

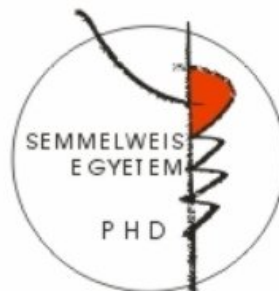
Táplálkozást szabályozó neuropeptideket  
tartalmazó idegi afferensek szerepe a hipofizeotróf  
thyrotropin-releasing hormont és corticotropin-  
releasing hormont termelő idegsejtek  
szabályozásában

Doktori (Ph.D.) értekezés tézisei

**Wittmann Gábor**

MTA Kísérleti Orvostudományi Kutatóintézet  
Endokrin Neurobiológiai Kutatócsoport

Semmelweis Egyetem  
Szentágotthai János Idegtudományi Doktori Iskola



Témavezetők: Dr. Fekete Csaba tudományos főmunkatárs, Ph.D.  
Dr. Liposits Zsolt egyetemi tanár, Ph.D., D.Sc.

Hivatalos bírálók: Dr. Köves Katalin egyetemi tanár, Ph.D., D.Sc.  
Dr. Párducz Árpád tudományos tanácsadó, Ph.D., D.Sc.

Szigorlati bizottság elnöke: Dr. Rácz Károly egyetemi tanár, Ph.D., D.Sc.  
Szigorlati bizottság tagjai: Dr. Gerendai Ida egyetemi tanár, Ph.D., D.Sc.  
Dr. Kovács Magdolna egyetemi docens, Ph.D., D.Sc.

Budapest  
2007

## Bevezetés

A hipofízis elülső lebenyének hormonszekrécióját a hipotalamuszban található hipofizeotróf neuronok irányítják. A hipotalamusz-hipofízis-pajzsmirigy (HHP) tengelyt irányító hipofizeotróf thyrotropin-releasing hormont (TRH) termelő idegsejtek a hipotalamusz paraventriculáris magjának (PVN) periventriculáris és mediális parvocelluláris almagjaiban helyezkednek el. A hipofizeotróf corticotropin-releasing hormont (CRH) termelő neuronok a TRH idegsejtektől laterálisan, a PVN mediális parvocelluláris almagjában találhatóak, és a hipotalamusz-hipofízis-mellékvesekéreg (HHM) tengelyt irányítják. A TRH és CRH neuronok aktivitását számos humorális és neurális jel befolyásolja, melyeket integrálva a hipofizeotróf neuronok alkalmazkodni tudnak a szervezetet érő különböző kihívásokhoz. A pajzsmirigyhormonok és a kortikoszteron koncentrációjának ezt követő adaptív változása a szervezet túlélését segíti elő, például éhezés vagy különböző stressz-szituációk esetén.

A HHP és HHM tengelyek kritikus szerepet töltenek be az energia egyensúly fenntartásában. Éhezésben a TRH és a CRH szintézise a PVN-ben gátlódik, elsődlegesen a fehér zsírszövet által termelt hormon, a leptin koncentrációjának csökkenése következtében. A leptin szint változása elsősorban közvetett módon hat a hipofizeotróf TRH és CRH neuronokra, a hipotalamusz arcuatus idegmagjának két leptin-szenzitív sejtcsoportján keresztül, melyek beidegzik a TRH és CRH idegsejteket. Az egyik sejtcsoport a táplálkozást gátló hatású alfa-melanocita-serkentő hormont ( $\alpha$ -MSH) és cocaine- and amphetamine-regulated transcript (CART) peptideket termeli; a másik sejtcsoport a táplálkozást serkentő hatású agouti-related proteint (AGRP) és neuropeptid Y-t (NPY) szintetizálja. A leptin ellentétesen hat a két sejtcsoport neuropeptid termelésére: leptin adására az  $\alpha$ -MSH és a CART expressziója megnő, míg az AGRP és az NPY termelődése lecsökken. Ezzel ellentétesen, éhezésben az AGRP és az NPY termelődése megnő, az  $\alpha$ -MSH és a CART szintézise lecsökken. Mivel az  $\alpha$ -MSH és CART stimulálja, az NPY és AGRP pedig gátolja a TRH szintézisét, éhezésben a serkentő hatások csökkenése és a gátló hatások növekedése összességében a TRH szintézis gátlását okozza a hipofizeotróf neuronokban. Habár a leptin CRH szintézisre kifejtett hatásának mechanizmusa kevésbé ismert, számos adat alátámasztja a hipotézist, hogy a CRH szintézis

éhezésben megfigyelt gátlását szintén a nucleus arcuatus  $\alpha$ -MSH/CART és AGRP/NPY idegsejtjei váltják ki.

A fent leírt négy neuropeptid közül a hipofizeotróf TRH és CRH neuronok AGRP és  $\alpha$ -MSH innervációja kizárólag az arcuatus idegmagból származik. Ezzel szemben, morfológiai vizsgálatok igazolták, hogy a hipofizeotróf TRH és CRH neuronokat olyan NPY-t illetve CART-ot tartalmazó idegrostok is beidegzik, amelyek nem az arcuatus idegmag sejtcsoportjaiból származnak. A Ph.D. értekezés fő célja volt azonosítani ezen NPY- illetve CART-tartalmú axonoknak az eredetét. Vizsgáltuk továbbá, hogy az ezen axonok egyik fő eredetét képező nyúltvelői adrenerg sejtcsoportokban hogyan változik az NPY és a CART mRNS mennyisége éhezés során. Végül tanulmányoztuk, hogy az orexigén hatású galanint, illetve galanin-like peptidet (GALP) tartalmazó idegrostok beidegzik-e a TRH neuronokat.

### **Célkitűzések**

1. Az adrenerg idegsejtek szerepének vizsgálata a TRH neuronok NPY innervációjában
2. A PVN-be vetülő CART-termelő idegsejtcsoportok azonosítása
3. A TRH idegsejtek adrenerg neuronokból származó CART innervációjának feltárása
4. A CRH neuronok CART-tartalmú beidegzésének ultrastrukturális vizsgálata
5. A CRH idegsejtek beidegző CART-tartalmú axonok eredetének vizsgálata
6. Az adrenerg sejtcsoportok NPY és CART mRNS tartalmának vizsgálata táplált és éhező állatokban
7. A TRH idegsejtek galanin és GALP beidegzésének vizsgálata

## Anyag és módszerek

### Állatok

A kísérleteket 200-500g súlyú felnőtt hím Wistar és Sprague-Dawley patkányokon végeztük. Az állatokat standard körülmények között tartottuk (világítás 06:00-18:00 h között, hőmérséklet  $22 \pm 1^\circ\text{C}$ , patkány táp és víz folyamatosan rendelkezésre állt). Az állatkísérleti protokollokat a Magyar Tudományos Akadémia Kísérleti Orvostudományi Kutatóintézetének és a Tufts New England Medical Centernek az Állat Etikai Bizottságai engedélyezték.

Az értekezésben használt módszereket az **1. Táblázat**ban foglaltuk össze

### 1. Táblázat A kísérletekben használt metodikák összefoglalása

| Vizsgálat  | Módszer  |
|--|--|
| 1. A PVN proTRH- immunreaktív (IR) neuronjainak PNMT/NPY-IR beidegzése | Hármas-jelöléses immunfluoreszcencia   |
| 2. A PVN-be vetülő CART-IR sejtcsoportok feltérképezése                | Retrográd idegpálya-jelölés, kettős- és hármas-jelöléses immunfluoreszcencia |
| 3. A PVN proTRH mRNS-tartalmú sejtjeinek CART/PNMT-IR beidegzése       | Fluoreszcens <i>in situ</i> hibridizáció és kettős immunfluoreszcencia       |
| 4. A CRH idegsejtek CART-IR beidegzésének ultrastrukturális vizsgálata | Elektronmikroszkópos kettős-jelöléses immuncitokémia                         |
| 5. A CRH idegsejtek CART/PNMT-IR és CART/ $\alpha$ -MSH-IR beidegzése  | Négyes-jelöléses immunfluoreszcencia, konfokális mikroszkópos analízis       |
| 6. A C1-C3 régiók NPY és CART mRNS expressziója éhező állatokban       | Kvantitatív izotópos <i>in situ</i> hibridizáció                             |
| 7. A PVN proTRH-IR neuronjainak galanin- és GALP-IR beidegzése         | Fény- és elektronmikroszkópos kettős-jelöléses immuncitokémia                |

### *Retrográd idegpálya-jelölés (2. vizsgálat)*

A retrográd irányba transzportálódó kolera toxin  $\beta$  alegységet (CTB, List Biological Laboratories) iontoforézissel jutattuk a PVN parvocelluláris almagjaiba (7,0  $\mu$ mper erősségű, 7 másodpercenként váltakozó négyszögimpulzusos, 15 percig folyó áram), sztereotaxikus készülék segítségével pozícionált üveg kapillárison keresztül (csúcsának átmérője 20  $\mu$ m), Paxinos és Watson agyatlaszának alapján. A transzport ideje 6-7 nap volt.

### *Fénymikroszkópos immuncitokémia (1., 2., 5., 7., vizsgálatok)*

Az állatok agyának oldalkamrájába 40-100  $\mu$ g kolhicint injektáltunk, hogy a CART-, CRH- és proTRH-tartalmat optimálisan kimutathassuk a sejttestekben. Az állatokat 20 órával később transzkardiálisan perfundáltuk akroleint és paraformaldehidet

tartalmazó fixáló oldattal. Az agyakból Leica fagyasztó mikrotómmal metszeteket készítettünk, melyeket immuncitokémiára előkészítettünk és specifikus elsődleges antiszérumokban inkubáltunk. Immunfluoreszcencia alkalmazásakor az antigéneket AMCA-, FITC-, CY3- és CY5-konjugált másodlagos antitestekkel (Jackson ImmunoResearch), vagy peroxidáz-reakció által katalizált biotinilált tiramid amplifikációval, és ezt követően AMCA- vagy FITC-konjugált avidinnal (Vector) mutattuk ki. Az immunfluoreszcens preparátumokat Zeiss epifluoreszcens mikroszkóppal vagy Bio-Rad Radiance 2000 konfokális mikroszkóppal analizáltuk. A 7. vizsgálatban az antigéneket peroxidáz reakcióval detektáltuk: a galanint fekete színű ezüst-amplifikált Ni-diaminobenzidin (Ni-DAB) kromogén jelölte, a proTRH-t barna DAB csapadék.

#### *Fluoreszcens in situ hibridizáció és immunfluoreszcencia (3. vizsgálat)*

A paraformaldehiddel fixált agyakból fagyasztó mikrotómmal készítettünk metszeteket. Az *in situ* hibridizációhoz egy 1241 bázis hosszúságú digoxigenin-11-UTP (Roche)-jelölt antiszenz proTRH cRNS próbát használtunk. A digoxigenin-jelölt próbát anti-digoxigenin-peroxidázzal (Roche), biotinilált tiramid amplifikációval és AMCA-konjugált avidinnal detektáltuk. Az *in situ* hibridizációt követően a CART-ot és PNMT-t immunfluoreszcenciával detektáltuk.

#### *Elektronmikroszkópos immuncitokémia (4. és 7. vizsgálat)*

Az állatok kolhicinnel kezeltük (60 µg, icv.), majd 20 órával később akroleint és paraformaldehidet tartalmazó fixáló oldattal perfundáltuk. Az agyakból vibratómmal metszeteket készítettünk, amiket immuncitokémiára előkészítettünk. A CART-ot és galanint immunperoxidáz módszerrel DAB-bal jelöltük. A CRH-t és proTRH-t kolloidális aranyszemcsékkel konjugált másodlagos antitestekkel (Electron Microscopy Sciences) és ezt követő ezüst intenzifikációval mutattuk ki (IntenSe silver enhancement reagent, GE Healthcare). A metszeteket ozmifikáltuk, uranil-acetáttal kontrasztoltuk és Durcupan epoxy gyantába (Fluka) ágyasztuk. Leica ultramikrotómmal ultravékony metszeteket készítettünk, amiket Hitachi elektron mikroszkóppal vizsgáltunk.

#### *Izotópos in situ hibridizáció (6. vizsgálat)*

Az állatok egyik csoportjától (n=8) 64 óráig megvontuk a táplálékot, a másik csoport (n=8) szabadon táplálkozott. Az állatokat transzkardiálisan perfundáltuk paraformaldehid-tartalmú oldattal. A nyúltvelőből kriosztáttal (Leica) metszeteket

készítettünk, ezeket Superfrost Plus tárgylemezekre rögzítettük, és  $S^{35}$ -UTP-vel (PerkinElmer) jelölt antiszenz NPY és CART cRNS próbával hibridizáltuk. A tárgylemezeket Kodak NTB autoradiográfiás emulzióba mártottuk, majd 8 (NPY), illetve 10 (CART) nap expozíciót követően az autoradiogramokat kifejlesztettük. A metszeteket sötétlátóteres megvilágítással vizsgáltuk, a kvantitatív denzitometriát ImageJ szoftverrel végeztük.

### *Statisztika*

Az adatokat átlag  $\pm$  SEM (átlag szórása) formában adtuk meg. A táplált és éhező állatok CART és NPY hibridizációjának adatait a Student féle t-teszttel hasonlítottuk össze.

## **Eredmények**

### **1. Az adrenerg idegsejtek részvétele a TRH neuronok NPY innervációjában**

Mivel adrenerg idegrostok sűrűn innerválják a hipofizeotróf TRH neuronokat, és a nyúltvelői C1-C3 régiókban a PVN-be vetülő adrenerg idegsejtek többsége termel NPY-t, meghatároztuk az adrenerg NPY-tartalmú axon-varikozitások arányát a TRH neuronok NPY innervációjában. Az adrenalint szintetizáló feniletanolamin-N-metiltranszferáz (PNMT) enzimet használtuk az adrenerg axonok azonosítására. A proTRH-IR idegsejtekkel kontaktust képező PNMT-IR varikozitások többsége ( $74.8 \pm 1.1\%$ ) NPY-immunreaktivitást is tartalmazott, míg a PNMT a proTRH neuronok felszínén található NPY-tartalmú boutonok  $26.6 \pm 2.2\%$ -ában volt kimutatható.

### **2. A PVN-be vetülő CART-tartalmú idegsejtcsoportok feltérképezése**

A TRH és CRH neuronokat beidegző, az arcuatus idegmagon kívülről eredő CART-tartalmú idegrostok feltárásához első lépésként a paraventriculáris idegmag CART innervációjának eredetét határoztuk meg a retrográd jelölő anyag CTB idegmagba történő juttatásával. A PVN-be vetülő CART-tartalmú neuronok feltérképezéséhez három agyat használtunk fel, amelyekben a CTB beadás központja a PVN parvocelluláris részében helyezkedett el. A kettősen jelölt CART/CTB neuronok eloszlása mindhárom agyban hasonló volt. Számos kettős jelölt idegsejt volt található a retrochiazmatikus területen, a nucleus arcuatusban, a zona incertában, a

laterális hipotalamuszban, a nyúltvelői C1-C3 régiókban és a nucleus tractus solitarius (NTS) mediális almagjában.

#### *A PVN-be vetülő CART idegsejtek egyéb neurotranszmitter-tartalmának vizsgálata*

Hármas immunfluoreszcens vizsgálattal kimutattuk, hogy a zona incertában és a laterális hipotalamuszban található CTB/CART idegsejtek mindegyike tartalmazta az orexigén hatású melanin-concentrating hormont. A C2 és C3 régióban a CART idegsejtek tartalmazták az adrenalint szintetizáló enzimet, a PNMT-t, míg a C1 régióban a CART és PNMT kolokalizációját a régió elülső és középső részében figyeltük meg, a C1 kaudális részében az adrenerg neuronok nem tartalmaztak CART-ot. A C1–C3 régiók CART/PNMT idegsejtjeinek többsége CTB-t is tartalmazott. Az NTS mediális almagjában a CART/CTB idegsejtek nem expresszáltak PNMT-t.

### **3. A TRH idegsejtek adrenerg neuronokból származó CART innervációja**

CART-IR axonok, illetve PNMT-IR idegrostok szinte az összes proTRH mRNS-tartalmú idegsejtet beidegezték a PVN periventrikuláris és mediális almagjaiban. PNMT-immunreaktivitást a proTRH neuronok felszínén található CART-IR axonvarikozitások  $44.0 \pm 3.6\%$ -a tartalmazott. A proTRH mRNS-tartalmú sejttestekkel kontaktust képező PNMT-IR boutonok fele CART-ot is tartalmazott a periventrikuláris ( $51.3 \pm 5.6\%$ ) és a mediális ( $53.2 \pm 1.1\%$ ) parvocelluláris almagokban.

### **4. A CRH neuronok CART-tartalmú beidegzésének ultrastruktúrális vizsgálata**

Elektronmikroszkópos vizsgálatunkban kimutattuk, hogy CART-IR axonterminálisok szinapszisokat létesítenek a CRH neuronokon. Az ultravékony sorozatmetszeteken végigkövetve axoszomatikus és axodendritikus szinapszisok is megfigyelhetőek voltak.

### **5. A CRH idegsejtek beidegző CART-IR axonok eredete**

Négyes-jelöléses immunfluoreszcenciával vizsgáltuk a CRH idegsejtek CART-IR innervációjának eredetét. A nucleus arcuatusból eredő CART-IR axonok azonosítására  $\alpha$ -MSH-t, a C1-C3 régiókból eredő CART-IR idegrostok azonosítására a PNMT-t használtunk markerként. Korábbi megfigyeléseinknek megfelelően a PVN-ben az összes  $\alpha$ -MSH-t tartalmazó axon tartalmazott CART-ot, továbbá a PNMT-IR

idegrostok többségében megtalálható volt CART. CART/PNMT-IR axon-varikozitások szinte az összes ( $95.00 \pm 1.53\%$ ) CRH idegsejt felszínén megfigyelhetőek voltak. Egy CRH neuron felszínén átlagosan  $5.45 \pm 0.14$  CART/PNMT-IR bouton volt megfigyelhető.  $\alpha$ -MSH-tartalmú CART boutonok kisebb sűrűségben voltak megfigyelhetőek a CRH idegsejtek felszínén. CART/ $\alpha$ -MSH axonok a CRH neuronok  $58.67 \pm 3.71\%$ -ával voltak kapcsolatban, és átlagosan  $2.73 \pm 0.13$  CART/ $\alpha$ -MSH bouton volt egy innervált CRH idegsejt felszínén. A CRH neuronok felszínén található összes CART-tartalmú bouton  $59.60 \pm 2.10\%$ -a tartalmazott PNMT-t, valamint  $18.47 \pm 1.55\%$ -a tartalmazott  $\alpha$ -MSH-t. A CRH neuronokkal kontaktusban lévő CART-IR axon-varikozitások fennmaradó  $21.93 \pm 1.98\%$ -a egyszeresen jelölt volt, nem tartalmazta egyik markert sem, valószínűsítve, hogy ezek a rostok a nucleus arcuatuson és a C1-C3 régiókon kívüli terület(ek)ről erednek. Az egyszeresen jelölt CART-IR idegrostok a CRH neuronok  $68.33 \pm 4.91\%$ -át idegezték be.

## **6. Éhezés hatása az NPY és CART mRNS szintekre a nyúltvelői C1-C3 régiókban**

Az NPY *in situ* hibridizációs szignál hasonló intenzitást mutatott a táplált és éhező állatok C1-C3 sejtcsoportjaiban. A C1 terület középső részében (a Bregmától számítva kb. -12.8 és -12.5 mm között), és a C2 és C3 régiókban nem találtunk szignifikáns különbséget sem az egyedi NPY-tartalmú neuronok hibridizációs jelének intenzitásában, sem az NPY mRNS pozitív sejtek számában.

A C1 középső részében a kvantitatív denzitometriás analízis nem mutatott ki különbséget a CART mRNS tartalmú sejtek számában, sem az egyedi sejtek hibridizációs szignálja által elfoglalt területben és a sejtek integrált denzitás értékében, azonban a CART mRNS-tartalmú sejtek átlag fényintenzitás értéke szignifikánsan kisebb volt az éhező állatokban a táplált állatokban mért értékhez képest (éhező vs. táplált:  $73.07 \pm 1.25$  vs.  $77.01 \pm 1.07$ ,  $p=0.023$ ). A C3 régióban egyik paraméterben sem találtunk szignifikáns eltérést a két csoport között. A C2 régióra a kvantitatív analízist nem végeztük el, mivel a C2 régió CART mRNS-tartalmú sejtjei nem voltak teljes biztonsággal elkülöníthetőek a mediális NTS-ben elhelyezkedő nem adrenerg CART sejtcsoporttól.



## 7. A TRH idegsejtek galanin és GALP beidegzésének vizsgálata

A PVN periventrikuláris és mediális parvocelluláris almagjaiban a TRH neuronok többségével juxtapozícióban álltak galanin-IR axon-varikozitások. A periventrikuláris és mediális parvocelluláris almagokban a proTRH neuronok  $75.8 \pm 6.7\%$  illetve  $61.6 \pm 3.4\%$ -ával voltak kapcsolatban galanin-IR boutonok.

Elektronmikroszkópos szinten vizsgálva a DAB-bal jelölt galanin-IR idegvégződések szinapszisokat létesítettek az ezüstszemcsékkel jelölt TRH neuronokkal. A vizsgált szinapszisok minden esetben szimmetrikus típusúak voltak.

A PVN proTRH-IR idegsejtjeinek közvetlen közelében csak elvétve voltak megfigyelhetőek GALP-IR idegrostok. A periventrikuláris és mediális parvocelluláris almagban a proTRH-IR idegsejtek  $9.6 \pm 1.0\%$  illetve  $2.1 \pm 0.2\%$ -át idegezték be GALP-IR axonok.

### Következtetések

1. Az arcuatus idegmag mellett a nyúltvelői C1-C3 régiók CART-ot és NPY-t egyaránt termelő adrenerg idegsejtjei is nagymértékben hozzájárulnak a hipofizeotróf TRH és CRH neuronok NPY illetve CART innervációjához. Az arcuatus idegmaggal ellentétben, ahol az NPY és a CART mRNS szintje robusztusan változik éhezés során, a C1-C3 régiókban az NPY és CART mRNS mennyisége gyakorlatilag változatlan maradt az éhező állatokban. Ezért valószínűsíthető, hogy az adrenerg neuronok által termelt NPY és CART nem vesz részt a TRH és CRH szintézis éhezésben megfigyelhető gátlásában. Irodalmi adatok szerint a nyúltvelői adrenerg neuronok nélkülözhetetlenek a CRH neuronok serkentéséhez hipoglikémiás és gyulladásos állapotokban, továbbá valószínűleg hozzájárulnak a TRH neuronok hideg környezetben történő aktivációjához. Az adrenerg idegsejtekben termelődő NPY és CART ezeknek a hatásoknak a kiváltásában illetve modulációjában vehet részt.

2. A hipofizeotróf CRH neuronokat a nucleus arcuatuson és a C1-C3 régiókon kívül eredő CART-tartalmú axonok is beidegzik: ezek az idegrostok eredhetnek a zona incertából és a laterális hipotalamuszból, és/vagy az NTS mediális almagjából, és/vagy a PVN CART-termelő idegsejtjeiből. Az említett CART-termelő sejtpopulációk beidegezhetik a hipofizeotróf TRH neuronokat is.

3. Kimutattuk továbbá, hogy a hipofizeotróf TRH neuronokat beidegzik az orexigén hatású galanint tartalmazó idegrostok, azonban a kizárólag a nucleus arcuatusban található GALP-tartalmú idegsejtek nem idegzik be a TRH neuronok döntő többségét.

Eredményeinkből arra következtetünk, hogy a TRH és CRH neuronokat beidegző orexigén, illetve anorexigén peptideket tartalmazó idegrostok számos agyterületről érkeznek, és eltérően szabályozzák a hipofizeotróf TRH és CRH neuronokat.

### **Köszönetnyilvánítás**

Legnagyobb hálával témavezetőmnek, Dr. Fekete Csabának tartozom, aki rendkívül sok időt és energiát szánt arra, hogy megtanítsa a tudományos kutatómunka lépéseinek elsajátítására. Külön köszönöm neki, hogy folyamatosan ösztönözte és támogatta szakmai fejlődésemet.

Hálámat szeretném kifejezni Liposits Zsolt professzor úrnak, témavezetőmnek és az Endokrin Neurobiológiai Kutatócsoport vezetőjének, hogy maximális támogatása mellett dolgozhattam kutatócsoportjában.

Köszönöm Ronald M. Lechan professzor úrnak a tézis alapjául szolgáló közlemények elkészítésében nyújtott értékes segítségét.

Köszönetet mondok Dr. Summit Sarkarnak, aki a GALP-TRH immuncitokémiai vizsgálatot végezte.

Köszönetemet szeretném nyilvánítani Fodor Zsuzsanna, Laki Éva, Kádár Andrea és Simon Ágnes asszisztensnőknek, akiknek gondos és figyelmes munkája nagy segítségemre volt.

Külön köszönöm legközelebbi munkatársaimnak, Füzesi Tamásnak és Menyhért Juditnak a sikeres együttműködést és a vidám munkanapokat. Túri Gergelynek és Vida Barbarának a társaságát is szeretném külön megköszönni.

Valamennyi további munkatársamnak az Endokrin Neurobiológiai Kutatócsoportból köszönöm, hogy hasznos tanácsokat és segítséget kaptam tőlük munkám során, valamint nagyszerű társaság is voltak, név szerint: Bekó Norbertné, Deli Levente, Dr. Dohán Orsolya, Dr. Doleschall Márton, Dr. Farkas Imre, Dr. Gereben Balázs, Hársfalvi Vivien, Dr. Hrabovszky Erik, Jekkel Csilla, Juhász Edit, Dr. Kalló Imre, Dr. Sárvári Miklós, Dr. Varjú Patrícia, Dr. Zeöld Anikó.

Szeretném megköszönni továbbá az Orvosi Géntechnológiai Részleg vezetőjének, Dr. Bényei Balázsnak, és munkatársainak, Kaziné Szűcs Máriának és Szafner Rozáliának, hogy mindig fordulhattam hozzájuk segítségért, amikor az OGR-ben dolgoztam.

### **Az értekezés alapjául szolgáló közlemények**

1. Wittmann G., Liposits Z., Lechan R.M., Fekete C.  
Medullary adrenergic neurons contribute to the neuropeptide Y-ergic innervation of hypophysiotropic thyrotropin-releasing hormone-synthesizing neurons in the rat  
Neurosci Lett, 324 (2002) 69-73
2. Fekete C., Wittmann G., Liposits Z., Lechan R.M.  
Origin of cocaine- and amphetamine-regulated transcript (CART)-immunoreactive innervation of the hypothalamic paraventricular nucleus  
J Comp Neurol, 469 (2004) 340-350
3. Sarkar S., Wittmann G., Fekete C., Lechan R.M.  
Central administration of cocaine- and amphetamine-regulated transcript increases phosphorylation of cAMP response element binding protein in corticotropin-releasing hormone-producing neurons but not in prothyrotropin-releasing hormone-producing neurons in the hypothalamic paraventricular nucleus  
Brain Res, 999 (2004) 181-192
4. Wittmann G., Sarkar S., Hrabovszky E., Liposits Z., Lechan R.M., Fekete C.  
Galanin- but not galanin-like peptide-containing axon terminals innervate hypophysiotropic TRH-synthesizing neurons in the hypothalamic paraventricular nucleus  
Brain Res, 1002 (2004) 43-50
5. Wittmann G., Liposits Z., Lechan R.M., Fekete C.  
Medullary adrenergic neurons contribute to the cocaine- and amphetamine-regulated transcript-immunoreactive innervation of thyrotropin-releasing hormone synthesizing neurons in the hypothalamic paraventricular nucleus  
Brain Res, 1006 (2004) 1-7
6. Wittmann G., Liposits Z., Lechan R.M., Fekete C.  
Origin of cocaine- and amphetamine-regulated transcript-containing axons innervating hypophysiotropic corticotropin-releasing hormone-synthesizing neurons in the rat  
Endocrinology, 146 (2005) 2985-2991

### **Az értekezés témájához kapcsolódó közlemények**

7. Fekete C., Wittmann G., Liposits Z., Lechan R.M.  
GABA-ergic innervation of thyrotropin-releasing hormone-synthesizing neurons in the hypothalamic paraventricular nucleus of the rat  
Brain Res, 957 (2002) 251-258
8. Hrabovszky E., Wittmann G., Túri G.F., Liposits Z., Fekete C.  
Hypophysiotropic thyrotropin-releasing hormone and corticotropin-releasing hormone neurons of the rat contain vesicular glutamate transporter-2  
Endocrinology, 146 (2005) 341-347
9. Wittmann G., Lechan R.M., Liposits Z., Fekete C.  
Glutamatergic innervation of corticotropin-releasing hormone- and thyrotropin-releasing hormone-synthesizing neurons in the hypothalamic paraventricular nucleus of the rat  
Brain Res, 1039 (2005) 53-62
10. Menyhért J., Wittmann G., Hrabovszky E., Keller É., Liposits Z., Fekete C.  
Interconnection between orexigenic neuropeptide Y- and anorexigenic alpha-melanocyte stimulating hormone-synthesizing neuronal systems of the human hypothalamus  
Brain Res, 1076 (2006) 101-105
11. Hrabovszky E., Kalló I., Túri G.F., May K., Wittmann G., Fekete C., Liposits Z.  
Expression of vesicular glutamate transporter-2 in gonadotrope and thyrotrope cells of the rat pituitary. Regulation by estrogen and thyroid hormone status  
Endocrinology, 147 (2006) 3818-3825
12. Menyhért J., Wittmann G., Hrabovszky E., Szlávik N., Keller É., Tschöp M., Liposits Z., Fekete C.  
Distribution of ghrelin-immunoreactive neuronal networks in the human hypothalamus  
Brain Res, 1125 (2006) 31-36
13. Wittmann G., Deli L., Kalló I., Hrabovszky E., Watanabe M., Liposits Z., Fekete C.  
Distribution of type 1 cannabinoid receptor (CB1)-immunoreactive axons in the mouse hypothalamus  
J Comp Neurol, 503 (2007) 270-9.
14. Menyhért J., Wittmann G., Lechan R.M., Keller É., Liposits Z., Fekete C.  
Cocaine- and amphetamine regulated transcript (CART) is colocalized with the orexigenic NPY and AGRP and absent from the anorexigenic {alpha}-MSH neurons in the infundibular nucleus of the human hypothalamus  
Endocrinology, 2007 May 24 [Epub ahead of print]