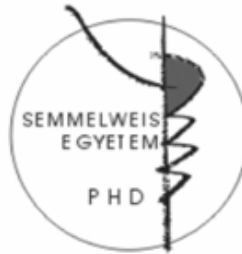


# A stressztengely korfüggő szabályozása vazopresszin hiányos Brattleboro patkányokban

Doktori tézisek

**Varga János**

Semmelweis Egyetem  
Szentágothai János Idegtudományi Doktori Iskola



Témavezető: Dr. Zelena Dóra tudományos főmunkatárs, Ph.D.

Hivatalos bírálók: Dr. Gyertyán István kutatócsoport vezető, Ph.D.  
Dr. Gacsályi István tudományos főmunkatárs, Ph.D.

Szigorlati bizottság elnöke: Dr. Ligeti Erzsébet egyetemi tanár,  
az MTA tagja

Szigorlati bizottság tagjai: Dr. Bartha Tibor egyetemi tanár, D.Sc.  
Dr. Zachar Gergely tudományos  
segédmunkatárs, Ph.D.

Budapest  
2014

## Bevezetés

A folyamatosan fennálló stressz gyengíti az immunrendszert, közre játszhat számos testi megbetegedés (pl. gyomorfekély, cukorbetegség, rák) kialakulásában, de mentális betegségekkel (depresszió, szorongás) is összefüggésbe hozható.

Régi hiedelmek szerint a stresszhez és szorongáshoz köthető anyai érzelmek a magzatra is negatívan hathatnak, mutációkat és torz fejlődést is okozhatnak. A tudományt is régóta foglalkoztatja, hogy az anyai stressz milyen mértékben befolyásolhatja a terhességet, és a csecsemő későbbi fejlődését. A kérdés jobb megértéséhez a magzati és születés körüli (perinatális) stressz során lejátszódó élettani folyamatok, elsősorban a hipotalamusz-hipofízis-mellékvese (HHM) tengely működésének alapos feltérképezése szükséges. A HHM tengely csak érési folyamaton átesve nyeri el felnőttkori formáját, működése az egyedfejlődés során jelentősen változik, és érzékenységet a magzati, perinatális életesemények erősen befolyásolják. Az anyát ért negatív hatások következtében fokozott magzati stressztengely aktivitás kisebb születési súlyt és figyelmi zavarokat eredményez. Csecsemőkben megfigyelhető, hogy a különféle stresszorok a felnőttben mérhető aktivációhoz képest csak mérsékelt HHM működést váltanak ki, ami miatt stressz hiporeszponzív periódus névvel (SHRP) illetik ezt az időszakot. Bár létrejöttének mechanizmusa nem pontosan tisztázott, a hipotalamusz hormonjainak csökkent termelődése és transzportja is szerepet játszik kialakításában. Perinatálisan a kortikotróp felszabadító hormon (CRH) génje nem expresszálódik a felnőtteknél látott mértékben, míg a vazopresszin (AVP) expresszió nagyon korán érett formát mutat. Azaz az SHRP alatt az AVP lehet a HHM tengely fő szabályozója. Munkám során az AVP stressz folyamatok során betöltött korfüggő szerepét vizsgáltuk.

## Célkitűzések

1. Hosszabb távú **krónikus stressz** (5 hét CMS) esetén bizonyítani az AVP HHM tengely szabályozásában betöltött szerepét felnőtt AVP-hiányos Brattleboro állatokon.
2. Direkt felnőtt-gyerek összehasonlításban kimutatni az AVP HHM tengely szabályozásában betöltött **korfüggő szerepét**.
  - a. Brattleboro patkányban (lipopoliszaccharid (LPS) injekció, hipoglikémia).
  - b. Megerősítés V1b antagonistával és AVP antiszérummal.
  - c. A hipofízis korfüggő CRH érzékenysége in vitro rendszerben.

### 3. Az **ACTH független glükokortikoid szekréció**

Lehetséges magyarázatok:

- a. Az ACTH és kortikoszteron szekréció eltérő időbeli lefutása (10 perces anyai elválasztás)
- b. A szabad glükokortikoid szintek becsléséhez CBG mérés.
- c. A mellékvesekéreg ACTH érzékenységének in vitro összehasonlítása kor és genotípus szerint.

Lehetséges mechanizmusok:

- a. Mellévesevelő katekolaminok, elsősorban  $\beta$  adrenoceptor szerepének in vivo és in vitro vizsgálata.
  - b. Kortikoszteron- és aldoszteron-szintek korfüggő összehasonlítása AVP-hiányos és kontroll állatokban.
4. Mivel legutolsó eredményeink túlmutattak az AVP szabályozó szerepén, azért a stresszorok **glüko- és mineralokortikoid elválasztásra** gyakorolt **korfüggő** hatásait Wistar patkányokban vizsgáltuk tovább.
    - a. -szint mérések két stresszor alkalmazása után (LPS, hipoglikémia)
    - b. Korfüggő eltérések vizsgálta a receptorok-enzimek szintjén (PCR, immuncitokémia).

## **Módszerek**

### **Állatok**

Kísérleteinkhez saját tenyészetből (MTA Kísérleti Orvostudományi Intézet, a kolónia eredete: Harlan, Indianapolis, USA) származó Brattleboro (egy természetes mutáció következtében a homozigóta recesszív állatok (AVP-) homozigóta domináns és heterozigóta (AVP+) társaikkal ellentétben képtelenek az AVP termelésre) és a Charles Rivertől származó Wistar patkányokat használtunk.

Állatházunk működtetését, és ott folyó kísérleteinket az Európai Unió állatkísérletekre vonatkozó 2010. szeptember 22-én hatályba lépett irányelvei szerint (2010/63/EU), a Fővárosi Állat-egészségügyi és Élelmiszer Ellenőrző Állomás engedélyével és a Munkahelyi Állatkísérleti Bizottság felügyeletével végezzük. Kísérletek során a statisztikai elemzések helyes elvégzéséhez nélkülözhetetlen minimális állatszámokkal dolgoztunk.

### **Krónikus enyhe stressz felnőtt állatokban**

A CMS kialakítása során felnőtt kontroll és AVP-hiányos állatokon különböző enyhe stresszorokat alkalmaztunk 5 héten keresztül napi 2 alkalommal (mozgáskorlátozás, nedves/megdöntött doboz, egerektől származó alom, a standard-tól elértő fényviszonyok alkalmazása, túlszűfolás, vízmegvonás (18 óra), éheztetés (24 óra)) és a kísérlet végén vér és szövetmintákat gyűjtöttünk. Az állatok farkából a stresszelés megkezdése előtt vérmintát vettünk. A vérmintákból ACTH és kortikoszteron szint mérést végeztünk RIA-val.

## A HHM tengely szabályozásának korfüggő összehasonlítása Brattleboro patkányban

### *Lipopoliszacharid kezeléssel kiváltott HHM aktiváció*

A különböző korú és genotípusú állatok random LPS (100 µg/1 ml/kg fiziológias só oldatban; SIGMA, O55:B5, intraperitoneálisan (ip) adva) vagy kontroll (0,9%-os só oldat) kezelésben részesültek. Az injekciót követő 120. percben az állatokat dekapitáltuk, a vérplazmából ACTH és kortikoszteron szinteket mértünk. Külön sorozatban normál AVP-jű állatoknak 15 perccel az LPS kezelés előtt ip V1b antagonist (SSR149415 10mg/1ml/kg), vagy kontroll (0,9%-os só oldat és pár csepp Tween 80) injekciót adtunk, illetve egy további sorozatban 15 perccel az LPS kezelés előtt intraperitoneálisan AVP antiszérum (20 µl 40 mg/ml oldatból) vagy kontroll (Normál nyúl szérum; NRS) előkezelést kaptak.

### *Inzulin-hipoglikémia által okozott HHM tengely aktiváció*

24h (felnőtt) illetve 4h (fiatal) éheztetést követően a kezelt állatok Actrapid injekciót (gyors hatású inzulin; 3NE/2ml/kg, ip), míg a kontroll állatok fiziológias só oldat injekciót kaptak. Az Actrapid lecsökkenti a vér glükóz szintjét, ami hormonális stresszválaszt vált ki. 90 perccel a kezelést követően dekapitáltuk az állatokat, a vérplazmából ACTH és kortikoszteron szinteket mértünk.

### *Hipofízis CRH érzékenysége in vitro rendszerben*

A dekapitált állatok hipofízisét 4 darabra szeleteltük és 1 ml 2,5 g bovin szérum albumin-t (BSA) tartalmazó 37 °C-os Dulbecco Minimal Essential Medium-ban (DMEM) 95% O<sub>2</sub>-5% CO<sub>2</sub> gázkeverék alkalmazása mellett 2x1 óra időtartamban előinkubáltuk. A hipofízisekről a preinkubációs idő után a médiumot 15 percenként összegyűjtöttük, majd frissre

cseréltük összesen 6-szor. A második 15 perces szakaszban a szerveket CRH ( $10^{-10}$ M) tartalmú DMEM-ben inkubáltuk. Az egyes frakciók után a szervekről a médiumot eltávolítottuk, centrifugáltuk, majd a felülúszóból ACTH szinteket mértünk.

**ACTH független glükokortikoid szekréció**

*Eltérő időbeli lefutás – 10 perces anyai elválasztás*

Kísérleteink során az egyazon alomból származó 7-8 napos kontroll és AVP-hiányos állatokat 10 percre elválasztottuk szüleiktől, és egy magas falú alom nélküli üvegedénybe helyeztük őket, ahol a szülők hiánya mellett az üveg hideg fala jelentette a fő stresszort. 10 perc után az állatokat dekapitáltuk, vérükből ACTH és kortikoszteron szinteket mértünk.

*Transzkortin (CBG) szint mérések*

A transzkortin kötés kapacitás meghatározása 50  $\mu$ l szérumból történt módosított Sephadex-LH-20 alapú módszer segítségével.

*ACTH érzékenység mérése*

Az inkubálást a hipofízis ACTH termeléséhez hasonló módon végeztük. A stimulálás  $10^{-12}$ M ACTH-val történt, valamint a felülúszóból kortikoszteron meghatározást végeztünk.

*Mellékvesevelő katekolaminok szerepének vizsgálata*

*$\beta$  adrenerg antagonisták: in vivo mérések*

Ebben a sorozatban csak AVP-hiányos állatokat alkalmaztunk. A hipoglikémiás stressz kiváltása során a kontroll és Actrapiddal (3NE/2ml/kg) kezelt csoportok mellett Propranolollal ( $10^{-5}$ M) és Actrapid + Propranolollal kezelt

csoportokat is alkalmaztunk. A kezeléseket követően 90 perccel dekaptáltuk az állatokat, majd vérükből ACTH és kortikoszteron szinteket mértünk.

#### *Béta adrenerg antagonisták: in vitro mérések*

A mellékvesék inkubálása során a második 15 perces inkubálási szakasz alatt kontroll és ACTH ( $10^{-10}$ M) kezelés mellett Propranolol ( $10^{-5}$ M) és ACTH + Propranolol kezeléseket is alkalmaztunk.

#### **Glükó- és mineralokortikoid szintek korfüggő összehasonlítása Brattleboro állatokban**

Az „Inzulin-hipoglikémia által okozott HHM tengely aktiváció” pontban említett kísérlet során a plazmából aldoszteron mérések is történtek.

#### **Glükó- és mineralokortikoidok szintek korfüggő összehasonlítása Wistar patkányokban**

#### *Lipopoliszacharid kezeléssel kiváltott immunválasz*

Mivel a Brattleboro patkányokon végzett LPS kezelések során tapasztalt egyes korfüggő különbségek az AVP termeléstől függetlennek bizonyultak, a kezeléseket Wistar patkánytörzs egyedein is elvégeztük. Bakteriális fertőzés modelljében a Brattleboro patkányoknál leírt protokoll szerint jártunk el. Renin és aldoszteron mérésekre is sor került.

#### *Inzulin kezeléssel kiváltott hipoglikémia*

Mivel hipoglikémiás stressz során is megfigyeltünk olyan korfüggő különbségeket, melyek az AVP termeléstől függetlenek voltak, a kísérletet Wistar patkánytörzs egyedein is elvégeztük. Renin és aldoszteron mérésekre is sor került.

## *Kvantitatív PCR*

Nyugalmi állapotban végzett dekapitálás után ABI StepOne Real Time PCR méréssel határoztuk meg a glükó (GR) és mineralokortikoid (MR) receptorok, 11- $\beta$ -hidroxiszteroid dehidrogenáz 1 (11- $\beta$ -HSD1; aktiváló) és 11- $\beta$ -HSD2 (inaktiváló) enzimek mRNS (hírvivő ribonukleinsav) mennyiségét Primer express 3.0 program, Total RNeasy Mini Kit (Qiagen, Valencia, CA, USA), High-capacity cDNA Reverse Transcription Kit (Life Technologies, Foster City, CA, USA) és Power SYBR Green PCR Master Mix (Life Technologies) segítségével.

## Vér és szövetminták gyűjtése

Kísérleteink végén dekapitálást követően az állatok vérért hűtött Eppendorf csövekbe gyűjtöttük, majd centrifugálás (3000 rpm/min 20 percig) után a leszívott szérumot  $-20^{\circ}\text{C}$  fokon tároltuk.

A hormonok receptorokon kifejtett hatásának becsléséhez nyugalmi állapotban dekapitált felnőtt és 10 napos patkányok hipotalamuszát és hippokampuszát steril, RNáz mentes körülmények között eltávolítottuk, szárazjégen lefagyasztottuk és a mintákat  $-70^{\circ}\text{C}$  fokon tároltuk az mRNS szintek PCR-rel történő meghatározásáig.

## Hormonszint mérések

Az ACTH koncentrációt 50 $\mu\text{l}$  szérumból közvetlenül határoztuk meg radioimmuno assay (RIA) módszer segítségével. Az ACTH antitest (no. 8514) a h-ACTH<sub>1-39</sub> molekula középső része ellen lett kifejlesztve.

A plazma kortikoszteron szintjének meghatározására 10 $\mu\text{l}$  szérumból szintén RIA módszerrel. Az antitest kortikoszteron-3-karboximetiloxim-bovin szérum albumin ellen lett kifejlesztve.



A plazma renin és aldoszteron szintjét nemzetközi kollaborációban Pozsonyban (Institute of Experimental Endocrinology, Slovak Academy of Sciences, Bratislava, Slovakia) mértük RIA Aldosterone kit és Angiotensin I RIA kit segítségével.

### Statisztikai elemzés

A Brattleboro patkányokon végzett kísérletekhez tartozó hormonszint mérésekből származó adatainkat három szempontos (three way) ANOVA elemzésnek (kor, genotípus, stressz) vetettük alá (StatSoft Inc. Tulsa, Okla, US). Receptor és enzim szint méréseknél, valamint a Wistar patkányok hormonszint méréseihez két szempontos (two way) ANOVA elemzést használtunk (kor, genotípus; illetve kor és stressz). A posthoc összehasonlításokat Newmann Keuls féle módszerrel végeztük.

## Eredmények

### 1. AVP szerepe krónikus stressz során felnőtt korban

Az 5 hetes CMS alkalmazása során kapott eredményeink valamennyire alátámasztják az AVP krónikus stresszfolyamatok során betöltött kritikus szerepét. Ugyan a genotípusnak nem volt hatása a CMS során mért ACTH szint növekedésre, de a CMS hatására kialakuló kortikoszteron szint változás AVP hiány esetén elmaradt.

### 2. Az AVP korfüggő szerepe a HHM tengely szabályozásában akut stressz során

A disszertációban bemutatott mindkét stresszor (LPS kezelés és hipoglikémia) esetén az AVP-hiányos felnőtt állatok kortikoszteron válasza nem tért el a normál AVP termelésű társaikhoz képest, ugyanakkor míg ACTH termelésük LPS injekciónál nem különbözött, addig hipoglikémiás stressznél 50 % körüli csökkenést figyeltünk meg az AVP-hiányos állatokban. 10 napos kispatkányokban mindkét alkalmazott stresszor esetén elmaradt az ACTH emelkedés AVP-hiányos állatokban. A párhuzamosan mérhető kortikoszteron válasz viszont nagyobb volt. Ezt a jelenséget V1b antagonistá és AVP antiszérum adásával is sikerült alátámasztani.

Mivel az általunk alkalmazott stresszorok (LPS, hipoglikémia) esetén 10 napos patkányoknál a felnőttekével összemérhető ACTH szintek alakultak ki, viszont a kortikoszteron szintek vonatkozásában kimutatható volt a csökkent stressz-reaktivitás, ezért arra következtethetünk, hogy az SHRP a glükokortikoid szintek alakulására vonatkozik.

Perinatális korban az elülső hipofízis lebeny CRH érzékenysége is erősen csökkent, ugyanaz a CRH stimulus kicsikben 50%-os, míg felnőttekben 600-800%-os ACTH növekedést indukált. Tehát perinatális korban egy másik

hipotalamikus faktor, vélhetőleg az AVP felel az ACTH válasz kialakításáért.

### 3. Az ACTH független glükokortikoid szekréció

A kísérletek során megfigyelhettük, hogy bár az AVP tekinthető az ACTH elválasztás fő szabályozójának perinatális korban, a kortikoszteron szintekre nincs ugyanilyen befolyással. Mielőtt tovább gondolnánk az ACTH-glükokortikoid szekréció disszociációját, érdemes kizárni a mérési módszereinkből adódó eltéréseket.

#### *Lehetséges magyarázatok*

##### *3/1 Eltérő időbeli lefutás*

Fontos kérdés a mintavételezés időzítése. Mivel a stresszorokra adott kortikoszteron válasz késve követi az ACTH választ, a két amplitudó időben elcsúszik egymástól, így a mintavételezés idejének helytelen megválasztása ellentmondásokhoz vezethet. 10 perces anyai elválasztás során is megfigyelhetjük, hogy az AVP-hiányos állatok csökkent ACTH választ nem követik alacsonyabb kortikoszteron szintek, azaz a két hormon szintjének disszociációja nem magyarázható eltérő időbeli lefutással.

##### *3/2 CBG szintek*

Egy általánosan alkalmazott savanyítási lépés a RIA mérés során leválasztja a glükokortikoidokat a kötő fehérjéről, így mérési módszerünkkel az összes kortikoszteron szintet mérjük. Mivel logikusnak tűnik feltételezni, hogy a szabad (és nem az összes) kortikoszteron szint követi az ACTH változásokat, a szabad szintek megáallapításához a kötőfehérje (CBG) szinteket is megmértük. A perinatális korú állatok kb 30%-al alacsonyabb CBG szinteket mutattak, mint a felnőttek, ami önmagában nem elégséges a csökkent kortikoszteron

szintek (kb 65-75%-al alacsonyabb nyugalmi szintek) kompenzálására. Felnőtt állatok kontroll és AVP-hiányos genotípusai között a CBG szintek nem mutatnak különbséget, ugyanakkor perinatális korban az AVP-hiányos állatok magasabb, a felnőttekét megközelítő CBG szinteket mutattak, ami kis mértékben ellensúlyozza az AVP hiányában perinatális korban látott magas kortikoszteron szinteket. Az eredmények a felnőtt korban megfigyelt disszociációra egyáltalán nem adnak magyarázatot.

### *3/3. Mellékvese érzékenység*

Felmerült az a lehetőség is, hogy a mellékvese kéreg kor és genotípusok szerint eltérő ACTH érzékenysége miatt egyes állatokban (pl 10 napos AVP-hiányos patkányok) kis ACTH változások is nagy glükokortikoid szint változásokat eredményezhetnek. Az *in vitro* ACTH kezelés hatására mért kortikoszteron termelés változás (amplitúdó) nem különbözött a két korosztály között. Várakozásainknak megfelelően perinatális korban az AVP-hiányos állatok mellékveséi fokozottabb kortikoszteron elválasztással válaszoltak az ACTH-ra, de a növekedés alig 25-30%-os, így ez önmagában csak részben magyarázhatja az *in vivo* kísérletek során látott disszociációt.

### *Lehetséges mechanizmusok*

Az AVP-hiányos Brattleboro patkányokban kis ACTH szintekhez nagy kortikoszteron szintek társulhatnak. Mivel a CBG szint mérések és a fokozott mellékvese érzékenység felnőtt korban egyáltalán nem, perinatális korban csak részlegesen adtak magyarázatot a disszociáció jelenségére, felmerül az ACTH független glükokortikoid elválasztás létezésének lehetősége.

### *3/4 ACTH független glükokortikoid szekréció - katekolaminok*

A 10 napos AVP-hiányos állatok segítségével in vivo körülmények között igazoltuk, hogy az adrenalin hatással van a kortikoszteron termelésre  $\beta$  adrenoceptorokon keresztül. In vitro kísérleteink alátámasztják, hogy ez a hatás közvetlen. Tehát stressz folyamatok során a szimpatoadrenomedulláris tengelynek is kulcsfontosságú szerep jut a kortikoszteron felszabadulásban.

### *3/5 Glüko- és mineralokortikoid szintek*

A glüko- és mineralokortikoidok szerkezeti hasonlósága, receptoraik átfedése vezetett minket arra az elképzelésre, hogy perinatálisan az ACTH a kortikoszteron kívül esetleg a mineralokortikoidok termelődését is serkentheti, melyek képesek lehetnek akár glükokortikoid-szerű hatások kiváltására is. Ezen elképzelés szerint a glüko- és mineralokortikoidok együttes termelődése jobban korrelálhat az ACTH szintekkel, mint a glükokortikoid szintek önmagukban, így aldoszteron mérésekre is sort kerítettünk. Brattleboro patkányokban vizsgálva hipoglikémiás stressz során perinatális korban nagyobb aldoszteron emelkedést detektáltunk, mint felnőtt korban. Mivel a genotípusok között nem találtunk különbséget aldoszteron termelés szempontjából, a hipotézisünk, mely szerint a mellékvesék össz-szteroid termelése jobban korrelál az ACTH szintekkel, mint a kortikoszteron szintek önmagukban, csak részben állta meg a helyét. Meglepő új eredményként a kispatkányok stressz hatására ugyan kisebb kortikoszteron, de magasabb aldoszteron szint emelkedéssel reagáltak, mint a felnőttek, ami felveti a két molekula stresszfolyamat során betöltött relatív fontosságának kor függő változását. Mivel az eredmények túlmutattak az AVP szabályozó szerepén, Wistar patkányban is végeztünk méréseket.

#### 4. Glükó- és mineralokortikoidok szintek korfüggő összehasonlítása Wistar patkányokban

Wistar patkányokon végzett kísérleteink során mind a bakteriális fertőzés modelljében, mind hipoglikémiás stressz során magasabb aldoszteron szint növekedést mértünk perinatálisan a 10 napos kispatkányokban, mint felnőtt korban, míg a kortikoszteron szintek emelkedése ellentétes irányú korfüggő változást mutatott.

Mivel a hormonszintek alakulása csak utal a lehetséges hatásra, ezért a hatás kifejlődéséhez nélkülözhetetlen receptor/enzim készlet (GR, MR, 11- $\beta$ -HSD1/2) vizsgálatát is elvégeztük. Ezek során több agyterületen (hipotalamusz, hippokampusz) is csökkent GR, MR és 11- $\beta$ -HSD1, valamint emelkedett 11- $\beta$ -HSD2 szinteket találtunk. Tehát perinatális korban a csökkent kortikoszteron szintek a 11- $\beta$ -HSD2 enzim hatására lokálisan még alacsonyabbak és a kevesebb receptoron kisebb hatást tudnak kifejteni, ami tovább erősíti az aldoszteron funkcionális jelentőségét.

## Következtetések

1. Egyes elméletek szerint az AVP krónikus stresszfolyamatok során a stressztengely fő szabályozójává válik, amit az elnyújtott stresszor (pl 5 hét krónikus enyhe stressz) során részben sikerült alátámasztani.

2. Felnőtt és 10 napos patkányok összehasonlításával két, jellegében eltérő stresszor (a bakteriális fertőzés modelljéül szolgáló LPS injekció és hipoglikémia) alkalmazásával közvetlenül is sikerült bizonyítanunk, hogy perinatálisan az AVP tekinthető az ACTH elválasztás fő szabályozójának. A 10 napos állatok hipofízise kevésbé volt érzékeny CRH adásra, ami szintén az AVP szerepét hangsúlyozza.

3. Az eredmények azt mutatták, hogy a stresszorok jó részének alkalmazása során az AVP-hiányos állatok csökkent ACTH szintjeit nem követte alacsonyabb kortikoszteron szekréció. (A) Először a méréstechnikai problémákat kellett kizárnunk. (1) 10 perc anyai elválasztás esetén is azt tapasztaltuk, hogy az AVP-hiányos állatok csökkent ACTH elválasztása magasabb kortikoszteron szintekkel jár együtt. Azaz a tapasztalt ACTH-kortikoszteron disszociációért nem a két hormon eltérő időbeli lefutása a felelős. (2) A felnőtt állatokban egyáltalán nem, a kispatkányokban is csak részben magyarázhatók az emelkedett CBG szinttel az AVP-hiányos állatok magasabb glükokortikoid szintjei. (3) A felnőtt állatokban egyáltalán nem, a kispatkányokban is csak részben magyarázhatók az emelkedett mellékvese ACTH érzékenységgel az AVP-hiányos állatok magasabb glükokortikoid szintjei. (B) Miután megállapítottuk, hogy létezik ACTH-független glükokortikoid elválasztás szabályozás, a lehetséges mechanizmusokat vizsgáltuk. (1) In vivo és in vitro mérésekkel is sikerült igazolnunk a katekolaminok direkt glükokortikoid elválasztásra gyakorolt pozitív hatását a  $\beta$  adrenoceptorokon keresztül. (2) Bár hipotézisünkkel ellentétben az ACTH szintek változásait az együttes glüko- és mineralokortikoid szintek sem követték, de

meglepő eredményként a mineralokortikoid reaktivitás mind a kortikoszteron reaktivitásnál, mind a felnőttben mérhető értékekhez képest jelentősen nagyobb volt a kispatkányokban.

4. Más patkánytörzsben és jellegében eltérő két különféle stresszor alkalmazásával is sikerült megerősítenünk, hogy perinatálisan az aldoszteron tekinthető a fő stresszhormonnak. Perinatálisan a glükokortikoidok hatásait a szervezet a GR és MR receptorok és 11- $\beta$ -HSD1 felépítő enzim szintjeinek alacsonyan és a 11- $\beta$ -HSD2 lebontó enzim szintjének magasán tartásával is igyekszik csökkenteni.



## Saját publikációk jegyzéke

### 1. A disszertációhoz kapcsolódó közlemények

Varga J, Domokos A, Barna I, Jankord R, Bagdy G, Zelena D. (2011) Lack of vasopressin does not prevent the behavioural and endocrine changes induced by chronic unpredictable stress. *Brain Res Bull.* 84(1):45-52.

Zelena D, Barna I, Pintér O, Klausz B, Varga J, Makara GB. (2011) Congenital absence of vasopressin and age dependent changes in ACTH and corticosterone stress responses in rats. *Stress.* 14(4):420-30.

Makara G. B, Varga J, Barna I, Pintér O, Klausz B, Zelena D. (2012) The vasopressin deficient Brattleboro rat: Lessons for the hypothalamo-pituitary-adrenal axis regulation. *Cell Mol Neurobiol.* 32(5):759-66.

Varga J, Zelena D. (2012) Chapter title: An unfairly undervalued participant of stress processes: the vasopressin. Chapter ID: \_11470\_ Book title: Vasopressin: Mechanisms of Action, Physiology and Side Effects. Book ID: \_1975

Varga J, Ferenczi Sz, Kovács K, Garafova A, Jezova D, Zelena D. (2013) Comparison of stress-induced changes in adults and pups: is aldosterone the main adrenocortical stress hormone during the perinatal period in rats? *Plos One*, 8(9):e72313.

Varga J, Klausz B, Domokos Á, Kálmán S, Pákási M, Szűcs S, Garab D, Zvara Á, Puskás L, Kálmán J, Tímár J, Bagdy G, Zelena D. (2014) Increase in Alzheimer's related markers precedes memory disturbances: studies in vasopressin-deficient Brattleboro rat. *Brain Res Bull.* 100:6-13.

## 2. A szerző egyéb közleményei

Könczöl K, Pintér O, Ferenczi S, Varga J, Kovács K, Palkovits M, Zelena D, Tóth ZE. (2012) Nesfatin-1 exerts long-term effect on food intake and body temperature. *Int J Obes (Lond)*. 36(12):1514-21.

Aliczki M, Zelena D, Mikics E, Varga ZK, Pinter O, Bakos NV, Varga J, Haller J. (2013) Monoacylglycerol lipase inhibition-induced changes in plasma corticosterone levels, anxiety and locomotor activity in male CD1 mice. *Horm Behav*. 63(5):752-8.

Kantor S, Szabo L, Varga J, Cuesta M, Morton AJ. (2013) Progressive sleep and electroencephalogram changes in mice carrying the Huntington's disease mutation. *Brain*. 136(Pt 7):2147-58.