

Új hypothalamo-hypophysealis mechanizmusok szerepe a  
hypophysis hormonürítésének szabályozásában.

Doktori tézisek

**Dr. Oláh Márk**

Semmelweis Egyetem  
Szentágotthai János Idegtudományok Doktori Iskola



Témavezető: Dr. Nagy M. György, egyetemi tanár, az  
orvostudományok doktora

Hivatalos bírálók: Dr. Kovács Krisztina, a biológiai  
tudományok doktora  
Dr. Patócs Attila, tudományos  
főmunkatárs, Ph.D.

Szigorlati bizottság elnöke: Dr. Tekes Kornélia, egyetemi tanár,  
pharm. habil., az orvostudomány  
kandidátusa

Szigorlati bizottság tagjai: Dr. Kiss József, tudományos  
főmunkatárs, a biológiai tudományok  
doktora  
Dr. Fekete Márton, tudományos  
főtanácsadó, az orvostudományok doktora

Budapest  
2010

## BEVEZETÉS

### 1. Az ACTH szekréciójának szabályozása és összefüggése a laktációval

A szervezet homeosztázisának és a milieu intérieur fenntartásához szükséges kortikoszteroidok szintézisét szabályozó ACTH ürítésében a hypothalamikus corticotriopin releasing hormon (CRH), az arginin- vazopresszin (AVP), valamint a kettő szinergizmusa meghatározó jelentőségű. Az úgynevezett HPA-tengely és a különböző szintű feedback mechanizmusok a neuroendokrin működés legrégebben ismert szabályozó köreit jelentik. A hypophyseotrop CRH-erg neuronok a nucleus paraventricularis (PVN) parvocellularis magcsoportjában helyezkednek el, axonjaik az eminentia mediana kapillárisurkain végződnek. A CRH-hoz hasonlóan a parvocelluláris PVN-ban termelődő nonapeptid AVP szintén a hypophysealis portális erekbe ürül, és a véráram útján az elülső lebenybe jutva a kortikotrop sejtek ACTH felszabadulására fejt ki serkentő hatását.

Az ACTH molekula egy prekursor molekulából, az ún. pro-opio-melanokortinból (POMC) enzimatisus hasítások révén keletkezik:

A POMC a szervezetben a hypophysis elülső- és közti lebenyén kívül több helyen, nevezetesen a bőrben, az immunrendszerben, és az agyban is expresszálódik. A fehérje translációját követően a molekula áthalad a Golgi-apparátuson, majd a specifikus szignál peptid segítségével szekréciós granulomokba kerül, ahol további poszttranszlációs módosításokon megy keresztül. A granulomok belsejében a szerin-proteázok családjába tartozó enzimek, a prohormon-konvertázok (PC) végzik el a POMC hasítását. E család tagjai közül a prohormon-konvertáz 1/3 (PC1/3) és prohormon-konvertáz 2 (PC2) játssza a döntő szerepet a POMC érése során. A prohormon konvertázok eltérő szöveti expressziója következtében a hypophysis elülső lebenyében főként ACTH, míg a közti lebenyben főként alfa-melanocita-stimuláló hormon ( $\alpha$ -MSH) szintetizálódik. Ez a hasítási folyamat nagymértékben függ a dopamin  $D_2$ -receptorok funkcionális integritásától.  $D_2$ -receptor hiányos egerekben a humán Cushing-kórnak megfelelő szindróma alakul ki azzal a különbséggel, hogy az ACTH hiperszekréció forrásaként a hypophysis közti lebenyi melanocitákat gondolják.

Az 1970-es évek vége óta ismert, hogy a szoptatási időszakban rágsálókban az ACTH és a kortikoszteron elválasztása megemelkedik és az ACTH termelő elülső lebenyi sejtek érzékenysége a CRH és az AVP serkentő hatásával szemben jelentősen megváltozik. Ennek okát egyes kutatócsoportok krónikus stresszel magyarázzák, azonban patkányokban a laktáció során megemelkedett ACTH és kortikoszteron elválasztás, a prolaktinhoz (PRL) hasonlóan, a kölykök elvételét követően szinte azonnal lecsökken. A néhány órás elválasztás után a kölykök visszahelyezése gyors, 15-30 percen belüli, plazma hormonszint emelkedést vált ki.

## 2. A prolaktin szekréciójának szabályozása

A PRL a hypophysis elülső lebeny mammotrop sejtjei által termelt és kiválasztott polipeptid hormon. Emlősállatokban nélkülözhetetlen szerepet játszik a laktáció megindításában és fenntartásában. Leghatásosabb fiziológiás stimulusa a kölykök által kifejtett szopási inger, amelynek hatására az anyaállat szérum PRL szintje már néhány perc múlva az alapérték többszörösére emelkedik, és a szoptatás egész időtartama alatt magas marad.

A PRL elválasztás fő fiziológiai szabályozója a mediobasalis hypothalamusban termelődő dopamin. Az agyalapi mirigy működését befolyásoló dopaminerg neuronok a hypothalamikus nucleus periventricularis és a nucleus arcuatus területén helyezkednek el. Ez a két neuronális sejtcsoport három, egymástól mind morfológiailag mind funkcionálisan elkülönülő rendszerre osztható, ezek a periventriculo-hypophysealis (PHDA), a tuberohypophysealis (THDA) és a tuberoinfundibularis dopaminerg rendszer (TIDA). Az utóbbit alkotó neuronok axonjai az eminentia mediana külső rétegében, az ún. hosszú portális erek körül végződnek. Az itt felszabaduló dopamin a portális erek vérével eljut az adenohipophysis laktotrop sejtjeihez és ott gátolja a PRL ürítését. Ugyanakkor a hypophysis közti-hátsó lebenyében végződő, a tuberohypophysealis rendszerhez tartozó idegsejtek is részt vesznek a PRL elválasztás szabályozásában.

A dopamin bioszintézisben a szintézis „sebességét” meghatározó lépés az L-3,4-dihidroxifenilalanin (L-DOPA) képződése a neuronok által felvett tirozinból. Ezt a lépést a tirozin-hidroxiláz (TH) enzim katalizálja. A TH lényeges poszttranszlációs modifikációja, foszforilációja szükséges a maximális enzimaktivitás eléréséhez, amely folyamat az axonterminálisokban megy végbe. A

keletkezett L-DOPA-t ezután az aromás-aminosav-dekarboxiláz enzim alakítja át dopaminná. Hosszú ideig úgy tűnt, hogy ellentétben a többi adenohipophysealis hormon szabályozásával, amelyekre serkentő és gátló faktorok egyaránt hatnak, a PRL elválasztás szabályozásában kizárólag tónusos gátló szabályozás érvényesül. Napjainkra azonban bizonyossá vált, hogy a dopamin, a jól ismert gátló hatása mellett, meglehetősen alacsony koncentrációban alkalmazva képes serkenteni a PRL szekrécióját.

### 3. A D<sub>2</sub>-dopamin receptorokon megvalósuló tónusos gátlás

Az utóbbi évek kutatásai kimutatták, hogy a legtöbb, G-fehérje-kapcsolt 7-transzmembrán (7-TM) doménnel rendelkező receptorfehérje (GPCR-ek) intracelluláris jelátvitelében a ligand tartós jelenléte során különféle adaptív változások indulhatnak meg, ill. a receptor internalizálódhat. Sejtbiológiai szempontból ezek a mechanizmusok jelentik a deszenzitizáció és a tolerancia fogalmát. A laktáció időszaka alatt a hypophysis elülső lebenyében a laktotrop sejteken megtalálható dopamin D<sub>2</sub>-receptorokon tehát *in vivo* és *in vitro* deszenzitizáció szükséges, amely nélkülözhetetlen a folyamatos PRL-elválasztás fenntartásában. A D<sub>2</sub>-receptor jelátvitelében a “klasszikusnak” nevezett jelátviteli út (G<sub>i</sub> fehérje, cAMP-protein kináz A) mellett 2004-ben leírtak egy úgynevezett “G-fehérje-független”, szerin/treonin kináz Akt (protein kináz B) által regulált intracelluláris szignáltranszdukciós rendszert, amely szorosan részt vesz a dopamin által kiváltott biológiai válaszok regulációjában. Ennek a jelátviteli útnak a dopamin receptorokkal való kapcsolatát elsősorban egér striatumban vizsgálták pszichotrop gyógyszerek és a lítium pontosabb hatásmechanizmusának tanulmányozása céljából. Ennek az alternatívának nevezett jelátviteli útnak a középpontjában a G-fehérjék deszenzitizációjában kulcsfontosságú β-arrestin2 molekula áll, amelynek 1-es típusa a G-fehérjével működő retinális csapok sötétadaptációjában és az adrenerg-receptorok deszenzitizációjában vált ismertté. A GPCR-β-arrestin2-Akt komplex szerepe kettős: egyrészt szétkapcsolja a 7-TM-receptor G-protein mediált jelátvitelét, másrészt elősegíthet egy új, G-fehérje independens jelátvitelt. Az Akt jelen ismereteink szerint számos biológiai folyamat regulációjában részt vesz (glikogenezis, embrionális fejlődés, gyulladás, apoptózis, sejtproliferáció), de több patológiás folyamat kulcsszabályozója lehet. A PRL elválasztásban

betöltött szerepe kevésbé ismert, így kísérleteinkben markerként használtuk a D<sub>2</sub>-receptor mediált PRL-válasz vizsgálatában.

## CÉLKITŰZÉSEK

1. A hypothalamo-hypophysealis neuroendokrin dopaminerg (NEDA) rendszer új szabályozó mechanizmusait, a laktáció során lezajló PRL és ACTH ürítés sajátosságait vizsgáltuk. Kísérleteink a laktotrop sejt felszínén megtalálható D<sub>2</sub>-dopamin receptor fiziológias működésével és farmakológias befolyásolásával elérhető biológias válaszok (plazma hormonszintek) mérésén alapultak. Kérdésfeltevéseink a következők voltak:

- A. A szoptatás során az általunk mérhető plazma hormonok (PRL, ACTH,  $\alpha$ -MSH) szekréciójának milyen a fiziológias, időbeli lefolyása?
- B. Hogyan alakul ezeknek a hormonoknak a szekréciója az elválasztott anyákban az elválasztást megelőző dopamin D<sub>2</sub>-receptor agonista bromokriptin (BRC) valamint antagonistá haloperidol (HAL) és dopamin bioszintézis gátló alfa-metilpara-tirozin ( $\alpha$ MpT) kezelés hatására?
- C. Van-e különbség a dopaminra adott hormonválaszban laktáló, ovariectomizált (OVX) és ovariectomizált, ösztradiol (E<sub>2</sub>) visszapótolt OVX/E<sub>2</sub> visszapótolt anyák között?
- D. A hypophysis elülső- és közti lebenyének szöveti ACTH és  $\alpha$ -MSH koncentrációjában - amely a POMC processzálását tükrözi - kimutatható-e bármilyen változás a szoptatás során?
- E. A hypophysis-nyélben futó, a közti és hátsó lebenyben végződő dopaminerg rostok (PHDA, THDA) mechanikus átvágása befolyásolja-e az ACTH ürítést?
- F. A szopási stimulus és a dopamin megvonás ( $\alpha$ MpT kezelés) együttes, ill. szekvenciális alkalmazása képesek-e egymás hatását potenciózni, illetve gyengíteni?
- G. Az alkalmazott szopási stimulus és a dopamin megvonás ( $\alpha$ MpT kezelés) hatására az eminentia mediana dopaminerg terminálisiban a TH foszforiláció hogyan változik a kontroll elválasztott állatokhoz képest?

2. Fiziológias körülmények között illetve a dopaminerg farmakológias beavatkozásokat követően kimutathatók-e  $\beta$ -arrestin-mediált intracelluláris jelátviteli utak a hypophysis elülső lebenyében vad típusú patkányban? Az alábbi kérdésekre kerestük a választ:

- A. Az extracelluláris dopamin farmakológias elvonása képes-e hímeiben a  $\beta$ -arrestin-dependens jelátvitel megindítására?
- B. Van-e különbség a fenti kezelések során a  $\beta$ -arrestin-dependens kaszkád működésében és a plazma PRL mennyiségében hím, elválasztott laktáló és OVX nőstény patkányok között?
- C. A szoptatás hogyan befolyásolja a  $\beta$ -arrestin-dependens jelátvitel aktivitását?
- D. Az Akt és a p42/44 MAP-kináz (ERK1/2) foszforilációja lehet-e ok-okozati kapcsolatban a PRL elválasztásával?
- E. Milyen molekuláris biológiai folyamatok, jelátvivő mechanizmusok állhatnak a laktotrop sejtek dopamin-érzékenységének megváltozása, vagyis a tónusos dopaminerg gátlás felfüggesztődésének hátterében?

## MÓDSZEREK

Kísérleteinkhez elsősül, Sprague-Dawley törzsből származó laktáló patkányokat használtunk, melyeket standard patkánytápon, állandó hőmérsékleten és kontans fényviszonyok között (14 h fény, 10 h sötétség) tartottunk.

### *Intravénás kanülálás, szoptatási modell és vérvétel*

A szopási stimulus hatására bekövetkező prolaktin, ACTH és  $\alpha$ -MSH szekréciót a szülés utáni 7-11. napon vizsgáltuk. Két nappal a kísérlet előtt krónikus szilikon kanült ültettünk be az állatok jugularis vénájába, mely lehetővé teszi a többszörös vérvételt a szabadon mozgó állatokból. A kísérlet napján 4 órás elválasztás követően a kölykök visszatétele illetve a különböző farmakológias kezelés után 15, 30, 60, 75 és 90 perccel történtek a vérvételek.

### *Radioimmunoassay*

A levett vérminták centrifugálását követően a vérplazmából a PRL, ACTH és  $\alpha$ -MSH szinteket radioimmunoassay (RIA) módszerrel határoztuk meg. A plazma hormonkoncentrációk mérését hypophysis

elülső és közti lebenyéből előállított extraktumok hormonkoncentrációinak mérésével (ACTH,  $\alpha$ -MSH) is kiegészítettük.

#### *Farmakológias kezelések*

*1. A NEDA rendszer farmakológias befolyásolása laktáló, ovariectomizált és ösztradiol visszakezelt patkányokon:*

a. Az extracelluláris dopamin-depléciót tirozin-hidroxiláz inhibitor alfa-metil-para-tirozinnal végeztük (25 mg/kg iv.) a 4 órás elválasztási periódust követően, illetve

b. a 4 órás elválasztást követően *perifériás* D<sub>2</sub>-dopamin receptor antagonistá domperidon (25  $\mu$ g/állat iv.) kezelést végeztünk.

c. Annak tisztázására, hogy dopamin agonista előkezelés kivédi-e a szoptatás által létrejövő PRL és ACTH választ 3 mg/kg ip. bromokriptin kezelést végeztünk 60 perccel a szoptatás megkezdése előtt.

*2. A szoptatás és a tirozin-hidroxiláz gátlás együttes hatása a plazma PRL, ACTH,  $\alpha$ -MSH szekréciójára:*

a. 4 órás szeparációt követően  $\alpha$ MpT 8 mg/kg iv. beadását végeztük az előző napon kialakított vena jugularis kanülön és a 60. perc után adtuk vissza a kicsinyeket.

b. 4 órás szeparációt követően a kölyköket visszaadtuk és a 60. perces vérmintát követően iv. 8 mg/kg  $\alpha$ MpT kezelést végeztünk.

*3. A TH foszforiláció immunhisztokémiai vizsgálatára három csoportot hoztunk létre:*

-  $\alpha$ MpT kezelés (200 mg/kg ip.) 30 perccel a 4 órás elválasztási periódus előtt

- Folyamatosan szoptató,

- 4 órára elválasztott anyák.

*4. A western-blot és az intracerebro-ventrikuláris. kezeléssel kíséreltek során alkalmazott farmakológias beavatkozások az előzőeken kívül:*

A protein foszfatáz 2A (PP2A) gátlószereként okadánsav (OA) 0,5 µl 0.5 mM 20% DMSO-ban oldva icv a III. agykamrába,

SL327, szelektív MEK1/2 (MAP-kináz-kináz) inhibitor, 5 mg/kg ip.

Raclopride, szelektív D<sub>2</sub>-receptor antagonistá 2,5 mg/kg ip.

#### *A hypophysis közti- és hátsó lebenyének denervációja:*

Annak igazolására, hogy a THDA és PHDA neuronok részt vesznek a laktáció során a közti lebenyben bekövetkező alternatív POMC hasításában, az ún. nyélnyomorításos beavatkozást (THDA, PHDA axonok léziója) laktáló patkányokon is elvégeztük és a plazma ACTH koncentrációját vizsgáltuk.

#### *Immunhisztokémia*

Az eminentia mediana TH és foszfo-TH expresszióját Ni-DAB immunhisztokémiai módszerrel mutattuk ki folyamatosan laktáló, 4 órára kölykeiktől elválasztott, valamint az elválasztást megelőzően αMpT-vel is kezelt laktáló nőstényeknél.

#### *Szöveti western blot*

A szoptató anyák dekapitációját és a hypophysis elülső lebeny eltávolítását a szoptatás megkezdését követő 10. és 60. percben végeztük a törzsvér összegyűjtésével együtt. Hímek esetén a szervkivételek a farmakológias kezeléseket (dopamin antagonisták) után 30, 60 és 120 perccel történtek. A kétoldali ovariectomián átesett nőstény állatok hypophysisét 60 perccel a haloperidol kezelést követően vizsgáltuk.

Annak eldöntésére, hogy az ERK-foszforiláció ténylegesen szerepet játszik-e a szoptatás-indukált PRL válasz szabályozásában, MAP-kináz-kináz bénító SL327 intraperitoneális kezelést végeztünk 30 perccel a szoptatás megkezdése előtt. A membránok előhívásához az alábbi, kereskedelmi forgalomban elérhető primer antiszérumokat használtuk: Cell Signaling Technology anti-totál-Akt, anti-foszfo-Akt (Thr308), anti-totál-p42/44 MAP-kináz, totál anti-p42/44 foszfo-MAP-kináz és anti-β-aktin

#### *Szöveti katekolaminok meghatározása HPLC-vel*

Folyamatosan laktáló és OVX patkányok hypophysis elülső- és közti-hátsó lebenyi homogenizátumaiból a dopamin és a DOPAC



koncentrációkat C18 reverz fázisú nagynyomású folyadékkromatográfiás készülék segítségével határoztuk meg

#### *Intracerebro-ventrikuláris kanülálás*

Sztereotaxikus készülékkel a PP2A inhibitor okadánsavat a III. agykamrába beadtuk, majd a vénás vér PRL koncentrációjának változását követtük.

## **EREDMÉNYEK**

### 1. A hypophysis hormonok szekréciójának sajátosságai a laktáció során

A szoptatás megkezdését követően mind a plazma PRL, mind az ACTH szignifikáns emelkedése tapasztalható. A szoptatás megkezdése előtt 1 órával alkalmazott dopamin D<sub>2</sub>-receptor agonista BRC előkezelés azonban mindkét fiziológiás hormonválaszt kivédte. Míg szoptatókban a farmakológias dopamin depléció szignifikáns plazma ACTH emelkedéssel jár, az OVX ill. E<sub>2</sub>-visszapótlott nőstény patkányok esetében a dopamin farmakológias megvonása nem fokozta az ACTH ürítését. A dopamin megvonás a PRL ürítés tekintetében mindhárom csoportban szignifikáns hormonürítés-emelkedést eredményezett, a plazma  $\alpha$ -MSH koncentrációját azonban laktálóknál egyáltalán nem befolyásolta. A BRC előkezelés képes volt kivédeni mindkét típusú dopamin megvonás által előidézett PRL- és ACTH választ.

A szopási stimulus és a dopamin-megvonás együttes alkalmazása során kimutattuk, hogy a korábban alkalmazott szopási stimulus, a PRL és az ACTH plazmakoncentrációját már a 15. perctől kezdődően növelte, azonban a 60. percben beadott  $\alpha$ MpT további szignifikáns emelkedést nem eredményezett.

Ezzel szemben a szoptatást megelőzően alkalmazott  $\alpha$ MpT a PRL és az ACTH plazmakoncentrációját jelentősen megnövelte, de a 60. percben megkezdett szopási stimulus ezt tovább nem befolyásolta.

Az ACTH és az  $\alpha$ -MSH szöveti koncentrációját RIA-val meghatározva laktáló és OVX nőstényekben a következő eredményeket kaptuk:

- A. A közti-hátsó lebeny ACTH koncentrációja laktálókban körülbelül kétszerese az OVX csoportban tapasztaltnak.
- B. Az OVX csoportban az elülső lebenyi ACTH koncentráció a laktálókhoz képest mintegy háromszoros.
- C. Az  $\alpha$ -MSH koncentrációja a közti-hátsó lebenyben szignifikánsan alacsonyabb a laktálókban, mint az OVX csoportban.
- D. Az elülső lebeny  $\alpha$ -MSH koncentrációja a laktáló csoportban az OVX körülbelül 8-szorosa.

A dopamin és DOPAC szöveti HPLC meghatározás szerint a laktáció során a hypophysis közti és hátsó lebenyének dopamin koncentráció az OVX állatok nyolcadrésze.

A hypophysis közti-hátsó lebenyének deafferenciációja során kimutattuk, hogy a hypophysis hátsó lebenyébe ürülő AVP nem vesz részt az ACTH-ürítés szabályozásában.

## 2. A TIDA neuronok funkcionális morfológiai vizsgálata

A laktáló nőtények 4 órás elválasztása után az eminentia mediana külső zónájában fokozott tirozin-hidroxiláz foszforilációt észlelhető a folyamatosan laktáló, ill.  $\alpha$ MpT kezelt állatokhoz képest. A folyamatosan laktáló csoport esetében a foszforiláció minimális szintje igazolható.

## 3. Új jelátviteli utak jelentősége a hypophysis elülső lebenyében

Hím állatok hypophysis elülső lebenyében a kontrollhoz képest mind az  $\alpha$ MpT, mind a HAL kezelés során megemelkedett az Akt és a p42/44 MAP-kináz (ERK) foszforilációja.

Az időbeli változás vizsgálata során megállapítottuk, hogy a HAL-lal történő farmakológias dopamin megvonás 60. percében emelkedett legnagyobb mértékben az Akt foszforilációja. A HAL és a raclopride hatásukban egyenértékűnek bizonyultak.

Különböző szoptatási időket alkalmazva kimutattuk, hogy a legnagyobb mértékű Akt és MAPK foszforiláció a szoptatás 10. percében mérhető a hypophysis elülső lebenyében. A dopamin farmakológias megvonása mindhárom kísérleti csoportban (hím, OVX és laktáló nőtény) a foszfo-Akt szintek növekedését eredményezte.

A szoptatás jelentősen fokozta a MAPK foszforilációját is, azonban a MAPK foszforilációjának gátlása a szoptatás-indukált PRL választ kivédeni nem tudta.

## KÖVETKEZTETÉSEK

A laktáció alatti hormonszekréció jellegének megváltozása háttérben feltételezésünk szerint a hypophysealis dopaminerg rendszerek eltérő válaszkészsége, valamint megváltozott elülső- és közti lebenyi POMC hasítás állhatnak. A közti lebenyben végződő NEDA neuronok (PHDA, THDA) fő funkciója - PRL ürítésre gyakorolt szabályozó hatásuk mellett - a melanotropok  $\alpha$ -MSH ürítésének szabályozása hímeekben és OVX nőstényekben, de laktáció során szabályozzák az ACTH szintézisét és szekrécióját is. A közti lebenyben termelődő ACTH fedezheti a laktáció során megnövekedett ACTH szükségletet a HPA-tengely megtartott működése mellett.

Mivel a farmakológias dopamin megvonás mind az ACTH, mind az  $\alpha$ -MSH szekréció tekintetében éles különbséget eredményezett az OVX/OVX+E2 csoportok és az elválasztott laktálók között, így a szöveti hormonkoncentrációkkal is alátámasztva kimondhatjuk, hogy a közti és hátsó lebenyben végződő dopaminerg neuroncsoport *több* hormon ürítését is befolyásolni képes.

A "közti-lebenyi ACTH- szekréció" háttérben a dopamin  $D_2$ -receptor érzékenysége és/vagy a prohormon konvertázok (PC1/PC2) illetve a 7B2 kofaktor megváltozott működése állhat. A hypophysealis, hátsó lebenyi AVP viszont nem vesz részt a szoptatás alatt az ACTH szabályozásában. Kimondhatjuk továbbá, hogy a szoptatás és a tejtermelés fenntartásához az intakt a NEDA rendszer és az axonterminálisokban megtalálható TH enzimaktivitás épsége elengedhetetlen.

A továbbiakban igazoltuk, hogy a dopamin tartós szinaptikus, extracelluláris jelenléte az arrestin2-Akt-PP2A komplex létrejöttét eredményezi a hypophysis elülső lebenyében is, tehát igazoltunk egy új, ún. GSK-függő jelátvitel bekapcsolódását, amelynek fiziológias jelentősége még nem teljesen ismert. Ezt indirekt módon bebizonyítottuk: A dopamin farmakológias megvonása, ill. a szoptatás a  $D_2$ -receptorok jelátviteli rendszerében jól kimutatható foszforilációs változásokhoz vezet:

Azáltal, hogy hímekben a dopamin megvonás (HAL, raclopride,  $\alpha$ MpT) hatására a foszfo-Akt és a foszfo-MAP-kináz mennyisége jelentősen megemelkedik, az Akt- $\beta$ -arrestin2-PP2A komplex szétkapcsolt állapotba kerül, így az alternatív jelátvitel a háttérbe szorul. Ehhez az állapothoz nagymértékben hasonlít az a fiziológias állapot, amikor laktáló állatokban a szopási stimulus növeli az Akt és a MAPK foszforilációját. A MAPK működése a prolaktin-szekrécio szabályozásában közvetlenül nem érintett. A dopamin megvonása és a szoptatás tehát nagyon hasonló intracelluláris jelátvitelen keresztül valósulhat meg, feltehetőleg a cAMP mediált jelátvitellel összhangban, így a két rendszer időbeli együttműködése, teremti meg a tónusos dopaminerg gátlás alapját.

## SAJÁT PUBLIKÁCIÓK JEGYZÉKE

### Az értekezés témájában megjelent közlemények:

Fehér P, **Oláh M**, Bodnár I, Hechtl D, Bácskay I, Juhász B, Nagy GM, Vecsernyés M. (2010) Dephosphorylation/inactivation of tyrosine hydroxylase at the median eminence of the hypothalamus is required for suckling-induced prolactin and adrenocorticotrop hormone responses. *Brain Res Bull*,82(1-2):141-5.

**IF:2,184**

**Oláh M**, Fehér P, Ihm Z, Bácskay I, Kiss T, Freeman ME, Nagy GM, Vecsernyés M. (2009) Dopamine-regulated adrenocorticotrop hormone secretion in lactating rats: functional plasticity of melanotropes. *Neuroendocrinology*, 90(4):391-401.

**IF:3,074**

### Egyéb közlemények:

**Oláh M**, Milloh H, Wenger T. (2008) The role of endocannabinoids in the regulation of luteinizing hormone and prolactin release. Differences between the effects of AEA and 2AG. *Mol Cell Endocrinol*, 286(1-2 Suppl 1):S36-40.

**IF:3,611**

Botos E, Klumperman J, Oorschot V, Igyártó B, Magyar A, **Oláh M**, Kiss AL. (2008) Caveolin-1 is transported to multi-vesicular bodies after albumin-induced endocytosis of caveolae in HepG2 cells. *J Cell Mol Med*, 12(5A):1632-9.

**IF:5,114**

Hashizume T, Shida R, Suzuki S, Kasuya E, Kuwayama H, Suzuki H, **Oláh M**, Nagy GM. (2008) Interaction between salsolinol (SAL) and thyrotropin-releasing hormone (TRH) or dopamine (DA) on the secretion of prolactin in ruminants. *Domest Anim Endocrinol*, 34(3):327-32.

**IF:2,165**

Bodnár I, Hechtl D, Székács D, **Oláh M**, Nagy GM. (2007) Effect of local (intracerebral and intracerebroventricular) administration of tyrosine hydroxylase inhibitor on the neuroendocrine dopaminergic neurons and prolactin release. *Ideggyogy Sz*, 60(3-4):177-81.

Hashizume T, Shida R, Suzuki S, Nonaka S, Yonezawa C, Yamashita T, Kasuya E, Sutoh M, **Oláh M**, Székács D, Nagy GM. (2008) Salsolinol is present in the bovine posterior pituitary gland and stimulates the release of prolactin both in vivo and in vitro in ruminants. *Domest Anim Endocrinol*, 34(2):146-52.

**IF:2,165**

Iván G, Szigeti-Csúcs N, **Oláh M**, Nagy GM, Góth MI. (2005) Treatment of pituitary tumors: dopamine agonists. *Endocrine*, 28(1):101-10. Review.

**IF:1,772**

Radnai B, Kandár Z, Somogyvári-Vigh A, Mergl Z, **Oláh M**, Fülöp F, Vecsernyés M, Nagy GM. (2005) Salsolinol induces a decrease in cyclic AMP at the median eminence and an increase at the adenohypophysis in lactating rats. *Brain Res Bull*, 65(2):105-10.

**IF:2,481**

**Értekezés témájában megjelent közlemények IF: 5,258**

**Összesített IF:22,566**

**A disszertáció témájához kapcsolódó fontosabb előadások, poszterek**

**Oláh M**, Bodnár I, Nagy GM, Reduction in Akt/GSK3 Signaling Coupled with D2-class of Dopamine (DA) Receptors on Pituitary Prolactin (PRL) Cells May be Responsible for Ceasing of Tonic Inhibition on PRL Secretion During Suckling Stimulus. *The Endocrine Society's 91st Annual Meeting 10-13 June, 2009, Washington D.C*

**Oláh M**, Szepesi Zs, Bodnár I, Tidrenczel Zs, Nagy GM, The role of G-protein and  $\beta$ -arrestin dependent signaling mechanisms in the

tonic regulation of prolactin secretion, *9th European Congress of Endocrinology 28th April-2nd May 2007, Budapest, Hungary*

**Oláh M**, Nagy,GM, Bodnár I. D2 dopamine receptor signaling and tonic inhibitory regulation of prolactin secretion. *Joint meeting of the LXXII<sup>nd</sup> annual meeting of the Hungarian physiological society and the Hungarian society for experimental and clinical pharmacology June 4–6, 2008, Debrecen, Hungary*

Bodnár I, Hechtl D, **Oláh M**, Nagy GM. The Role of the phosphorylation/activation of tyrosine-hydroxylase of the nucleus arcuatus region in the pituitary prolactin secretion, *XII. Congress of the Hungarian Society of Endocrinology and Metabolism, 5-7. June, 2008, Eger, Hungary*

**Oláh M**, Ihm Z, Bodnár I, Vecsernyés M, Nagy GM, Evidences for a dopamine regulated adrenocorticotrop hormone secretion from the intermediate lobe of pituitary gland in lactating rats, *Congress of the Hungarian Society of Neuroscience, 2005, Pécs, Hungary*

## KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönetemet szeretném mindazoknak kifejezni, akiknek a segítsége és támogatása nélkül ez a dolgozat nem jöhetett volna létre. Köszönöm **Prof. Dr. Szél Ágoston** intézetvezető igazgató úrnak, hogy az általa vezetett intézetben kutathattam és dolgozhatok jelenleg is. Szeretnék köszönetet mondani témavezetőmnek és egyben a munkacsoport vezetőjének, **Prof. Dr. Nagy M. György** tanár úrnak, akinek értékes tudományos és emberi tanácsaira, ötleteire medikusként, TDK és PhD. hallgatóként mindvégig számíthattam. Nagyra értékelem, hogy egy családias, baráti munkacsoportban dolgozhattam, amelyben a tervek megvalósítása elé személyes akadályok sosem gördültek. Külön köszönettel tartozom a közlemények valamint a jelen dolgozat megírásában nyújtott segítségéért és a lehetőségért, hogy eredményeimet rangos külföldi, köztük több tengerentúli szimpóziumon is bemutathattam. Szeretném megköszönni az MTA-Semmelweis Egyetem Neuromorfológiai és Neuroendokrin Kutatócsoportjának állandó támogatását: **Prof. Dr. Halász Béla** és **Dr. Bodnár Ibolya** minden pillanatban önzetlenül nyújtott szakmai segítségét. Az MTA-ELTE Neurobiológiai Kutatócsoport nélkülözhetetlen közreműködéséért köszönettel tartozom **Dr. Juhász Gábornak** és **Szepesi Zsuzsannának** a western blot és egyéb molekuláris biológiai módszerek elsajátításához nyújtott támogatásukért. Köszönöm **Dr. Fekete Márton** tudományos tanácsadónknak, barátunknak, hogy több évtizedes kutatói tapasztalatával munkánk magas színvonalát mindig meghatározta. Hálásan köszönöm **Mészáros Mária** szakasszisztensnek az állatműtétek türelmes megtanítását illetve a kísérletekben nyújtott, gyakran nélkülözhetetlen, segítségét és **Salamon Antalnénak** az immunhisztokémiai technikákban nyújtott támogatását. Szeretnék köszönetet mondani az izotóp laboratórium szakasszisztenseinek, **Balázs Istvánné, Stromajer Karolina, Kovácsné Dobozi Éva** kolléganőimnek és **Ihmné Varga Klárának** hogy mindig készen álltak a hormonmérések elvégzésére. Köszönetemet fejezem ki **Dr. Vecsernyés Miklósnak** a plazma  $\alpha$ -MSH szintek meghatározásáért, valamint a Humánmorfológiai és Fejlődésbiológiai Intézet minden dolgozójának, aki jóindulatával és szakmai tanácsával segített. Köszönöm szépen szüleim állandó, bátorító támogatását kutatómunkámhoz és annak sikeréhez.



