Országos Konferencia Budapest, 2008. szeptember

48. **Sótonyi P:** *A felületes és mély ujjhajlító ín valamint az egyenlítőszalag anatómiai felépítése.* XVI. Lógyógyász Konferencia Hortobágy, 2008. november 13-15.
49. **Sótonyi P:** *History of the education of veterinary anatomy in Hungary.* XXVII. Congress of the European Association of Veterinary Anatomists Budapest, 2008. Abstracts, Magyar Állatorvosok Lapja 130th year, IIIrd Supplement Issue
50. Petneházy Ö, Petrasi Zs, Takács I, Horn P, Sütő Z, **Sótonyi P**, Bogner P, Repa I: *Cross sectional, CT and MR Anatomy of the turkey (Meleagris gallopavo).* XXVII. Congress of the European Association of Veterinary Anatomists Budapest, 2008. Abstracts, Magyar Állatorvosok Lapja 130th year, IIIrd Supplement Issue
51. Zsarnovszky A, Gyorffy A, Bartha T, Frenyó VL, Hazai D, **Sótonyi P:** *Ultrastructural analysis of NTPDase3-expression in the rat hypothalamus: Possible functional implications of subcellular localization.* XXVII. Congress of the European Association of Veterinary Anatomists Budapest, 2008. Abstracts, Magyar Állatorvosok Lapja 130th year, IIIrd Supplement Issue
52. **Sótonyi P:** *A hasfal és a hasüreg anatómiája.* HSAVA XX. Országos Konferencia Budapest, 2009. március 28-29.
53. Farkas R, Pál L, Dublec K, Barna J, Végi B, Váradi É, Péczely P, Rácz B, **Sótonyi P:** *Az eltérő zsírsavellátás és takarmányfelvétel hatása brojler szülőpár kakasok ürített tesztoszteron szintjére és a herék szöveti morfológiájára.* 51. Georgikon Napok, Keszthely, 2009. október 1-2.

Egyes szakterületeken tudományos ismeretterjesztő cikkek az agrártársadalom tájékoztatása céljából

Fokozat megszerzése előtt

1. Fehér Gy, Gráf Z, **Sótonyi P:** (1981) *Néhány érdekesség a zsiráf csontos vázáról.* ÁLLATTANI KÖZLEMÉNYEK, 68. 49-60.

Fokozat megszerzése után

1. **Sótonyi P:** *Képek a ló gerincsatornájáról* Kamarai Állatorvos 2006. év 1. szám (március) pp. 18-20.
2. **Sótonyi P:** *Tudományos Diákkör (TDK) az állatorvos képzésben* Kamarai Állatorvos 2006. év 1. szám (március) pp. 54-55.
3. **Sótonyi P:** *Képek a kutya mellüregéről* Kamarai Állatorvos 2006. év 2. szám (július) pp. 12-14.
4. **Sótonyi P:** *Sertés-egészségügyi Konferencia Galánta, 2006. június 9-10.* Kamarai Állatorvos 2006. év 2. szám (július) pp. 50.
5. **Sótonyi P:** *Képek a kutya nyirokcsomóiról* Kamarai Állatorvos 2006. év 3. szám (szeptember) pp. 14-16.
6. **Sótonyi P:** *Képek a szarvasmarha csülkéről* Kamarai Állatorvos 2006. év 4. szám (december) pp. 14-17.
7. **Sótonyi P:** *Képek a ló mell- és hasüregéről* Kamarai Állatorvos 2007. év 1. szám (március) pp. 10-13.
8. **Sótonyi P:** *Képek a kutya garat- és gégetájékáról* Kamarai Állatorvos 2007. év 2. szám (június) pp. 14-17.
9. **Sótonyi P, Kótai I:** *Karikatúra a múltból* Magyar Állatorvosok Lapja 2007. június
10. **Sótonyi P:** *Képek a kutya hasüregéről* Kamarai Állatorvos 2007. év 3. szám (szeptember) pp. 12-15.

11. **Sótonyi P:** *Képek a ló elülső végtagjáról I.* Kamarai Állatorvos 2007. év 4. szám (december) pp. 12-16.
12. **Sótonyi P:** *Képek a ló elülső végtagjáról II.* Kamarai Állatorvos 2008. év 1. szám (március) pp. 12-16.
13. **Sótonyi P:** *Képek a sertés beleiről és női nemi szerveiről* Kamarai Állatorvos 2008. év 2. szám (június) pp. 12-16.
14. **Sótonyi P:** *Képek a kutya húgyszerveiről* Kamarai Állatorvos 2008. év 3. szám (szeptember) pp. 14-18.
15. **Sótonyi P:** *Képek a ló hátulsó végtagjáról (idegek)* Kamarai Állatorvos 2008. év 4. szám (december) pp. 14-19.
16. **Sótonyi P, Loráskó G:** *A libatömés nem állatkínzás* Magyar Mezőgazdaság 63. évfolyam 2008. október 15. pp. 22-32.
17. **Sótonyi P:** *Képek a macska hasüregéről* Kamarai Állatorvos 2009. év 1. szám (március) pp. 16-21.
18. **Sótonyi P:** *Képek a kutya térdtájékáról* Kamarai Állatorvos 2009. év 2. szám (június) pp. 12-17.
19. **Sótonyi P:** *Képek a kutya csípőízület tájékáról* Kamarai Állatorvos 2009. év 3. szám (szeptember) pp. 14-18.
20. **Sótonyi P:** *Képek a ló szeméről* Kamarai Állatorvos 2009. év 4. szám (december) pp. 10-15
21. **Sótonyi P:** *Képek a kutya fültő, pofa és torokjárat tájékáról* Kamarai Állatorvos 2010. év 1. szám (március) pp. 16-20.
22. **Sótonyi P:** *Képek a kutya elülső végtagjáról* Kamarai Állatorvos 2010. év 2. szám (június) pp. 14-18.
23. **Sótonyi P:** *Képek a kutya hátulsó végtagjáról I.* Kamarai Állatorvos 2010. év 3. szám (szeptember) pp. 14-18.

Rövidítések jegyzéke

AGRP:	aguti related protein
AMPA:	α -amino-3-hydroxil-5-metil-4-isoxazol-propionát
ARC:	nucleus arcuatus
ATP:	adenozin trifoszfát
AVP:	arginin-vasopressin
AVPV:	anteroventralis preopticus area
BDNF:	brain derived neurotrophic factor
BrDU:	5-bromo-2'-dezoxyuridin
CRH:	corticotropin-releasing hormon
DAB:	3,3'-Diaminobenzidin
DIO:	diet induced obesity - elhízásra hajlamos állat
DMH:	dorsomedialis hypothalamus
DR:	diet-resistant – elhízásra nem hajlamos állat
E2:	17 β -ösztradiol
GABA:	gamma amino-butiric acid - gamma-amino vajsav
GAD:	glutamin acid decarboxylase - glutaminsav dekarboxiláz enzim
GFP:	green fluorescens protein – zöld fluoreszkáló fehérje
GH:	growth hormone – növekedési hormon
GluR:	glutamát receptor
GnRH:	gonadotropin realising hormone
HCD:	high calorie diet – magas kalóriatartalmú táplálék
HCRT:	hypocretin (másnéven orexin)
HFD:	high fat diet – magas zsírtartalmú táplálék
IGL:	intrageniculis lemez
IPSC:	spontán gátló postsynapticus áram - spontaneous inhibitory postsynaptic current
IR:	immunreaktív
LH:	luteinizáló hormon
LaH:	lateralis hypothalamus
MC4R:	melanocortin receptor 4-es altípus
MPOA:	medialis preopticus area
NPY:	neuropeptid Y
OVX:	ovariectomia, ovariectomizált (értelemszerűen)
P450aro:	P450 aromatáz
POMC:	pro-opiomelanocortin
PVN:	nucleus paraventricularis
SFP:	sapphire fluorescent protein - zafírzöld fluoreszkáló fehérje
SCN:	nucleus suprachiasmaticus
SD:	Standard diet – normál/standard táplálás
VIP:	vasoaktív intestinalis polypeptid
VMH:	ventromedialis hypothalamus

7. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Mindenek előtt hálával és köszönettel tartozom szüleimnek, szeretetével és elfogult bizalmával mindig mellettem álló **édesanyámnak**, az oktató és tudományos kutató munka iránti érdeklődésemet felkeltő **édesapámnak**, valamint erőt adó szeretetükkel nyugalmat és harmónikus háttérrel biztosító **feleségemnek** és **gyermekeimnek**.

Köszönettel tartozom **összes tanszéki munkatársamnak**, akiknek támogatását és segítségét mindvégig éreztem. Közülük is ki kell emelnem **Dr. Rácz Bence** egyetemi adjunktus nevét, aki különösen a disszertáció összeállításában volt nélkülözhetetlen segítségemre. Köszönöm **Dr. Halasy Katalin** egyetemi tanárnak hasznos tanácsait és külön köszönet illeti **Dr. Hajós Ferenc** egyetemi tanárt, aki húsz évvel ezelőtt a neurobiológia irányába terelte érdeklődésemet. Köszönöm **Kováts Adriennek** áldozatkész munkáját az adminisztráció átvállalásáért.

Nagy szeretettel és hálával gondolok **Dr. Horváth Tamásra**, a Yale Egyetem professzorára valamint feleségére, egyben munkatársára, **Sabrina Dianora**, akik több alkalommal is befogadtak, nem csak laboratóriumukba, de otthonukba is. Köszönettel tartozom a Yale Egyetem Horváth professzor által vezetett tanszék és laboratórium **összes dolgozójának**, akik segítségemre voltak a kísérletek végzésénél, és akik nélkül disszertációm el sem készülhetett volna. A Yale Egyetem szellemiségének meghatározó szerepe volt abban, hogy a tudományos gondolkodást más szemmel nézzem.