

SZAKMAI BESZÁMOLÓ

A hypothalamus és az autonóm idegrendszer szabályozó mechanizmusában részt vevő agypályák topográfiája és neurokémiai karakterizálása

A kutatási téma a hypothalamus és az autonóm idegrendszer közötti neuronális kapcsolatok kimutatására, topográfiai leírásukra, kémiai karakterük meghatározására és funkcionális szerepük tisztázására irányult. A téma 9 altémára oszlott, a kilenc különböző pályarendszert 9 fiatal kutató (PhD és TDK hallgatók) vizsgálta a témavezető és 3 tudományos főmunkatárs vezetésével. A vizsgálatokat neuroanatómiai, neurokémiai és kísérleti agyműtétek széles repertoárjának használatával végezték, ami a nyert eredmények mellett különös jelentőséget adott annak, hogy a fiatal kutatók számos módszert sajátítottak el, és komoly jártasságra tettek szert a patkányagy topográfiai részleteinek megismerésében. A használt technikák: 1) az agyi immunhisztokémia különböző variációi fény- és elektronmikroszkópos szinten, különös tekintettel a többszörös immunfestésekre és azok konfokális mikroszkópos analízisére; 2) *in situ* hybridizációs hisztokémia (egyszeri és kettős; próbák készítése különböző neurotranszmitterek, neuropeptidok, peptid receptorok és transzporterek mRNS-ének kimutatására); 3) neurokémiai mérések, Western blot analízis; 4) pályajelölési módszerek (anterográd, retrográd, transz-szinaptikus jelölések, ezek kombinációi, ill. együttes alkalmazásuk immunhisztokémiai festésekkel); 5) kísérletes agyműtétek (sztereotaxikus léziók, pályaatmetszések, elektródok és injekciós kanülök beültetésével); 6) agyi mikrodosszekció a „punch”-technika alkalmazásával.

Összességében a pályázati téma munkatervében vállalt feladatokat a kutatócsoport sikeresen elvégezte. Egy PhD hallgató (Reichart Anikó) sikeresen védte meg PhD téziseit, négy PhD hallgató várhatóan 2012-ben benyújtja értekezését. Egy fiatal kutató MTA fiatal kutatóként dolgozott. A témában részt vevő 2 TDK-s hallgató számos díjat nyert egyetemi konferenciákon. Az elvégzett kísérletek és vizsgálatok eredményeit eddig 9 nemzetközi és 4 hazai kongresszuson 2 előadáson és 24 poszteren (26 absztrakt, ld. „Közlemények”) ismertették. Eddig 23 tudományos közlemény jelent meg (összesített impakt faktoruk 107.431), további 3 kézirat közlésre vár.

Az elért eredményeket altémákra bontva ismertetjük:

1) *A dorsolateralis hypothalamus orexin-tartalmú neuronjainak agytörzsi projekciói és kapcsolataik szimpatikus és paraszimpatikus premotoros (catecholaminerg) és preganglionaris neuronokkal* (fiatal kutató: Papp Rege Sugárka ösztöndíjas PhD hallgató).

A dorsolateralis hypothalamus neuronokból induló, az alsó agytörzs és a gerincvelő preganglionáris idegsejtjeit, valamint catecholamin sejtcsoportjait beidegző rostokat sikerült teljes hosszúságukban nyomon követni (anterográd pályajelölési módszer). Igazoltuk, hogy ezen leszálló rostok jelentős része orexint tartalmaz.

Fény- és elektronmikroszkópos kettős immunhisztokémiai módszerek alkalmazásával igazoltuk, hogy a dorsolateralis hypothalamusban lévő orexint termelő neuronok beidegzik az agy valamennyi, az alsó agytörzsben található noradrenalin és adrenalin termelő sejtcsoportját. Az orexin/noradrenalin és orexin/adrenalin szinapszisok sűrűségére kvantitatív és konfokális vizsgálatok történtek. Különösen erős orexin-beidegzés volt látható a locus coeruleusban és a hypothalamust, valamint a limbikus rendszert beidegző A1 (noradrenalin) és C1 (adrenalin) sejtcsoportokban. Orexin-tartalmú rostok voltak kimutathatók a paraszimpatikus preganglionáris neuronokat tartalmazó nucleus motorius dorsalis vagi-ban. Követni lehetett orexin-tartalmú rostokat a thoracalis gerincvelőbe, ahol ezek az intermediolateralis szimpatikus preganglionáris sejteken, valamint a Rexed lamina X.-ben végződtek.

A vizsgálatok jelentős része a dorsolateralis hypothalamus szelektív sejtcsoportjaiba sztereotaxikusan adott anterográd (BDA) jelölőanyag követésére irányult. Összességében 51 beadás történt, ezek komplett feldolgozása még folyamatban van. Az eddigi megfigyelések arra utalnak, hogy a dorsolateralis hypothalamus általunk azonosított 7 sejtcsoportja tartalmaz az alsó agytörzsbe projiciáló neuronokat, és ezek mindegyikében vannak orexin-tartalmú és – kisebb részben – melanocyta koncentráló hormont (MCH) expresszáló neuronok. Az eredmények nemzetközi folyóiratban kerültek publikálásra, ill. 2 kongresszuson lettek bemutatva (ref. 21., 40).

2) *Neuroanatómiai és neurokémiai vizsgálatok a nucleus ventromedialis és a táplálékfelvételben szerepet vivő neuronok közötti kapcsolatok tisztázására gold-thioglukózzal kezelt egerekben.* (Fiatal kutató: Szabó-Meltzer Kinga, majd GYES-en való részvétele miatt Kurucz Péter TDK hallgató folytatta a vizsgálatokat.)

Ismeretes, hogy egerekben gold-thioglucoze-kezelés szelektív léziót okoz a hypothalamus ventromediális magjában, neuronjai a beadást követő 2-4 nap közel 100 %-ban elpusztulnak. A túlélő állatok hyperphagiások lesznek, és kórosan, nagymértékben elhízhatnak. Ennek a modellnek az alkalmazásával vizsgáltuk, hogy a ventromedialis mag neuronjai a hypothalamus mely más, a táplálékfelvétel szabályozásában részt vevő magjával vannak kapcsolatban. Erre kombinált (neuropeptid és *c-fos*) immunhisztokémiai vizsgálatok történtek.

A vizsgálatok első részében kiderült, hogy a gold thioglucose akut (6-48 h) hatását követően gyors topográfiai, de nem funkcionális restitúció történik a ventromedialis mag területén. Mivel részletes időbeli változásokra irodalmi adat nem állt rendelkezésre, a beadást követően 2 naponként öltünk le egy-egy állatcsoportot 16 napon át. Megfigyelhető volt, hogy a sejtpusztulás a nucleus ventromedialisban már 6 órával a gold thioglucose beadása után megkezdődik, a 2. napra teljessé válik (a mag dorsolateralis széli részét – a mag 5-10%-a kivéve), a 4. napig gyakorlatilag csak gliaszövet látható, majd fokozatosan idegsejtek foglalják el a ledált területet (feltehetően a szomszédos, főleg perivenetriculáris területről) és a 16. napon elhalt terület a magban nem látszódik. Funkcionális szempontból jelentős maradandó változást a ventromedialis mag és a nucleus arcuatus között kialakuló hegszövet kialakulása jelenti, mely a nucleus arcuatus szinte teljesen izolálja a hypothalamus többi területétől. Kimutatható volt a nucleus arcuatus NPY- és POMC-tartalmú, a nucleus paraventricularisba és a dorsolateralis hypothalamusba projiciáló neuronok rostjainak megszakadása, ami befolyásolhatja a táplálékfelvételt. Nagyobb jelentőségűnek számít azonban az a tény, hogy a kialakult hegszövet gátolja az arcuatus és a nucleus ventromedialis, majd annak léziója után a medialis hypothalamus más területein lévő glucose-érzékeny sejtek vascularis kapcsolatát. Ismert – nagy mértékben Szentágothai és a jelen kutatócsoport eredményei alapján – hogy a nucleus arcuatus jelentős területén nincs vér-agy gát (ref. 8), így a keringésben levő, a táplálékfelvételben meghatározó jelentőségű leptin, insulin és ghrelin ezen a területen „szabadon” jut be a basalis hypothalamusba, ahol jelentős koncentrációban vannak receptoraik. A nucleus ventromedialis léziója, az arcuatus-ventromedialis határon kialakult hegszövet ezt a kapcsolatot megszünteti.

A basalis hypothalamusban levő vér-agy gát sérülése és annak funkcionális jelentősége adta az ötletet, hogy – függetlenül attól, hogy a téma munkatervében nem szerepelt – más olyan agyterületet is vizsgáljunk, ahol nincs vér-agy gát, ugyanakkor meghatározó szerepe van a táplálékfelvételben. Ez a terület a nyúltvelőben a nucleus tractus solitarii (NTS) és az area postrema.

Sikerült igazolni, hogy gold thioglukózzal kezelt egerekben akut lézió következik be az NTS-nek az area postremával határos területén (area subpostrema), melyet a későbbiekben hegszövet kialakulása követ. Ismeretes, hogy az NTS számos neuronja insulin és leptin receptorokat expresszál, melyeket ezen, a vérben keringő hormonok az area postrema vér-agy gátmentes kapillárisain át érnek el intakt állatokban, és akutan befolyásolják a táplálékfelvételt, „blokkolva” a gyomorból a vaguson át felszálló „jóllakottsági” (satiety) szignált.

Az eddigi eredmények egy részét egy közleményben (ref. 8) és két kongresszusi poszteren (ref. 10. és 15) mutattuk be, egy közlemény beadása a közeljövőben várható. A vizsgálatok tovább folytatódnak, bár nagyobb vizsgálatok tervezésének a gold thioglucose árának a korábbihoz képest közel tízszeresére történt emelkedése szab határt.

3) *Az agytörzs TIP39-pozitív neuronjainak az előagyba felszálló projekcióinak topográfiai és funkcionális anatómiai vizsgálata* (Fiatal kutató: Varga Tamás, majd 2010-ben Cservenák Melinda ösztöndíjas PhD hallgató vette át a témát.)

A kutatócsoport két tagja (Dobolyi Árpád és Palkovits Miklós) a National Institute of Mental Health kutatóival együtt izolálta a tuberoinfundibularis peptidet (TIP39), és feltérképezte az e hormont termelő sejteket a központi idegrendszerben. Megállapították, hogy 3 agyterületen, a subparafascicularis areában (NSF), a posterior intralaminaris areában (PIL) és a híd mediális paralemniscalis magjában (NPL) található TIP39-expresszáló neuronok. A NSF-ben és a PIL-ben levő neuronok topográfiájának vizsgálata korábban megtörtént, a projekcióké viszont csak részben, ez képezte a vizsgálatok első részét (A). A mediális paralemniscalis mag korábban szinte ismeretlen volt, első leírásukat a jelen téma során egészítettük ki, és vizsgáltuk meg a mag afferens és efferens kapcsolatait (B). A téma harmadik részét (C) a TIP39 sejtek, valamint receptorának (PTH2) funkcionális anatómiai vizsgálata képezte.

Ezen altéma vizsgálati eredményeiből 5 nemzetközi folyóiratban jelent meg közlemény (ref. 12., 13., 28., 31. és 39.), és 8 posztert mutattunk be nemzetközi konferenciákon.

A) A subparafascicularis és PIL TIP39-PTH2 receptor rendszer topográfiájának vizsgálata majom és humán anyagon tett megfigyelésekkel egészült ki. Ezen immunhisztokémiai és *in situ* hybridizációs adatok elsőként kerültek publikálásra (ref. 1., 3., 13., 26)

Tovább folytattuk a TIP39-t tartalmazó idegpályák vizsgálatát. Igazoltuk, hogy két – az elmúlt években kevésbé kutatott agypálya, a supraoptic decussation és az incerto-hypothalamikus pálya tartalmazza az endokrin hypothalamus magjait beidegző TIP39 rostokat. Eredményeinket egy publikációban (ref. 18) és 2 kongresszusi poszteren ismertettük. A téma neuroanatómiai (topográfiai) vonatkozásának általunk való lezárásaképpen, az eddigi eredmények az egyik legrangosabb review folyóiratban (Progress in Neurobiology, ref. 31) kerültek közlésre.

A posterior intralaminaris komplex (PIL) tuberoinfundibularis peptid (TIP39) tartalmú sejteinek hypothalamikus projekcióit vizsgáltuk a terület elektrolitikus léziójával és a PIL-ből a supraoptic decussations-ban, ill. zona incertában a hypothalamus felé futó TIP39 rostok átvágásával, valamint nyomjelző anyagok segítségével. A PIL efferens és afferens

kapcsolatait neuronális tracerek (kolera toxin béta alegység, biotinilált dextrán amin) használatával vizsgáltuk. Az eredmények arra utalnak, hogy a posterior thalamikus TIP39 sejtcsoport legjelentősebb mértékben a hypothalamus mediális részébe projiciál.

A medialis paralemniscus mag citológiai és topográfiai feldolgozását elvégeztük. A magból felszálló TIP39-pozitív és TIP39-negatív rostok köztiagi és agykérgi végződéseit kísérletes idegsebészeti műtétek, pályajelölési módszerek és immunhisztokémiai festések kombinációjával végeztük (ref. 12., 25).

Anterográd nyomjelző anyagoknak a mediális paralemniscalis és a laterális subparafascicularis magokba való beadása után jelentős számú jelzett rostot találtunk a preopticus területen és a hypothalamusban, melyek a pályáátvágások után eltűntek. Még folyamatban van a mag efferens kapcsolatainak vizsgálata, az előzetes eredmények bemutatása ez évben poszteren megtörtént (ref. 37)

C) A TIP39 funkcionális szerepéről az elmúlt 5 év során több megfigyelés került közlésre. Szerepet tulajdonítanak a fájdalomra és stresszre adott válaszban, valamint hőregulációban. Saját vizsgálataink igazolni látszanak az akusztikus stresszben (zajártalom) vitt szerepét. Újabb megfigyeléseink a laktációban és az anyai viselkedésben való szerepét mutatják. A PIL-ben és a medialis paralemniscalis magban található TIP39 sejtek aktiválódását vizsgáltuk anya patkányokban, azt tapasztaltuk, hogy mindkét terület *c-fos* aktivációt mutat a laktáció idején szoptatást követően (ref. 28., 29., 30).

4) *A gyomorfekély képződésében szerepet vivő agypálya (cortico-amygdaloid-vagus) topográfiai lokalizálása és kémiai karakterizálása* (Fiatal kutató: Guttman-né Reichart Anikó, aki 2009-ben e témában védte meg értekezését. Munkáját Szabó Éva Rebeka folytatta.)

A kutatócsoport korábbi munkájában igazolta az anterior cingularis kéreg szerepét a gyomorfekély képződésében (Rónai *et al.*, Brain Res 947:90, 2002). Ezen agyterület léziója, illetve az innen eredő idegrostok átvágása ulcus protektív hatást eredményezett. További tisztázásra várt a feltételezett agypálya – konkrétan az agykérget a vagus secretomotoros magjával összekötő pálya - lokalizálása.

Tekintettel arra, hogy a vizsgálandó pálya multiszinaptikus, a vizsgálatokat pseudorabies vírus genetikailag módosított törzseivel végeztük. Az ehhez szükséges optimális paramétereket kidolgoztuk és meghatároztuk a vírus intracraniális alkalmazásának feltételeit (ref. 24., 25). Anterográd pályajelölés és immunhisztokémiai festések együttes alkalmazásával sikerült kimutatni a cingularis anterior kéregből az amygdalába vezető pályát és annak végződéseit GABA interneuronokon. Igazoltuk, hogy az anterior cingularis kéreg jelentős

inputot kap a prelimbikus és infralimbikus agykéregből, s ezen kapcsolatok bilaterálisak. További vizsgálatok keretében mutattuk meg az amygdalán belüli kapcsolási viszonyokat. Igazoltuk, hogy a kérgi rostok zöme a basolateralis amygdalamagban végződik. A centrális amygdala mag – melyből eredő, az ulcus-képződésben jelentős amygdala-vagusmag közötti pályát e pályázat keretében az elmúlt években igazoltuk – nem kap közvetlen limbikus kérgi szignált, azokat a basolateralis mag továbbítja hozzá. Immunhisztokémiai vizsgálatokkal igazoltuk, hogy az amygdalából a vagus maghoz futó rostok zöme peptiderg. Az eredmények összefoglalását tartalmazó cikk közlés előtt áll.

5) A trigemino-hypothalamikus pálya topográfiai vizsgálata és feltételezett szerepe a fájdalom okozta stressz válaszban.

A múlt század utolsó évtizedében igazolták, hogy a hypothalamusban végződő és stressz választ kiváltó spinális eredetű hő- és fájdalomérző rostok nem (vagy csak részben) a spinothalamikus pálya kollaterálisai, hanem egy direkt pályán, a tractus spinothalamicuson át jutnak a lateralis hypothalamikus areába, és onnan a nucleus paraventricularisba. Ennek analógiájára tételeztük fel és vizsgáltuk egy direkt trigemino-hypothalamikus pálya létezését. (Fiatal kutató: Kirschenbaum Dániel, TDK hallgató). A vizsgálatok – Kirschenbaum Dániel külföldön folytatódó tanulmányai miatt – csak részben fedik a munkatervben tervezett kísérleteket, ugyanakkor, éppen a kezdeti megfigyelések alapján olyan nem tervezett vizsgálatokat is elvégeztünk, melyek a téma folytatásához szükségesek.

Trigeminus vonatkozású fájdalom-stresszként patkányban féloldali fogpulpa ingerlést végeztünk. Az akut fájdalom okozta idegsejt aktivitást Fos-immunohisztokémiai festéssel mutattuk ki. Igazolást nyert, hogy az érző trigeminus mag pars caudalisának ventrális területén, valamint a nucleus tractus solitarii területén jelentős számú idegsejt jött ingerületbe, valamint igen erős aktivitás volt található a hypothalamus paraventricularis magjában, és elszórtan az area hypothalamica lateralisban. Ezt követően multiszinaptikus retrográd pályajelölésre pseudorabies vírust injektáltunk a fogpulpába. A vírusfertőzött sejtek eloszlása megegyezett a fájdalom-ingerre aktiválódott Fos-pozitív sejtek eloszlásával. A továbbiakban demonstrálnunk kell a trigeminus mag pars caudalis ventrális része és a hypothalamus közötti pálya topográfiai lefutását.

A vizsgálatok első részével egyidőben kísérletek történtek az esetleges hő-szenzitív idegrostoknak a trigemino-hypothalamus pályában való részvételére. Az antero- és retrográd pályajelölési kísérletek valószínűsítik a hőszenszitiv rostok részvételét a trigemino-hypothalamikus projekcióban. Mind a hidegre, mind a melege érzékeny neuronok jelen

vannak a nyúltvelőben és funkcionális kapcsolatban vannak a hypothalamus laterális preoptikus areájában lévő idegsejtekkel (ref. 2). Bár a nyúltvelőben a termoszenzitív idegsejtek nem a trigeminus érző magja pars caudalisának ventrális részén, hanem közvetlenül azok mellett, az ún. peritrigeminalis magban találhatóak, rostjaik feltehetően a trigemino-hypothalamus pályán belül, vagy annak szomszédságában szállnak fel a preopticus areába.

A másik nem tervezett vizsgálat abból a megfigyelésből adódott, hogy mind a fájdalom-stressz, mind a hőinger hatására a trigeminus mag közelében lévő noradrenalin (A1) és adrenalin (C1) sejtsoport neuronjaiban is Fos aktiválódás volt megfigyelhető. Hasonlóan, aktiválódtak a nucleus tractus solitarii területén levő noradrenalin (A2)- és adrenalin (C2)-tartalmú neuronok is (ref. 16). Jelenleg vizsgálatok folynak annak tisztázására, hogy ezen catecholamine-tartalmú rostokból álló felszálló noradrenalin-pálya topográfiai kapcsolatban áll-e a trigeminus pálya hő- és fájdalomérző rostjaival. Hasonlóan kérdéses, de vizsgálandó, hogy az ugyancsak az alsó agytörzsből eredő, a vestibularis stresszben szerepet vivő neuronok axonjai a trigemino-hypothalamikus pályához csatlakozva, vagy külön pályán, solitaer projekció révén jutnak a hypothalamus paraventricularis magjába (ref. 6).

6) A gyomor és a duodenum beidegzésében részt vevő szimpatikus és paraszimpatikus premotoros neuronok eloszlása a hypothalamusban, limbikus rendszerben és az alsó agytörzsből. (Fiatal kutatók: Kurucz Péter és Kirschenbaum Dániel, TDK hallgatók)

A gyomor és a duodenum beidegzésében részt vevő szimpatikus és paraszimpatikus premotoros neuronok vizsgálata retrográd kettős jelölésen alapuló vírusos (pseudorabies) pályajelölési módszerrel történt. A különböző módon jelölt, de végül két különböző színben megjelenő vírustörzsek beadása a gyomor antrális részének, illetve a duodenum felső egyenes szakaszának falába történt. Az egyes állatcsoportokat 2, 3, 4 és 5 nappal a beadást követően öltük le, így az elsődlegesen, másod- és harmadlagosan fertőzött sejtek megjelenése a vírus terjedésének függvényében elkülönülten volt megfigyelhető. E technika alkalmazásával a gyomorba, ill. a duodenumba projiciáló sejtek különböző színnel jelölődnek (zöld, piros), illetve mindkét területre projiciáló neuronok sárga színben jelennek meg. Kimutattuk, hogy az agytörzsi és a gerincvelői preganglionáris neuronok szelektíve idegzik be a gyomor (antrum) és a duodenum területét, és ez a szelektív beidegzés a premotoros idegekre is érvényes. A nucleus motorius dorsalis vagi neuronjainak 90-95%-a szelektíven idegzi be a gyomrot, illetve a duodenumot, a sejtek kis százaléka mindkét szervhez küld axonkollaterálist. Az alkalmazott vírus-jelölés során az elsődlegesen fertőzött motoros vagusmag sejtjein végződő szinapszisokon át (retrográd) fertőződnek a magot beidegző

sejtcsoportok neuronjai. Így másodlagosan fertőződött a nucleus tractus solitarii, egyes serotoninerg sejteket tartalmazó raphe magok egyes catecholamine-tartalmú alsó agytörzsi sejtcsoportok, a hypothalamus paraventricularis és arcuatus magjai és a dorsolateralis hypothalamus egyes sejtjei. Ez utóbbiak közé orexint és MCH-t expresszáló neuronok tartoznak (ref. 20). Általános – és egyben új – szabálynak tekinthető, hogy a paraszimpatikus preganglionáris neuronokat beidegző ún. paraszimpatikus premotoros neuronok a neuraxis teljes hosszában szervspecifikusak. Az eredmények közzlése folyamatban van.

7) *Az alsó agytörzs hypothalamusba projiciáló viszceroszenzoros neuronjainak, pályáiknak és végződéseiknek kémiai karakterizálása és feltérképezése.* (Fiatal kutató: Dobolyiné Renner Éva ösztöndíjas PhD hallgató. A témához a támogatási periódus egyes szakaszaiban csatlakozott még Könczöl Katalin ösztöndíjas PhD hallgató és Guillaume Lourmet PhD hallgató is.)

Az elsődleges viszceroszenzoros központ (nucleus tractus solitarii, NTS) és a diencephalon idegi kapcsolata régi témája a kutatócsoportnak. Számos vizsgálati módszer (agyi léziók, pályaaátmetszés, kettős immunfestés, *in situ* hybridizáció) alkalmazásával kimutattuk, hogy a NTS-ből felszálló pályák egyik kiemelt végződési helye a nucleus dorsomedialis ventralis szubdivíziója (ref. 22., 23., 44). Ez most új szempontokkal egészült ki. Kimutattuk, hogy két, a táplálékfelvételben szerepet vivő neuropeptid az NTS egyes sejtcsoportjaiban szintetizálódik. A prolactin-releasing hormon az NTS noradrenalin sejtjeiben expresszálódik, és a hypothalamusba projiciál (ref. 11., 43). Bizonyítást nyert, hogy az NTS-ből eredő glucagon-like peptid-1 tartalmú idegrostok végződésai a hypothalamus dorsomedialis magját idegzik be (ref. 42., 43., 49). Agyi léziók és immunhisztokémiai festések alkalmazásával feltérképeztük a pálya topográfiáját, és *c-fos* immunfestéssel igazoltuk a pálya jelentőségét a táplálékfelvétel szabályozásában. Az altémához több nem tervezett vizsgálat is járult, ezek a viszceroszenzoros idegrendszer és a hypothalamus kapcsolatainak egy-egy speciális szegmentjét érintik (ref. 19., 33).

A felszálló viszceroszenzoros rostok nyomon követésére és végződésére történt megfigyelések a nucleus accumbensre is kiterjedtek, különös tekintettel e területnek a hypothalamus-szal való kapcsolatára a táplálékfelvétellel együtt járó reward (jutalmazási) mechanizmus során.

8) *A hypothalamus nucleus arcuatus neuronjainak agytörzsi és gerincvelői projekcióinak vizsgálata* (Fiatal kutató: Kovács Zsolt István PhD hallgató, távozását követően Könczöl Katalin ösztöndíjas PhD hallgató).

Tekintettel arra, hogy a nucleus arcuatus erősen heterogén szerkezetű és számos neuropeptid (neurohormon)-termelő sejtje a mag különböző, de meglehetősen kis területű szubdivízióban helyezkedik el, a tervezett sztereotaxikus pályajelölési módszer miniaturizálására volt szükség. Ez a módosított technika kidolgozásra és publikálásra került (ref. 36). Alkalmazásával sikerült bizonyítani számos ismert hypothalamikus és alsó agytörzsi kapcsolatot, különös tekintettel a nucleus tractus solitarii-ba történő projekciókra, melyek feltehetően a hypothalamo-autonóm rendszer feedback mechanizmusának lényeges komponensei. Új megfigyelésnek tekinthető a szelektíve lokalizált, a salivatoros neuronokhoz leszálló (ref. 9) nucleus arcuatus projekció. A vizsgálatok a gerincvelő esetében a már mások által publikált arcuatus CGRP projekció topográfiai bizonyítékát jelentik.

A vizsgálatok Kovács Zsolt távozásával másutt folytatódnak.

A nem tervezett kísérletek közé tartoznak azok a megfigyelések, melyeket az újonnan megismert anorexigen peptidnek – nesfatin-1 – az arcuatus magban való kimutatása jelent. A nesfatin mRNS fokozódását figyeltük meg akut restraint stressz hatására a nucleus arcuatusban. Kimutattuk és kvantifikáltuk a nesfatin katecholaminerg neuronokban való lokalizációját is a nucleus arcuatusban (A12) és az A14 sejtcsoportban. Az eredmények alapján valószínűnek tartjuk a stressz hatására létrejövő prolaktinszint emelkedés szabályozásában a nesfatin részvételét (ref. 34., 35).

9) *A hippocampus és a hypothalamus paraventricularis magja közötti funkcionális kapcsolatok vizsgálata.* (Fiatal kutató: Balázs Tamás, MTA fiatal kutatói ösztöndíjas, levelező PhD hallgató.)

Az altéma megtervezése után – mely a kutatócsoport korábbi stressz és pályajelölési vizsgálatainak eredményeire épült – számos új eredményt publikáltak más laboratóriumokból, melyek a munkaterv módosítását tették szükségessé. A hippocampus és a hypothalamus paraventricularis magja közötti kapcsolat (ventralis subiculum projekciója) igazolása után a stressz hatását vizsgáltuk a hippocampus és a paraventricularis neuronok egyidejű aktivitására. A téma folytatásához szükséges Western blot technikát sikeresen beállítottuk. Számos mérés történt a későbbiekben célzottan vizsgálandó protein mérésében bekövetkező *post mortem* változások tisztázására. Vizsgálatok történtek a kísérletes akut agyi ischémiának a hippocampusra kifejtett hatására és a prekondicionális effektus tisztázására. Ischémiát követően jelentősen megnő az AP1 transzkripciós faktor egyik összetevőjének, a *c-fos* fehérjének expressziója. A *c-fos* expressziót kimutató immunhisztokémiai és *in situ* hybridizációs vizsgálatok egyértelműen mutatták az ischemia hatását a hippocampus – gyrus dentatus – subiculum régiókban, különös tekintettel a gyrus dentatusra.

Unilateralis prekondicionálás mindkét oldalon szignifikánsan csökkenti a bilaterális ischemia által okozott *c-fos* expressziót. A septo-temporális tengely mentén, a vizsgált területen nem volt szignifikáns különbség a *c-fos* pozitív sejtek számában. A csökkenés az ipszilaterális oldalon jelentősebbnek tűnik, de a két oldal között nem volt szignifikáns különbség. A két hippocampus közötti rostkapcsolatok átvágása nem okozott különbséget az unilaterálisan prekondicionált állatokban. A *c-fos* aktivációs mintázata ischemiában, ill. a prekondicionálást követő ischémiában önmagában nem ad kielégítő választ a hippocampuson belüli neurodegenerációs folyamatokra. Itt az ischemia okozta *c-fos* expresszió igen jelentős volt (legnagyobb a vizsgált területek közül), de meglepetésre – ellentétben a hippocampus-szal – prekondicionálás nem változtatta meg, nem védte ki az ischemia markáns hatását. A jelenség más aspektusból való megközelítése, más módszerek alkalmazása a közeljövő tervei között szerepel.