

P1.1.1

AZ UCN II (1-21) ÉS AZ UCN II (22-38) FRAGMENTEK SZORONGÁSRA ÉS DEPRESSZIÓRA VALÓ HATÁSAI EGEREKBE

Bagosi Zsolt¹, Balangó Beáta¹, Pintér Dávid¹, Csabafi Krisztina¹, Pál Ágnes¹, Kiss Gusztáv¹, Tóth Gábor², Szabó Gyula¹

¹ Szegedi Tudományegyetem, ÁOK, Kórélettani Intézet;

² Szegedi Tudományegyetem, ÁOK, Orvosi Vegytani Intézet

Az urokortinok (UCN I, UCN II és UCN III) CRF-szerű peptidok, melyek részben közös aminosavszekvenciával, de különböző receptor affinitással rendelkeznek. Korábbi kísérletek kimutatták, hogy szemben a CRF-fel és az UCN I-gyel, az UCN II és az UCN III szorongásoldó és anti-depresszáns hatásokat vált ki egerekben. Továbbá, számos UCN III fragmentum csökkentette a rácsalók szorongásra és depresszióra utaló tüneteit. Jelen kísérletekben az UCN II (1-21) és az UCN II (22-38) fragmentumok szorongásra és depresszióra való hatásait vizsgáltuk egerekben. A peptidokat 0.125, 0.25, 0.5 és 1 µg/2µl dózisokban intracerebroventrikulárisan (icv) adtuk be hím C57BL/6 egereknek. Harminc perc után az egereket szorongásra utaló jelek miatt elevated plus-maze tesztben (EPMT), illetve depresszióra utaló jelek miatt forced swim tesztben (FST) vizsgáltuk. Mindkét teszt 5 percen át tartott. Az EPMT-ben a 0,125 µg/2µl dózisú UCN II (1-21)-vel kezelt egerek többször léptek be a nyitott karba és több időt töltöttek ott, mint a kontroll. Ezen felül, a kontrollhoz képest ezek az egerek az FST-ben is több időt töltöttek úszással és mászással és kevesebbet mozdulatlanul. Az urokortin II első fragmentumával történt kezeléskor ezek voltak az egyedüli szignifikáns eredmények. Az EPMT-ben 0,5 µg/2µl dózisú UCN II (22-38)-vel kezelt egerek kevesebbszer léptek be a nyitott karba és kevesebb időt töltöttek ott, mint a kontroll. Ezen kívül, a kontrollhoz képest az 1 µg/2µl dózisú UCN II (22-38)-vel kezelt egerek több időt töltöttek úszással és mászással és kevesebbet mozdulatlanul. Azonban az urokortin II második fragmentumával történt kezeléskor származó eredmények nem voltak szignifikánsak. A jelen eredmények azt sugallják, hogy az UCN II korábban bizonyított szorongásoldó és antidepresszáns hatásai a peptid első részén keresztül jönnek létre, így az UCN II (1-21) hatékony gyógyszerré válhat a szorongás és depresszió kezelésében.

Munkánkat a Nemzeti Agykutató Program (KTIA_13_NAP-A-III/8) támogatta

P1.1.2

A NUCLEUS PEDUNCULOPONTINUS ÉS NUCLEUS CUNEIFORMIS GLUTAMATERG NEURONOK FUNKCIONÁLIS HETEROGENITÁSÁNAK VIZSGÁLATA

Baksa Brigitta¹, Kovács A.¹, Antal M.², Pál B.¹

¹Debreceni Egyetem ÁOK Élettani Intézet;

²Debreceni Egyetem ÁOK Anatómiai, Szövet- és Fejlődéstani Intézet

A nucleus pedunculopontinus (PPN) a retikuláris aktivációs rendszer egyik kolinerg magjaként ismert, de a kolinerg neuronokon túl nagy számban tartalmaz nem-kolinerg (GABAerg, glutamaterg) neuronokat is. A PPN glutamaterg neuronjai -az alvás-ébrenlét szabályozásában betöltött szerepük mellett- a mozgás és az izomtónus szabályozásában is részt vesznek a tőle dorsalisán elhelyezkedő nucleus cuneiformis (CN) neuronjaival együtt. A két szomszédos mag neuronjai egymással szomszédos, in vivo kísérletekben megfigyelt szerepüket tekintve egymásba dinamikusan átmenő populációt alkotnak. A nucleus cuneiformis dorsalis részének stimulációja komplex mozgásmintázatot vagy tónusfokozódást, a nucleus pedunculopontinus ventralis részének stimulációja atóniát eredményezett, míg a két régió közötti stimuláció a fenti két válasz keverékét hozta létre. A két mag glutamaterg neuronjai valószínűleg több, egymástól funkcionálisan elkülönülő csoportot alkotnak, de celluláris elektrofiziológiai sajátágaikat eddig nem vizsgálták. A két mag jelentőségét az adja, hogy a Parkinson-kórban alkalmazott stimuláció egyik cépontjául szolgálnak; így a mély agyi stimuláció hatásainak megértéséhez hozzájárulhat ezen neuronok részletes ismerete.

Kísérleteinkhez Vglut2-függő módon tdTomato fluoreszcens markert vagy channelrhodopsin-2 fényaktivált ioncsatornát kifejező egerekből készített középagyi szeleteket használtunk, és elektrofiziológiai, morfológiai vizsgálatokat végeztünk rajtuk.

Kimutattuk, hogy a PPN glutamaterg neuronjai nem rendelkeznek M-árammal, de valamennyiük rendelkezik A-árammal. A neuronok mintegy felén kalciumáram-függő depolarizációt és burst tüzelést láttunk; valamint egy csoportjukon perzisztens, TTX-érzékeny nátriumáramot lehet mérni. A glutamaterg neuronok bemenő ellenállása szignifikánsan nagyobb, mint a mag kolinerg vagy GABAerg neuronjaié. Akciós potenciáljaik morfológiája és tüzelési frekvencia adaptációjuk alapján három nagy csoportba sorolhatóak: egyes neuronok az emelkedő amplitúdójú depolarizáló áraminjekciók hatására nem változtatják a tüzelési frekvencia adaptációjukat, valamint az 1 s hosszúságú akcióspotenciál-sorozat első és utolsó tagjának az amplitúdója és időtartama nem különbözik. A második csoportban a depolarizáló áraminjekció amplitúdójának növelésével az adaptáció fokozódik, a sorozat utolsó akciós potenciálja szignifikánsan szélesebbé és kisebb amplitúdójúvá válik. A harmadik csoportban a depolarizáció fokozódásával az áraminjekció elején nagy frekvenciájú, rövid sorozat alakul ki, amelyet TTX-érzékeny membránpotenciál-oszcillációk követnek. A PPN glutamaterg neuronok 38%-a az első, 28%-a a második, míg 32%-a a harmadik csoportba tartozik. A PPN glutamaterg neuronok optogenetikai aktivációja a nem-glutamaterg neuronokon az EPSC-k frekvenciájának $2,72 \pm 0,61$ -szeres növekedését váltja ki.

A CN glutamaterg neuronok, a PPN glutamaterg neuronokhoz hasonlóan rendelkeznek A-árammal, de –a PPN glutamaterg neuronokkal szemben- 54%-ukon sikerült M-áramot kimutatni. A CN glutamaterg neuronok bemenő ellenállása a PPN kolinerg és GABAerg

populációihoz hasonlít, így szignifikánsan alacsonyabb, mint a PPN glutamaterg neuronoké. A PPN neuronokon megfigyelt 3 funkcionális csoport közül a harmadik csoportba tartozik a CN glutamaterg neuronok 82%-a, míg 18%-a az első csoportba.

Összefoglalásként elmondhatjuk, hogy sikerült a PPN glutamaterg neuronokon belül funkcionális alcsoportok létét demonstrálni, valamint kimutatni, hogy a CN glutamaterg neuronok nagy része egyetlen funkcionális csoportba tartozik. Sikerült továbbá az eddig csak morfológiai módszerekkel azonosított PPN-en belüli glutamaterg axon kollaterálisok meglétét funkcionális módszerrel is tetten érni. Az in vivo megközelítésben és az általunk megfigyelt funkcionális alcsoportok összefüggéseinek megállapítása a jövő feladata.

P1.1.3

PRIMER PATKÁNY ASZTROGLIA SEJTEK CITOKIN TERMELÉSE OXIDATÍV STRESSZ HATÁSÁRA

Bárány Zoltán Balázs¹

Kiss Dávid Sándor¹, Tóth István¹, Jócsák Gergely¹, Bartha Tibor¹, Frenyó V. László¹, Sterczner Ágnes²

1 Állatorvostudományi Egyetem, Élettani és Biokémiai Tanszék, Budapest

2 Állatorvostudományi Egyetem, Belgyógyászati Tanszék és Klinika, Budapest

Bevezetés

A hepaticus encephalopathia (HE) egy neuropszichiátriai kórkép, mely a máj méregtelenítő funkciójának kiesése miatt következik be. Az akut lefolyású HE-t jelentős mortalitási arány jellemzi, melynek hátterében a kialakuló agyödéma és az azt követő agyi beékelődés áll. Ennek legfőbb oka az asztroglia-duzzadás, melynek pontos patomechanizmusa nem ismert, mindazonáltal e folyamatokban az oxidatív stressznek és a neuroinflammációnak igazoltan központi szerepe van. Mindkét előbb említett kórfolyamat asztroglia-duzzadást előidéző hatásáért a mikroglia sejteket teszik felelőssé, annak ellenére, hogy mindebben feltételezhető egyéb sejtek szerepe is.

Hipotézis

A jelenlegi nézet szerint a mikroglia asztroglia-duzzadást kiváltó hatásai révén, az asztroglia sejtek mintegy passzív elszenvedői lesznek az akut HE kórfolyamatainak. Feltevésünk szerint azonban az asztroglia aktívan is hozzájárulnak a fenti kórkép kialakulásához, az oxidatív stressz következtében kialakuló neuroinflammáció előidézése által.

Anyag és módszer

1-2 napos Sprague Dawley patkányokból primer asztroglia-kultúrát hoztunk létre. A mintegy 99%-os tisztaság elérése érdekében a konfluens tenyészeteket citozin- β -D arabinofuranoziddal és azt követően L-leucin metil észterrel kezeltük. Az így kapott sejttenyészeteket növekvő koncentrációban, hidrogén-peroxiddal (H_2O_2), 1 órán át kezeltük, és 2,7 -dikloro-dihidrofluorescein diacetát- valamint propidium-jodid-kezelés segítségével

meghatároztuk azt a legkisebb H₂O₂ koncentrációt, amely már szignifikáns oxidatív stresszt idéz elő a sejtekben, a lehető legalacsonyabb sejtpusztulás mellett. Ezt követően az adott koncentrációjú H₂O₂, 1 órás inkubációját követően az asztrogliák kultúrák médiumából TNF- α , IL-6 és IL-10 fehérje expressziókat mértünk ELISA kiték segítségével. A kontroll értékeket a kezeletlen sejt kultúrák által termelt TNF- α , IL-6 és IL-10 koncentrációi jelentették.

Eredmények

A H₂O₂ oxidatív stresszt indukál az asztrogliák sejtekben, melynek hatására az asztrogliák sejtek TNF- α , IL-6 IL-10 termelése fokozódik a kontrollhoz képest.

Következtetés

Az asztrogliák sejtek oxidatív stressz hatására citokin termelésre képesek, ezáltal feltételezhető, hogy az akut HE-ben kialakuló neuroinflammáció hátterében nem csak a mikrogliaknak, hanem az asztrogliáknak is fontos szerepe van. A továbbiakban tervezzük vizsgálni, hogy az asztrogliák neuroinflammációs válasza befolyásolható-e olyan gyógyszerhatóanyagokkal, melyek ugyan már klinikai használatban vannak, de a neuroinflammációt csökkentő hatásuk csak az utóbbi években vált ismertté.

A kutatáshoz szükséges anyagi forrást az alábbi pályázatok biztosították:

KK-UK 2016 (49P02AI03), KK-UK 2015 (12123), OTKA (115613)

P1.1.4

AUTONÓM IDEGRENDSZERI ELTÉRÉSEK VIZSGÁLATA TRANSZLÁCIÓS MODELLBEN

Büki Alexandra, Kalmár György, Nyúl László, Kékesi Gabriella, Horváth Gyöngyi

Szegedi Tudományegyetem ÁOK, Élettani Intézet

Bevezetés: Számos vizsgálat igazolta szkizofrén betegekben a vegetatív idegrendszer egyensúly zavarát, amely jellegzetes tünetekkel jelentkezhet, úgymint az abnormális hőszabályozás és pupillo-motoros funkció. Korábbi kísérleteinkben kimutattuk, hogy az új, komplex, krónikus szkizofrénia patkány alfajta (WISKET) egyedei nemcsak a fájdalomérzékenységekben, szenzoros kapuzásban, kognitív funkciókban, és a motoros aktivitásban mutatnak eltérést, de az elsősorban a vegetatív idegrendszer szabályozása alatt álló hőszabályozásban is. Jelen kísérletünk célja a szintén autonóm idegrendszeri szabályozás alatt álló pupillo-motoros funkciók vizsgálata, esetleges eltéréseinek meghatározása állatmodellünkben.

Módszerek: Felnőtt hím WISKET (n=20) és kontroll Wistar (n=14) patkányokat 200 mg/kg klorál-hidráttal altattuk. A direkt pupilla fényreflexet 10 perc sötét adaptáció után egy digitális fényképezőgéppel (Nikon D7000) rögzítettük infravörös megvilágítás mellett. A reflexet egy intenzív, rövid fényingerrel váltottuk ki, ezzel egy időben infravörös jelzőfényt alkalmaztunk az állat szemébe. Az offline videofelvételeket MATLAB-ban (R2015a) írt program segítségével analizáltuk. A program folyamatosan nyomon követte az írisz és a pupilla átmérő hányadosának (relatív pupilla átmérő) változását a fényimpulzus felvillanásától kezdve és ennek megfelelően értékelte ki a kívánt paramétereket.

Eredmények: A WISKET patkányok és a kontroll állatok kezdeti és redilatált pupilla átmérője között különbséget nem találtunk, viszont a pupilla átmérője a fényre adott válasz esetében szignifikánsan nagyobb volt a WISKET állatokban, ezáltal az amplitúdó és a kontrakció mértéke közel szignifikáns különbséget mutatott. A kontrakciós paraméterekben különbséget nem találtunk, a redilatáció dinamikája tendenciájában lassabbnak bizonyult a WISKET állatokban.

Következtetés: A WISKET állatokban mutatott változások a pupillo-motoros működésben a vegetatív idegrendszer működési zavarára utalhatnak. Mivel a fényreflex a paraszimpatikus aktivitásnak tulajdonítható, eredményeink a paraszimpatikus idegrendszer csökkent aktivitását jelezheti, és/vagy a fokozott szimpatikus idegrendszeri aktivitást. Modellünk ennek megfelelően alkalmas lehet a szkizofrénia nemcsak magatartásbeli, de vegetatív tüneteinek szimulálására is.

P1.1.5

A SZOCIÁLIS JETLAG HATÁSA AZ ALVÁSMINŐSÉGRE

Südy Ágnes Réka, Ella Krisztina, Káldi Krisztina

Semmelweis Egyetem Élettani Intézet, Budapest

A munkanapokon és a szabadnapokon mérhető alvási középido különbsége, azaz a szociális jetlag (SJL), a populáció nagy többségét érintő probléma. Megjelenése több betegség szempontjából is rizikótényező, ilyen például a depresszió, vagy az elhízás, és a társulás egészségkárosító magatartásformákkal, mint például a dohányzás, vagy a megnövekedett koffeinbevitel. Munkacsoportunk korábbi vizsgálatai arra utalnak, hogy a SJL negatívan befolyásolja az egyetemi hallgatók tanulmányi teljesítményét. Jelen kísérleteink annak vizsgálatára irányulnak, hogy a SJL miként hat az alvásminőségre, az egyes alvófázisok hosszára, valamint a vegetatív idegrendszer működésére.

Méréseink során egészséges, 20-26 év közötti férfi alanyokat vizsgáltunk. Ugyanazon a héten a szerda éjszakai, valamint a szombat éjszakai alvási paramétereket hasonlítottuk össze alacsony és átlagos (<90 perc), valamint magas (>90 perc) SJL-ű csoportoknál. ActiHeart készülék segítségével követtük az éjszakai mozgást, valamint a szívfrekvencia variabilitás (HRV) elemzésével a vegetatív idegrendszer aktivitásának változását. A HRV elemzése során időtartomány és frekvenciatartomány analízis segítségével meghatároztuk a mély alvással töltött időt. A cirkadián ritmus egyik fő indikátora a melatonin koncentráció napi ingadozása. A két vizsgálati napon meghatároztuk a melatonin bomlástermékének (melatonin-szulfát) koncentrációját a reggeli vizeletben. Emellett az alvásminőség szubjektív mérésére a Gröningen-kérdőívet alkalmaztuk.

Vizsgálataink arra utalnak, hogy a SJL negatívan korrelál az alvásminőséggel. Ezen kívül a magasabb SJL-lel rendelkező csoport nagyobb mértékű alvásminőség javulást mutatott a hétköznapi és hétvégi mérések között. Annak ellenére, hogy a javulás nagyobb mértékű volt ebben a csoportban, az alacsony SJL-ű csoportban mind hétköznapi, mind szabadnapokon magasabb a jobban alvók aránya.

P1.1.6

A GLUTAMÁT 3-AS VEZIKULÁRIS TRANSZPORTER SZEREPE A TANULÁSBAN: VIZSGÁLATOK GÉNKIÜTÖTT EGEREKEN

Horváth Hanga Réka¹, Fazekas Csilla Lea¹, Balázsfi Diána^{1,2}, Zelena Dóra^{1,3}

¹MTA Kísérleti Orvostudományi Kutató Intézet, Magatartás Neurobiológiai Osztály, Budapest;

²Semmelweis Egyetem, Szentágothai János Idegtudományi Doktori Iskola;

³Szentágothai Kutatóközpont, Idegtudományi Központ, Pécsi Egyetem, ÁOK, Élettan Intézet

Bevezetés: A glutamát neurotranszmitter és receptorai fontos szerepet játszanak a tanulásban, ami kritikus az állandóan változó környezethez való alkalmazkodás során. A glutamaterg neuronokat a bennük található vezikuláris glutamát transzporterek (VGluT1-3) alapján jellemezhetjük. A legújabban felfedezett a VGluT3. Általánosan elmondható róla, hogy a többi transzporternél ritkábban fordul elő és gyakran kolokalizálódik más klasszikus neurotranszmitterrel. Kísérletsorozatunk célja az volt, hogy tisztázzuk a VGluT3 szerepét a tanulásban és a memória kialakulásában VGluT3 génkiütött (KO) és vad típusú (WT) egerek összehasonlításával.

Anyag és módszer: Három, különböző memóriát vizsgáló tesztet végeztünk el. Rotarodon a motoros tanulást, Y-maze-zel a munkamemóriát és holeboard-dal a térbeli memóriát teszteltük. A rotarodon 5 napon keresztül napi 3 vizsgálat volt. Y-maze-ben 5 percet töltöttek el. Tekintettel a törzs szorongó természetére, a holeboard kísérlet 2 nap 15 perces habituációval kezdődött, melyet 5 napos, napi 6 körös kísérlet követett. Ekkor a dobozban lévő 16 lyukból 4-be jutalomfalatot helyeztünk, amit 3 perc alatt kellett az állatoknak megtalálniuk. Ezután egy 2 napos fordított tanulás következett.

Eredmények: Rotarodos vizsgálatok során a KO egerek leesési latenciája nagyobb volt, mint a WT-ké, így kijelenthetjük, hogy nem voltak motoros problémáik. Y-maze-nél a normális munkamemóriát jelző spontán alteráció csak a WT-knél volt megfigyelhető. Holeboardon a jól tanuló egerek száma és a referencia-memória hiba független volt a genotípustól. A munkamemória és a kihagyási hibák száma azonban a KO egerekben volt magasabb. Továbbá a fordított tanulás során a WT-k rugalmasabbnak bizonyultak.

Következtetés: A VGluT3 kiütése a térbeli tájékozódást nem befolyásolta, inkább a rövidtávú munkamemóriára és a tanulás flexibilitására volt hatással.

P1.1.7

METABOLIKUS VÁLTOZÁSOK ÉS MIKROGLIA AKTIVÁCIÓ KRÓNIKUS PSZICHÉS STRESSZBEN

Horváth Krisztina

Állatorvostudományi Egyetem, Budapest

A modernizáció hatására folyamatosan nő környezetünkben azon pszichoszociális és fizikai behatások - stresszorok - száma, melyek a szervezetet alkalmazkodásra készítettén szervezet szintű, komplex választ, stresszt indukálnak. A krónikus variábilis stressz (CVS) változást okoz a metabolikus, neuroendokrinológiai és immunológiai folyamatokban is. Az agy mikroglia sejtjei jelentős szerepet játszanak a neuroinflammatorikus folyamatok létrehozásában és az idegsejthálózatok szinapszisainak átrendezésében. A fraktalkin egy fontos kemokin, mely kiemelkedő szerepet tölt be a neuron-mikroglia kommunikációban és a mikroglia aktivációban azáltal, hogy neuronok termelik és specifikus receptoruk (CX3CR1) mikroglia sejteken van. Vizsgálatunk célja a CVS hatására bekövetkező szervezet szintű metabolikus, és a mikroglia aktivációt jelző morfológiai változások detektálása a metabolikus szabályozásban kulcsszerepet játszó arcuatus magban. Kísérletünkben fraktalkin szignalizáció hibás, transzgenikus egereket használtunk (CX3CR1^{-/-}, genetikai háttér: C57Bl6), melyeket felnőttkorukban négy héten át tartó, CVS-nek tettük ki. A kísérlet során feljegyeztük az egyedek testtömeg változásait, majd a stressz procedúra végén indirekt kalorimetria segítségével felvételeztük főbb metabolikus paramétereiket. Megmértük a mellékvesék tömegét, illetve a vér kortikoszteron koncentrációját. Az agyi mikroglia morfológiai változásait specifikus, mikroglia aktivációt jelző molekuláris marker (Iba1) használatával, klasszikus és fluoreszcens immunhisztokémiai módszerekkel vizsgáltuk.

A CVS-nek kitett egerek testtömeg-gyarapodása a kezelés idején szignifikánsan elmaradt, a nyugalmi időszakban pedig megnőtt a kontroll állatokéhoz képest. Ugyanakkor mellékvese tömegük és plazma kortikoszteron koncentrációjuk szignifikánsan nőtt nem stresszelt társaikhoz képest. A CVS megnövelte a CX3CR1^{-/-} egyedek éjszakai lokomotoros aktivitását vad típusú és kontroll társaikhoz képest. Továbbá, stressz hatására a kontroll csoport egereitől szignifikáns növekedést mutatott az egyedek energiafelhasználása, illetve éjszakai táplálékfelvétele és légzési hányadosa (RER). Valamint, CVS hatására az egyik fő energia-homeosztázist szabályzó agyterületen, a nucleus arcuatusban (ARC) megnőtt a

mikroglia sejtek Iba1 festődési intenzitása vad típusú egyedekben, míg CX3CR1^{-/-} egerekben nem.

Összefoglalva, a CVS hatással volt az egerek metabolikus paramétereire és az ARC-ban létrejövő mikroglia aktivációra, melyben szerepe volt a fraktalkin szignalizációnak.

P1.1.8

FUNKCIONÁLIS IDEGRENDSZERI VÁLTOZÁSOK VIZSGÁLATA TITÁN-DIOXID NANORÉSZECSKÉKKEL KEZELT PATKÁNYOKBAN

Horváth Tamara¹, Papp András¹, Vezér Tünde¹, Kovács Dávid²

¹Szegedi Tudományegyetem, ÁOK, Népegészségtani Intézet;

²Szegedi Tudományegyetem, Természettudományi és Informatikai Kar, Biokémiai és Molekuláris Biológia Tanszék

A 100 nm alatti átmérőjű nanorészecskék (NP-ok) és nanoanyagok kutatása, valamint felhasználása napjainkban rohamosan fejlődik. A széles körű alkalmazás a NP-okkal és az azokat tartalmazó termékekkel történő humán expozíció gyakoribbá válásával is jár. A titán-dioxid (TiO₂) NP-okat számos iparág alkalmazza, és azok megjelennek különböző fogyasztási cikkekben is. Legjelentősebb a fehér pigmentként történő használata az élelmiszer-, gyógyszer- és kozmetikai iparban. Mivel a NP-ok fiziko-kémiai és ebből adódó biológiai tulajdonságai más formátumú, illetve mérettartományú anyagokétól igen eltérőek lehetnek, továbbá az élő szervezettel való különféle kölcsönhatásaik (pl.: toxikológiai tulajdonságaik) csak részben ismertek, a velük történő expozíció újszerű egészségügyi kockázatot képvisel. Egyes szakirodalmi adatok utalnak a krónikus TiO₂ expozícióval összefüggő humán neurológiai tünetek megjelenésére, mások egerekben oxidatív stresszt és agyi károsodást írtak le – a napjainkig korlátozott számban rendelkezésre álló szakirodalmi adatok azonban nem egyértelműek.

Jelen munkában 3 csoport (N=10 állat) patkányt kezeltünk 28 napig kb. 10 x 100 nm-es pálcikaszerű, különböző (5, 10, 18 mg/ttkg) dóziszú TiO₂ NP-t tartalmazó szuszpenzió intratracheálisan instillációjával, míg 10-10 állat kontroll illetve vivőszeres kontroll volt. A NP expozícióval összefüggő általános toxikus hatások közül naponta detektáltuk a testtömegváltozásokat és a klinikai tüneteket; továbbá a kezelési periódus félidejében és végén a kognitív változásokat (felderítő aktivitás, pszichomotoros teljesítmény, szorongás), a motoros (csimpaszkodás) teljesítményt, illetve az ezek hátterében feltételezett oxidatív stresszre utaló biokémiai és patológiai eltéréseket. A kísérlet végén vizsgáltuk a TiO₂ NP-ok célszövetekbe, -szervekbe jutását (fém-koncentráció, szervtömeg), továbbá az agykéreg, basalis ganglionok (caudatum, putamen) és perifériás idegek szintjén elektrofiziológiai módszerekkel detektálható funkcionális változásokat.

A testtömeg-gyarapodáson szignifikáns hatás nem mutatkozott. A testtömeghez viszonyított relatív szervtömeg a tüdő és a vese esetében változott szignifikánsan a kezelt állatokban a kontrollcsoportokhoz képest. Az elektrofiziológiai vizsgálatok során a kéri szenzoros kiváltott potenciálok latenciája dóziszfüggő, szignifikáns módon megnyúlt, a szomatoszenzoros kiváltott potenciál ingerlési frekvenciától függő változásai (latencia növekedése, amplitúdó csökkenése) a kezelt állatokban erősebben jelentkeztek. A farokideg vezetési sebessége dóziszfüggő, szignifikáns módon lecsökkent, a relatív refrakter idő hosszabb lett. A kezelés félidejében a TiO₂ NP-kezelt patkányok spontán késztetés aktivitása az 1. percben a sarki zónákban szignifikáns, dóziszfüggő csökkenést mutatott, mely változás a 6. héten is megfigyelhető volt. A célszervek (tüdő, mellékvese, vese) patológiai vizsgálata és

a biokémiai vizsgálatok (lipidperoxidáció, stb.) eredményei alátámasztják a celluláris oxidatív stressz és a gyulladás patomechanizmusban betöltött szerepét.

Összefoglalva, a TiO₂ NP-ok szubkrónikus adagolását követően detektálni tudunk bizonyos általános toxikus és funkcionális elváltozásokat patkányokban, az eredmények azonban újabb kérdéseket vetnek fel és további vizsgálatokat indokolnak, elsősorban a dóziszfüggés és a neuro-funkcionális károsodások mechanizmusa terén.

P1.1.9

AZ M-ÁRAM POTENCIÁLIS SZEREPE A NUCLEUS PEDUNCULOPONTINUS NEURONJAINAK KOLINERG MODULÁCIÓJÁBAN

Kovács Adrienn, Bordás Csilla; Pál Balázs

Debreceni Egyetem ÁOK, Élettani Intézet

A nucleus pedunculopontinus (PPN) a retikuláris aktivációs rendszer egyik kolinerg ága, amely kolinerg és nem-kolinerg bemenetekkel lát el számos szubkortikális struktúrát. A PPN neuronok maguk is kapnak kolinerg bemenetet a szomszédos nucleus laterodorsalis tegmentalisból (LDT), az ellenoldali nucleus pedunculopontinusból és lokális kolinerg kollaterálisokon keresztül.

A muszkarinos kolinerg hatások egyik jól ismert célpontja az M-áram. Ez az áram egy lassan aktiválódó, inaktivációt nem mutató feszültségvezérelt káliumáram, amelyet (többek között) a muszkarinos acetilkolin-receptor aktivációja zár. Az M-áramért felelős csatornát a központi idegrendszerben a KCNQ2-5 (Kv7.2-5) alegységek alkotják. Vizsgálataink célja az M-áram jelenlétének, az áramért felelős csatorna alegységösszetételének, celluláris és hálózati szerepeinek vizsgálata volt.

Vizsgálatainkhoz középagyi szeleteket, valamint az agytörzset és a thalamust is magába foglaló blokkpreparátumokat használtunk, és azokon elektrofiziológiai méréseket végeztünk; esetenként optogenetika használatával.

Kimutattuk, hogy a PPN GABAerg és glutamaterg neuronjai nem rendelkeznek M-árammal, viszont csaknem mindegyik kolinerg neuronon sikerült az M-áram jelenlétét igazolni. Az M-áram a kolinerg neuronok tüzelési frekvencia adaptációjának kialakításában játszik fontos szerepet, valamint a magas küszöbű membránpotenciál-oszcillációk modulációjában. Az M-áram gátlása csökkentette a tüzelési frekvencia adaptációt, míg az M-áram aktivátorok növelték azt. A magas küszöbű oszcillációt az M-áram gátlás csaknem teljesen gátolta, míg az M-áram aktiváció amplitúdócsökkenést és az oszcilláció aktivációjának magasabb feszültségtartományokba tolódását eredményezte.

A KCNQ4 knockout egerekben az M-áram amplitúdójának csökkenését, egyes kolinerg neuronokon annak teljes hiányát láttuk; továbbá a KCNQ2- és KCNQ4-specifikus nyitószerek a vad típusú preparátumokon az esetek többségében M-áram aktivációhoz és a tüzelési frekvencia adaptáció növekedéséhez vezetett, míg a KCNQ2- és KCNQ3-specifikus nyitószerek az esetek túlnyomó részében hatástalanok maradtak.

Ugyanazon neuron szómájáról és proximális dendritjéről mérve azt figyeltük meg, hogy az M-áram a szómán szignifikánsan nagyobb amplitúdójú.

A fenti eredmények mellett folyamatban vannak az LDT és az ellenoldali PPN optogenetikai stimulációjának hatására a PPN neuronok M-áramán és tüzelési frekvencia adaptációján

megfigyelhető változások leírása, továbbá M-áram gátló- és nyitószereknek a PPN-be fecskendezése mellett a thalamus nucleus parafascicularis neuronokon végzett elektrofiziológiai mérések.

Összefoglalásként elmondhatjuk, hogy az M-áram a PPN-ben a kolinerg neuronok sajátosága. Ennek az áramnak a szómán mérhető a legnagyobb amplitúdója; az M-áramért felelős csatornát részben, de nem kizárólag KCNQ4 alegységek alkotják. Az M-áram hozzájárul a kolinerg neuronok tüzelési frekvencia adaptációjához és membránpotenciál-oscillációiknak a modulációjához.

P1.2.1

A GYY-4137 HATÁSAI K/BXN SZÉRUM ARTHRITIS MODELLEN TRPA1 WT ÉS KO EGEREKBE

Bátai István Zoárd^{1,2}, Horváth Ádám^{1,2}, Kiss Tamás², Pozsgai Gábor^{1,2}, Pintér Erika^{1,2}

¹Pécsi Tudományegyetem ÁOK, Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet;

²Pécsi Tudományegyetem Szentágotthai János Kutatóközpont

A gázotranszmitterek legújabb tagja a szulfid (H₂S) amelyet, korábban emlősökben csak toxikus hatásai miatt vizsgáltak. A korai kutatások fényt derítettek a H₂S mitokondriális hatásaira, majd az ezt követő kísérletek bemutatták pro- és antiinflammatorikus-, kardiovaszkuláris-, tumor ellenes-, perkondicionáló-, poszt transzlációs- és neuromodulátor hatásait is. Ismert a “hároms funkcióval” –szenzoros afferens, lokális efferens és szisztémás efferens- rendelkező kapszaicin érzékeny szenzoros neuronok fájdalom- és gyulladás csökkentő szerepe. Ezen neuronok egy szubpopulációján expresszálódik a tranziens receptor potenciál ankyrin receptor (TRPA1), amely egy nem szelektív kation csatorna. A TRPA1 receptor számos természetes és szintetikus agonistája ismert, többek között a H₂S is képes aktiválni. K/BxN szérum transzfer autoimmun artritisz modellben vizsgáltuk a TRPA1 és egy elnyújtott felszabadulású H₂S donor a GYY-4137 hatásait.

Kísérleteinket TRPA1 vad (WT) és knock-out (KO) genotípusú 4 hónapos hím egereken végeztük. A szérum artritisz indukciója egyszeri 300 µl K/BxN szérum i.p. adásával történt. Az állatokat naponta kezeltük i.p. 50 mg/kg GYY-4137-tel. A kísérlet 14 napja alatt naponta regisztráltuk az állatok súlyát, a lábak erejét grip teszt módszerrel, szemi kvantitatív pontozással gyulladás mértékét, dinamikus plantáris eszteziométerrel (DPA) a nocicepció mértékét és pletizmográfiával az ödéma nagyságát. In vivo lumineszcens és fluoreszcens képalkotó módszerrel mértük a mieloperoxidáz (MPO) enzimaktivitást és az extravazáció mértékét a 0., 2. és 6. napokon. Kontroll méréseinkhez BxN szérumot használtunk.

A GYY-4137 kezelés hatására szignifikánsan csökkent a klinikai pontszám és nőtt a fájdalomküszöb értéke TRPA1 WT egerekben. Ellenben a GYY-4137 hatására TRPA1 KO egerekben szignifikánsan csökkent az állatok rácson való függeszkedésének látenciaideje, illetve nagyobb volt az MPO aktivitás és a plazmaextravazáció mértéke.

Kísérletünk során bebizonyítottuk, hogy a K/BxN szérum transzfer autoimmun artritisz egér modell esetén a lassú hatású szulfid donor GYY-4137 TRPA1 WT egerekben anti-inflammatorikus-, ellenben TRPA1 KO egerekben proinflammatorikus hatással rendelkezik.

P1.2.2

EGY ÚJ NEUTROFIL-HIÁNYOS EGÉRTÖRZS JELLEMZÉSE

Csepregi Janka Zsófia¹, Zajta Erik², Csonka Katalin², You Wen He³, Gácsér Attila², Mócsai Attila¹

¹Semmelweis Egyetem, Élettani Intézet és SE-MTA „Lendület” Gyulladásélettan Kutatócsoport, Budapest;

²Szegedi Tudományegyetem, Mikrobiológiai Tanszék;

³Department of Immunology, Duke University Medical Center, Durham, NC, USA

Bevezetés: Az egyes fehérvérsejt-vonalak hiányát eredményező mutációk hozzájárulnak az adott vonal fiziológiás és patológiás körülmények között betöltött szerepének megismeréséhez. Korábbi vizsgálatainkban azt találtuk, hogy az anti-apoptotikus Mcl-1 fehérje mieloid-specifikus törlésével létrehozott $LysM^{Cre/Cre}Mcl-1^{flox/flox}$ (továbbiakban $Mcl-1^{\Delta Myelo}$) egértörzsben hatékony neutrofil granulocita (neutrofil) hiányos állapot jön létre, mely más sejtvonalat azonban nem érint. Ezek az egerek emellett teljesen védettnek bizonyultak két neutrofil-függő, autoantitest-indukált *in vivo* gyulladásos betegségmodellben. Jelen kísérleteink célja az volt, hogy megfigyeljük az $Mcl-1^{\Delta Myelo}$ egerek hosszú távú túlélését és a fertőző mikroorganizmusokkal szembeni fogékonyságát.

Anyag és módszer: Kísérleteinket vad típusú és $Mcl-1^{\Delta Myelo}$ egereken végeztük el. Az egerek túlélését és szaporodóképességét SPF körülmények között követtük egy éven keresztül. Az $Mcl-1^{\Delta Myelo}$ egerek bakteriális és gombás fertőzésekre való fogékonyságát 2×10^7 *Staphylococcus aureus* intraperitoneális vagy 10^5 *Candida albicans* intravénás injektálásával vizsgáltuk. Ezt követően figyeltük az egerek túlélését, majd CFU meghatározást végeztünk.

Eredmények: Az $Mcl-1^{\Delta Myelo}$ állatok homozigóta formában is életképesnek, szaporodóképesnek és külsőleg egészségesnek bizonyultak, testtömegükben azonban egy kismértékű csökkenést mértünk. A kontroll állatokhoz képest fokozott mortalitást figyeltünk meg a neutrofil-hiányos egerek esetében mind a bakteriális, mind a gombás fertőzés hatására. A CFU szám mindkét kontrollált fertőzéses modellben szignifikáns növekedést mutatott az $Mcl-1^{\Delta Myelo}$ állatokban.

Következtetés: Az $Mcl-1^{\Delta Myelo}$ mutáció okozta neutrofil-hiány fogékonyabbá teszi az egereket a bakteriális és gombás fertőzésekkel szemben, ugyanakkor az egerek mégis életképesnek és homozigóta formában szaporodóképesnek bizonyultak. Eredményeink felvetik az $Mcl-1^{\Delta Myelo}$ egértörzs használatát a neutrofilek egyéb betegségmodellekben való szerepének vizsgálatára.

P1.2.3

NMDA-RECEPTOR GÁTLÁS HATÁSA A MITOKONDRIÁLIS RESPIRÁCIÓRA KÍSÉRLETES POLIMIKROBIÁLIS SZEPSZISBEN

Juhász László, Poles Marietta Zita¹, Tallósy Szabolcs Péter¹, Rutai Attila¹, Boros Mihály¹, Vécsei László², Kaszaki József¹

Szegedi Tudományegyetem, Sebészeti Műtéttani Intézet¹, Neurológiai Klinika², Szeged

Bevezetés: Kimutattuk, hogy az N-metil-D-aszpartát (NMDA)-receptorok gátlása intesztinális gyulladáshoz kórképekben mérsékli az oxidatív és nitrozatív stressz markereit és a gyulladáshoz citokinek szintjét. Jelen munkánkban az endogén NMDA-receptor antagonistá kinurénsav (KYNA) és a szintetikus analóg SZR-72 vegyület hatását vizsgáltuk a mitokondriális légzésre klinikailag releváns peritonitisz-indukált szepszis modellben.

Anyag és módszer: Hím patkányokat (n=18) faecessel inokuláltunk (0,6 g/kg, i.p.), a kontroll csoport (n=6) 0,9%-os sóoldatot kapott. A KYNA vagy SZR-72 (160 µmol/kg, i.p.) kezelés a szepszis indukciót követő 22. órában történt, majd az altatott (ketamin-xylazin) állatokon hemodinamikai monitorozást és vérgáz analízist végeztünk. Máj homogenizátumokból a mitokondriális légzési funkciót, a komplex I (CI; glutamát-malát+ADP) és komplex II-függő (CII; szukcinát+ADP) oxidatív foszforilációt (OxPhos) nagyfelbontású respirometriával (Oroboros, Ausztria) vizsgáltuk. A kapcsoltságot (respirációs kontroll hányados; RCR) az oligomycinnel történő gátlás és az OxPhos arányából határoztuk meg.

Eredmények: A szepszis 24. órájában a CI valamint a CII-függő OxPhos mértéke szignifikánsan csökkent (40% ill. 35%), ugyanakkor a KYNA 72%-al, az SZR-72 pedig 90%-al emelte a CII-függő szukcinát-, valamint az ADP-stimulált légzést. Az elektrontranszportlánc működéséhez köthető és ATP szintézisre utaló kapcsoltságot arányát az SZR-72 kezelés fokozta (RCR: 30%).

Következtetés: Eredményeink szerint az NMDA receptorok gátlása feltehetően a mitokondriális Ca²⁺ beáramlás csökkenésével és/vagy oxidatív stressz mérséklése révén szabályozza az ATP szintézisért felelős ADP-függő respirációt és elektrontranszportlánc működését.

Támogatás: NKFIH K116689; GINOP-2.3.2-15-2016-00034

P1.2.4

A FOSZFOLIPÁZ C γ 2 SEJTSPECIFIKUS TÖRLÉSÉNEK HATÁSAI A K/BXN SZÉRUMTRANSZFER ARTRITISZ MODELLBEN

Kása Orsolya¹², Futosi Krisztina¹², Jakus Zoltán¹, Mócsai Attila¹²

¹Semmelweis Egyetem, Élettani Intézet, Budapest, Magyarország;

²SE-MTA „Lendület” Gyulladásélettan Kutatócsoport, Budapest, Magyarország

Bevezetés: A reumatoid artritisz egy súlyos autoimmun betegség, amelynek patomechanizmusa máig nem teljesen tisztázott. Kutatócsoportunk korábbi eredményei alapján a foszfolipáz C γ 2 (PLC γ 2) fontos szerepet játszik a betegség egyik egérmódelijének, a K/BxN szérumtranszfer artritisz effektor fázisában. Nem tisztázott, hogy a PLC γ 2 milyen sejttípus(ok)ban működve járul hozzá a gyulladásos folyamatok kialakulásához. Ezt a kérdést kétféle megközelítéssel vizsgáltuk.

Módszerek: Csontvelő-transzplantációs kísérleteinkben vad típusú és PLC γ 2-génhiányos (PLC γ 2^{-/-}) egereket letálisan besugaraztunk, majd a másik genotípusból származó csontvelői sejtekkel transzplantáltunk. A PLC γ 2 sejtspecifikus delécióját a Cre/Lox rendszer használatával értük el. A Vav, LysM, MRP8, Pf4 és Mcpt5 gének promotere által hajtott Cre rekombinázt tartalmazó (Vav^{Cre}, LysM^{Cre/Cre}, MRP8^{Cre}, Pf4^{Cre} and Mcpt5^{Cre}) transzgenikus egereket PLC γ 2^{flox/flox} egerekkel kereszteztük. Az utódok autoantitesteket tartalmazó (artritogén), ill. kontroll szérumot kaptak intraperitoneálisan, majd az ízületi gyulladás kialakulását klinikai pontozással és bokavastagság mérésével követtük.

Eredmények: Míg a PLC γ 2^{-/-} csontvelői sejtekkel transzplantált vad típusú egerekben nem tudtuk kiváltani a K/BxN szérumtranszfer artritiszt, addig a vad típusú sejtekkel transzplantált PLC γ 2^{-/-} egerekben létrejött a betegség. Az artritogén szérummal kezelt vad típusú egerek bokaízületei begyulladtak, viszont az ízületi gyulladásnak semmilyen látható jele nem volt az ugyanazzal a szérummal kezelt Vav^{Cre}PLC γ 2^{flox/flox} és LysM^{Cre/Cre}PLC γ 2^{flox/flox} állatokon. Az MRP8^{Cre}PLC γ 2^{flox/flox} egerek szinte teljesen védettek voltak a gyulladás kialakulásával szemben. Ezzel ellentétben a Pf4^{Cre}PLC γ 2^{flox/flox} és az Mcpt5^{Cre}PLC γ 2^{flox/flox} egereknél súlyos ízületi gyulladás alakult ki.

Következtetések: Eredményeink azt mutatják, hogy a PLC γ 2 expressziója a hemopoetikus eredetű sejtek közül a myeloid sejtekben – különösen a neutrofil granulocitákban – elengedhetetlen a K/BxN szérumtranszfer artritisz kialakulásához egerekben.

P.1.2.5

BIMOCLOMOL SZÁRMAZÉKOK HATÁSAINAK VIZSGÁLATA LPS-SEL AKTIVÁLT HUMÁN MAKROFÁGOK IMMUNFOLYAMATAIRA

Kovács Elek Gergő, Deák Dávid, Takács Tamás Tibor, Benkő Szilvia

Debreceni Egyetem, ÁOK, Élettani Intézet

A Bimoclomol típusú vegyületek, az emberi szervezetre nem toxikus, ám jelentős biológiai hatással rendelkező anyagok. Hatásukat tekintve ismert, hogy befolyásolják a sejtek membrán fluiditását, képesek megváltoztatni a cardiomiocita sejtek kalcium háztartását, valamint indukálják a hősokk fehérjék expresszióját. Ezen ismert tulajdonságok miatt a vegyületcsalád több betegség esetében is gyógyszerfejlesztési célmolekulává vált.

Az eddig ismertté vált biológiai tulajdonságaik az immunsejtek működésének is fontos elemei, érdekes módon azonban a Bimoclomol vegyületek lehetséges immunmoduláló hatását eddig még nem vizsgálták.

Munkánk célkitűzése az volt, hogy megvizsgáljuk, milyen változásokat okozhatnak a Bimoclomol származékok az LPS-sel aktivált humán makrofágok immunfolyamataiban.

A kísérleteinkhez humán, perifériás vérből izolált monocita-eredetű makrofágokat használtunk. A sejteket LPS-sel aktiváltuk különböző Bimoclomol vegyületek (BGP15 és BRLP42) jelenlétében vagy hiányában. Az inflammatorikus és anti-inflammatorikus citokinek koncentrációjában bekövetkezett változásokat ELISA módszerrel detektáltuk. qPCR mérésekkel detektáltuk a mintázatfelismerő NOD-like receptorok (NLR) mRNS expressziójának változását, továbbá western-blot módszer segítségével követtük nyomon a kezelések hatására bekövetkező szignál útvonalak aktiválásának változásait.

Eredményeink alapján elmondhatjuk, hogy a két Bimoclomol származék immunmoduláló hatással rendelkezik. Változás figyelhető meg mind az inflammatorikus, mind az anti-inflammatorikus citokinek termelésében és az NLR család bizonyos tagjainak expressziójában is. Kimutattuk továbbá, hogy a Bimoclomol kezelés elsősorban a p38 útvonal működését befolyásolja. Továbbiakban célunk annak kiderítése, hogy pontosan milyen mechanizmusok állnak a citokin termelés- és az NLR expressziós változások hátterében.

A krónikus gyulladáshoz vezető folyamatok hosszú távon súlyos elváltozásokhoz és további betegségek kialakulásához vezethetnek. Ezért a Bimoclomol vegyületek immunmoduláló hatásuk révén potenciális terápiás vegyületekké válhatnak a jövőben.

Támogatás: OTKA-K109429 Benkő Szilvia részére; Debreceni Egyetem által nyújtott Szodoray Lajos posztdoktori ösztöndíj, valamint a Magyar Tudományos Akadémia Bolyai János posztdoktori ösztöndíja Benkő Szilvia részére.

P1.2.6

FLUORINÁLT SZEMI-SZINTETIKUS NÖVÉNYI KANNABINOIDOK VIZSGÁLATA GYULLADÁSOS HUMÁN KERATINOCITA MODELLRENDSZEREKBE

Mihály Johanna¹, Miltner Noémi², Zara Bernadett², Hollósi Erika², Ádám Dorottya², Tubak Vilmos³, Raphael Mechoulam⁴, Ethan Russo⁴, Bíró Tamás¹

¹Debreceni Egyetem ÁOK, Immunológiai Intézet;

²Debreceni Egyetem, ÁOK Élettani Intézet;

³Creative Labor Kft., Szeged, ;

⁴Phytecs Ltd, Los Angeles, CA, USA

Bevezetés

Munkacsoportunk korábban kimutatta, hogy a nem-pszichotróp növényi kannabinoid kannabidiol (CBD) anti-inflammatorikus hatással rendelkezik humán keratinocitákban létrehozott *in vitro* gyulladásos modellekben. Jelen kísérleteink során azt vizsgáltuk, hogy a fluorinált CBD származékok (F-CBD) milyen gyulladásgátló potenciállal bírnak.

Anyag és módszer

HaCaT és HPV-KER humán immortalizált keratinocitákon MTT assay-vel elemeztük a CBD és szemi-szintetikus F-CBD származékok (0,1-10 μ M) életképességre gyakorolt hatását. RT-qPCR és ELISA segítségével vizsgáltuk a CBD és F-CBD származékokkal való kezelés (0,01; 0,1; 1 μ M) hatását a pro-inflammatorikus citokinek expressziójára és felszabadulására különböző *in vitro* gyulladásos keratinocita modellekben.

Eredmények

A CBD és F-CBD származékok hosszútávú kezelés során nem csökkentették a HaCaT sejtek életképességét, míg a HPV-KER életképessége magas (3 és 10 μ M) koncentrációban és 72 h elteltével csökkent.

A korábban optimalizált *in vitro* gyulladásos modellekben a CBD csökkentette az interleukin (IL)-1 α , IL-1 β , IL-6 és IL-8 pro-inflammatorikus citokinek expresszióját, illetve az IL-6 és IL-8 felszabadulását, azonban az F-CBD származékok hatékonyabb gyulladásgátlóknak bizonyultak.

Következtetés:

Az F-CBD származékok potensebb anti-inflammatorikus hatással rendelkeznek *in vitro* humán keratinocita gyulladásos modellekben, feltételezhető tehát, hogy a fluorinált fitokannabinoid tartalmú, nem-pszichotróp ágensek hatékonyabbak lehetnek a bőr gyulladásos betegségeinek enyhítésében.

Támogatók:

NKFIH 120552; Phytects Ltd., GINOP-2.3.2-15-2016-00015.

P1.2.7

ÚJSZERŰ SZEMI-SZINTETIKUS FITOKANNABINOIDOK GYULLADÁSCSÖKKENTŐ HATÁSÁNAK VIZSGÁLATA RAW 264.7 SEJTEKBEN

Miltner Noémi¹, Mihály Johanna², Zara Bernadett¹, Hollósi Erika¹, Ádám Dorottya¹
Jambrovics Károly³, Raphael Mechoulam⁴, Ethan Russo⁴, Bíró Tamás²

¹Debreceni Egyetem, ÁOK Élettani Intézet;

²Debreceni Egyetem, ÁOK Immunológiai Intézet;

³Debreceni Egyetem, ÁOK Biokémiai és Molekuláris Biológiai Intézet;

⁴Phytects Ltd, Los Angeles, CA, USA

Bevezetés

A kannabidiol (CBD) a vadkenderben (*Cannabis sativa*) legnagyobb mennyiségben megtalálható nem-pszichotróp hatású fitokannabinoid, melyről munkacsoportunk korábban bizonyította, hogy gyulladáscsökkentő hatással rendelkezik humán dermatitis modellekben. Kísérleteink során arra kerestük a választ, hogy a CBD és fluorinált származékai (F-CBD) milyen anti-inflammatorikus hatással rendelkeznek egér makrofág sejtekben.

Anyag és módszer

Kolorimetriás MTT assay segítségével vizsgáltuk a CBD és a szemi-szintetikus származékok (F-CBD-1, F-CBD-3, F-CBD-5) hatását (0,1-10 μ M) a RAW 264.7 immortalizált egér makrofágok életképességére. RT-qPCR technikát alkalmazva követtük nyomon a fitokannabinoid kezelések (0,1-10 μ M) hatását a pro-inflammatorikus citokinek expressziójára, lipopoliszachariddal (LPS) aktivált *in vitro* gyulladós modellben.

Eredmények

A CBD-vel és szemi-szintetikus származékaival (F-CBD) történő hosszú távú (72 h) kezelés nem csökkentette a sejtek életképességét.

Az LPS-aktivált *in vitro* gyulladós modellben a CBD csökkentette az interleukin (IL)-1 α és IL-1 β , valamint növelte az IL-6 pro-inflammatorikus citokinek mRNS szintű expresszióját. Ezzel szemben a fluorinált szemi-szintetikus fitokannabinoidok (F-CBD-1, F-CBD-3, F-CBD-5) hatékonyabb gyulladásgátló hatással rendelkeztek, mint a CBD.

Következtetés

Munkacsoportunknak sikerült először kimutatni *in vitro* egér gyulladós modellben, hogy az új, szemi-szintetikus fitokannabinoidok a CBD-het képest is nagyobb mértékű gyulladáscsökkentő hatással rendelkeznek, így feltételezhető, hogy ezen nem-pszichotróp,

fluorinált származékok hatékonyabbak lehetnek a különböző gyulladási betegségek kezelésében, mint a CBD.

Támogatók

NKFIH 120552; Phytects Ltd., GINOP-2.3.2-15-2016-00015.

P1.2.8

SZELEKTÍV SZEROTONINVISSZAVÉTEL-GÁTLÓ FARMAKONOK HATÁSAINAK VIZSGÁLATA KERATINOCITÁKON

Tóth Kinga Fanni¹, Szabó-Papp Judit¹, Péntes Zsófia¹, Ana Kilic², Michael Soeberdt², Christoph Abels², Bíró Tamás^{1,3} és Oláh Attila¹

Debreceni Egyetem, ÁOK, ¹Élettani és ³Immunológiai Intézetek;

²Dr. August Wolff GmbH & Co. KG Arzneimittel, Bielefeld, Németország

Bevezetés: Az epidermális keratinociták kiemelkedő jelentőségűek a bőr gyulladási folyamatainak elindításában, ezért az új típusú, keratinocitákon (is) ható, azok proliferációs/differenciációs egyensúlyát lehetőleg nem befolyásoló gyulladásgátló szerek azonosítása napjaink kísérletes bőrgyógyászati vizsgálatainak fontos törekvése. A szelektív szerotoninvisszavétel-gátló (SSRI) farmakonok közé tartozó, antidepresszánsként régóta alkalmazott fluoxetinről (FL) a közelmúltban kimutatták, hogy gyulladásgátló hatást váltott ki egerekben dinitrofluoro-benzén-indukálta kontakt hiperszenzitivitási reakcióban, ezért jelen kísérleteink során a célunk az volt, hogy megvizsgáljuk egyes SSRI-k ([FL, citalopram [CP], paroxetin [PX]) és a szerotonin (ST) lehetséges gyulladásgátló hatását humán keratinocitákon.

Anyag és módszer: A humán, immortalizált (HaCaT), valamint primer epidermális keratinociták (NHEK) életképességét és proliferációját MTT- és CyQUANT-assay-vel, míg a sejthalált DilC₁(5)-SYTOX Green jelöléssel vizsgáltuk. A gyulladási folyamatokat a Toll-like receptor 3 aktivátor poly-(I:C)-vel (20 µg/ml; 3h) indukáltuk. A génexpressziós változásokat Q-PCR és ELISA technikákkal követtük nyomon, míg a Ca²⁺-jelek mérésére Fluo-4 AM-alapú fluoreszcens Ca²⁺-mérést (FlexStation 3) használtunk. A p38 MAPK és az NF-κB-út vonal aktiválódását Western blot segítségével vizsgáltuk.

Eredmények: Megállapítottuk, hogy a FL és a PX csökkentette az élősejt-számot (>10 µM; 48-72h), míg a CP és a ST nem befolyásolta a viabilitást. Kimutattuk azt is, hogy a FL és a PX hatékonyan csökkentette a poly-(I:C)-vel kiváltott gyulladáscitokin-termelést, míg a CP és a ST hatástalannak bizonyult, ami arra utal, hogy a hatások a „klasszikus” szerotoninerg jelátviteltől független mechanizmus révén alakulhattak ki. A FL-t és a ST-t tovább vizsgálva megállapítottuk, hogy előbbi ≥14 µM-ban anti-proliferatív hatást mutatott, míg utóbbi nem befolyásolta a sejtszámot (24-72h). A differenciációra gyakorolt hatásokat vizsgálva azt is kimutattuk, hogy a FL csökkentette több differenciációs marker konfluencia és megnövelt extracelluláris Ca²⁺ koncentráció indukálta expresszióját (Q-PCR), azonban fehérje szinten a hatások erős donorfüggést mutattak (Western blot). Végül a látott hatások mechanizmusát kutatva megállapítottuk, hogy a FL alkalmazása Ca²⁺-jelet okozott, míg a ST-nak nem volt

ilyen hatása (HaCaT), ugyanakkor mind a FL, mind a ST gátolta a poly-(I:C) indukálta p38 MAPK aktivációt, de nem befolyásolták az NF- κ B útvonalat gátló I- κ B α foszforilációját.

Következtetés: A FL gyulladásgátló hatásai alapján indokolt lehet a szer topikális formulációinak klinikai vizsgálata különféle gyulladásos bőrbetegségek kezelésében. A hatások minden valószínűség szerint a „klasszikus” szerotoninerg jelátviteltől, illetve a p38 MAPK-tól és az NF- κ B útvonaltól függetlenül, vélhetőleg a hámsejtek Ca²⁺-homeosztázisának befolyásolása révén alakultak ki.

Támogatók: NKFIH 120552 és 121360; GINOP-2.3.2-15-2016-00015 “I-KOM Teaming”; Dr. August Wolff GmbH & Co. KG Arzneimittel.

P1.3.1

TRIGEMINÁLIS NEURONOK ÉS PERIFÉRIÁS LEUKOCITÁK GÉNEXPRESSZIÓ-VÁLTOZÁSAI PATKÁNY OROFACIÁLIS FÁJDALOMMODELLBEN

Aczél Tímea^{1,2}, Kun József^{1,2}, Bölcseki Kata^{1,2}, Szőke Éva^{1,2,3}, Rauch Tibor⁴, Helyes Zsuzsanna^{1,2,3}

¹Pécsi Tudományegyetem ÁOK; Farmakológiai Farmakoterápiai Intézet;

²PTE Szentágotthai János Kutatóközpont; Molekuláris Farmakológia Kutatócsoport;

³MTA-PTE NAP B Krónikus Fájdalom Kutatócsoport;

⁴Section of Molecular Medicine, Rush University Medical Center, Chicago, IL, USA

Bevezetés: A primér fejfájások kialakulásának hátterében a ganglion trigeminale-ben (TRG) található primer és a trigeminus nucleus caudalis-ban (TNC) lévő szekunder érzőneuronok érzékenyítése állhat. A pontos kórélettani mechanizmusok, kulcsmediátorok és célmolekulák nem ismertek, a terápia számos esetben nem kielégítő. Kísérleteinkben TRG, TNC és leukociták válogatott génjeinek expresszióját vizsgáltuk patkányok Komplet Freund Adjuváns (CFA)-indukált orofaciális gyulladásos allodíniájában.

Módszerek: Hím Wistar patkányok egyik bajuszpárnájába 50 μ l CFA-t injektáltunk s.c., az orofaciális régió fájdalomküszöböt von Frey szálakkal mértük. A 7 nap múlva kivett TRG-ből RNS microarray analízist végeztünk. Ennek eredményei alapján kiválasztottuk a kvantitatív RT-PCR-ral a TRG-ből, TNC-ből és perifériás leukocitákból 1., 3. és 7. napon meghatározandó géneket: Gpr39 G-protein kapcsolt receptor, kisspeptin-1 receptor (Kiss1r), Lkaear1, Otoraplin, Neurod2. Ezek expresszióit a krónikus neuronális aktivációs marker FosB, a mikroglia jelző Iba1 és az asztrocitákra jellemző gliális fibrilláris savanyú protein (GFAP) expresszióhoz hasonlítottuk.

Eredmények: A microarray eredményeit lényegében reprodukálni tudtuk RT-PCR-ral: a CFA kezelés utáni 7. napon a TRG-beli Gpr39 és Otoraplin expresszió szignifikánsan magasabb, míg Kiss1r expresszió alacsonyabb volt az ellenoldalénál. A CFA az 1. napon szignifikáns orofaciális mechanikai allodíniát okozott, amely a 3. napon érte el maximumát. Ezzel párhuzamosan fokozódott a FosB, Iba1 és GFAP expresszió a TRG-ben és TNC-ben egyaránt, sőt meglepő módon a leukocitákban is. A TRG Kiss1r mRNS szintje szignifikánsan emelkedett az 1. és 3. napon. A TRG- és TNC Gpr39, Otoraplin és Lkaear1 expresszió-

fokozódása, valamint a TNC Neurod2 mRNS emelkedése ugyancsak a 3. napon érte el a maximumát. Leukocitákban Kiss1r és Lkaear1 azonos irányú szignifikáns változást mutatott.

Következtetés: A Gpr39, Kiss1r, Lkaear1, Otoraplin, Neurod2 gének szerepet játszhatnak migrén hátterében levő szenzitizációs folyamatokban, melyek az allodína jelenségével társulnak.

Támogatók: Nemzeti Agykutató Program A és B (KTIA_NAP_13-1-2013-0001, KTIA_NAP_13-2014-0022); core facility EFOP (EFOP-3.6.1.-16-2016-0004) és StayAlive GINOP (GINOP-2.3.2-15-2016-00048)

P1.3.2

A RAKTÁR ÁLTAL VEZÉRELT KALCIUM BELÉPÉS (SOCE) FONTOS SZEREPET JÁTSZIK A VÁZIZMOK BELSŐ KALCIUMRAKTÁRAIBAN A KALCIUMSZINT FENNTARTÁSÁBAN ÉS A KALCIUMFELSZABADULÁSBAN

Al-Gaadi Dána¹, Sztretye Mónika¹, Geyer Nikolett¹, Vincze János¹, Oláh Tamás¹, Szentesi Péter¹, Kis Gréta², Balatoni Ildikó¹, Csernoch László¹, Dienes Beatrix¹

¹Debreceni Egyetem, ÁOK, Élettani Intézet, Debrecen;

²Debreceni Egyetem, ÁOK, Anatómiai, Szövet- és Fejlődéstani Intézet, Debrecen

A raktár által vezérelt Ca²⁺ belépés (SOCE) sok sejttípusban fontos szerepet játszó Ca²⁺-belépési mechanizmus, amelyet az intracelluláris raktárak kiürülése aktivál. Vázizomban, a szerepe vitatott fiziológiás izomaktiválódás során. A kérdés megválaszolására a szarkoplazmatikus retikulumból (SR) történő kalciumfelszabadulást tanulmányoztuk egy a myostatin génben természetesen előforduló mutációval rendelkező egértípusban (*Compact*, *Cmpt*), amely túlzott izomtömeg növekedést és csökkent izomerőt mutat a vad típusú (WT) társaihoz képest. Az SR-ből történő Ca²⁺-felszabadulás mérésére *flexor digitorum brevis* (FDB) izomból enzimatikusan izolált vázizomrostokon egy Ryanodin receptor agonistát (4-chloro-meta-cresol, 4-CmC) vagy depolarizáló impulzusokat alkalmaztunk. A *Cmpt* egerekből származó izmokon a STIM1 és Orai1, a SOCE két kulcsrésztvevője, fehérjeszintű csökkenést mutatott és következtetésként a SOCE is csökkent a 4-CmC által indukált raktár kiürítést követően. Az SR Ca²⁺-felszabadulás feszültség függése nem különbözött szignifikánsan a WT és *Cmpt* rostok között. A felszabadítható kalcium mennyiség szignifikánsan alacsonyabb volt az utóbbiban, ami arra utal, hogy az SR kalcium tartalom kisebb ezekben a rostokban. A SOCE azonnali, az SR kalcium raktárak újrafeltöltésében való szerepének a tisztázására az intracelluláris kalciumszint változását vizsgáltuk hosszantartó maximálisan aktiváló depolarizációk során. *Cmpt* egerekben a felszabadítható kalcium mennyiség gyorsabban csökkent, ami azt sugallja, hogy az SR újratöltődése bennük kevésbé hatékony. Egy egyszerű modell szerint a SOCE egy fontos szereplő az azonnali kalciumszabályozásban a felszíni membránon keresztül, és működésének csökkenését az SR-ből történő csökkent kalciumfelszabadulás követi.

Az eredményeink segíthetnek megoldani azt a kérdést, hogy a SOCE-nak van-e szerepe a fiziológiás vázizom aktiválódásban. Kísérleteink alapján elmondható, hogy hosszú távú

aktiváció során a SOCE bizonyosan szerepet játszik vázizomban és szabályozza az SR Ca^{2+} -tartalmat.

Kutatási támogatás: OTKA PD-108476, Bólyai János kutatási Ösztöndíj (Sztretye Mónika), NKFIH NK-115461, GINOP-2.3.2-15-2016-00040.

P1.3.3

HŐÉRZÉKENY TRANZIENS RECEPTOR POTENCIÁL VANILLOID (TRPV) CSATORNÁK KIFEJEZŐDÉSE HUMÁN PODOCITÁKON

Ambrus Lídia¹, Kelemen Balázs¹, Szöllösi Attila Gábor¹, Oláh Attila¹, Vladár Anita¹, Szabó Tamás², Bíró Tamás^{1,3}, Tóth István Balázs¹

¹Élettani Intézet, Debreceni Egyetem ÁOK, Debrecen;

²Gyermekgyógyászati Intézet, Debreceni Egyetem Klinikai Központ, Debrecen;

³Immunológiai Intézet, Debreceni Egyetem ÁOK, Debrecen

Bevezetés

A hőérzékeny tranziens receptor potenciál vanilloid (TRPV) ioncsatornák számos epiteliális szövetben fontos szerepet játszanak egyebek mellett a barrier funkciók szabályozásában is. A TRPV csatornák expressziója jól ismert a disztális nefronban, de a glomeruláris filtrációs barrier kialakításában alapvető fontosságú podocitákon eddig még nem vizsgálták kifejeződésüket.

Anyag és módszer

Jelen vizsgálataink során immortalizált humán podocita sejttenyészeteken fehérje és mRNS szinten vizsgáltuk a hőérzékeny, Ca^{2+} -permeábilis TRPV1-4 expresszióját. A csatornák funkcionalitását intracelluláris Ca^{2+} -koncentráció mérések során tanulmányoztuk különböző agonisták és antagonisták felhasználásával.

Eredmények

Habár valamennyi vizsgált csatorna fehérje szintű expresszióját sikerült kimutatnunk, a TRPV1 és TRPV4 transzkriptek expresszióját jelentősen magasabbnak találtuk, mint a TRPV2 és TRPV3 mRNS-ekét. Meglepő módon a TRPV1 specifikus agonista kapszaicin nem befolyásolta a podociták intracelluláris Ca^{2+} -koncentrációját. A kannabidiol, a TRPV2 és a TRPV4 agonistája, mérsékelten emelte a citoplazma Ca^{2+} -koncentrációját. A kannabidiol hatása TRPV2 és TRPV4 gátlószerekkel egyaránt kivédhető volt, ami arra utalt, hogy mindkét csatorna funkcionális formában is kifejeződik a human podocitákon. Ezzel összhangban a TRPV4 specifikus aktivátor GSK1016790A robosztus Ca^{2+} jeleket váltott ki, amit a TRPV4 specifikus gátlószer HC067047 erőteljesen gátolt. A TRPV3 nem-specifikus aktivátorai is jelentős Ca^{2+} koncentráció emelkedést indukáltak, ami azonban csak részlegesen, kis mértékben volt gátolható TRPV3 antagonistákkal, ami a TRPV3 aktivátorok jelentős aspecifitására utal.

Következtetés

Eredményeink szerint a human podociták funkcionális formában expresszálják a TRPV4-et és más termoszenzitív TRPV csatornákat, ami felveti lehetséges szerepüket a glomeruláris filtrációs barrier szabályozásában.

Támogatók

A kutatás a GINOP-2.3.2-15-2016-00050, az NKFIH 120187 és az Emberi Erőforrások Minisztériuma Új Nemzeti Kiválóság Programjának támogatásával készült. T.I.B. munkáját az MTA Bolyai János Kutatási Ösztöndíja támogatta.

P1.3.4

PURINERGIC RECEPTORS OF THE DEITERS' CELLS IN MATURE ORGAN OF CORTI

Eszter Berekméri¹, Ádám Fekete³, Tamás Horváth², E. Sylvester Vizi^{1,4}, Beáta Sperlág⁴, László Köles¹, Tibor Zelles^{1,4}

¹Department of Pharmacology and Pharmacotherapy, Semmelweis University, Budapest, Hungary;

²Department of Otorhinolaryngology, Head and Neck Surgery, Bajcsy-Zsilinszky Hospital, Budapest, Hungary;

³Program in Neurosciences and Mental Health, The Hospital for Sick Children, Toronto, ON, Canada;

⁴Institute of Experimental Medicine, Hungarian Academy of Sciences, Budapest, Hungary

Although supporting cells in the Organ of Corti are important in both physiology and pathophysiology of hearing, their precise function and regulation remained unclear. Our method of loading individual Deiters' cells (DCs) with Ca^{2+} dyes by electroporation in acute hemicochlea preparation provides the suitable signal to noise ratio for subcellular measurements of intracellular Ca^{2+} in hearing mice (>P15). The polar DCs are innervated and, additionally to their hair cell supporting functions, they are also supposed to play a role in cochlear amplification. Extracellular ATP and the ATP mediated intracellular Ca^{2+} increase are believed to regulate these processes and also contribute to the mechanisms that protect hearing against noise exposure.

In our experiments ATP was applied to the perfusion buffer and the fluorescent signals were detected by a cooled CCD camera based imaging system. Measuring the Ca^{2+} transients in different subregions of the polarized DCs, showed that the ATP response in the phalangeal process characteristically different from the one in the soma. Ca^{2+} transients were detected in three different mouse strains and was independent from the direction of the perfusion flow, the ATP concentration and the Ca^{2+} affinity of the loaded dye. Non-specific ATP-receptor antagonists PPADS, suramin and TNP-ATP were tested. Different purinergic receptor agonists were applied, and all could induced intracellular Ca^{2+} level elevation in all compartments of the Deiters' cells. Our results suggest the synchronized action of the ionotropic P2X and the metabotropic P2Y receptors in DCs contributing, presumably to the multiple function of this supporting cell type of the organ of Corti.

P1.3.5

ELEMI KALCIUMFELSZABADULÁSI ESEMÉNYEK A CAV1.1 EMBRIONÁLIS KORI IZOFORMÁJÁT KIFEJEZŐ, INTAKT VÁZIZOM SEJTEKBEN

Czirják Tamás, Csernoch László, Szentesi Péter, Szabó László, Bernhard Flucher, Dienes Beatrix

Debreceni Egyetem, ÁOK, Élettani Intézet

A kalcium az izom-összehúzódban, növekedésben és regenerációban nagyon fontos szabályozó szerepet játszik. Az elektro-mechanikai (EM) kapcsolatnak nevezett folyamat során az akciós potenciál következtében megnövekedett intracelluláris kalciumkoncentráció okozza az izomösszehúzódbat. A harántcsíkolt izmok embrionális kalciumcsatornája ($Ca_v1.1e$) feszültség-érzékelő szerepet játszik az EM kapcsolatban, de a felnőtt kalciumcsatorna-izofomával ellentétben gyorsan aktiválódik, és mérhető nagyságú kalciumáram is folyik át rajta. Miotóniás disztrófiában (MD) szenvedő betegek izmaiban kimutatható az embrionális $Ca_v1.1e$ kalciumcsatorna, mely expressziójának mértéke korrelációt mutat az izomgyengeség fokával.

Olyan genetikusan módosított egértörzs egyediből izolált izomrostokon, amelyben felnőtt korban is csak a $Ca_v1.1e$ izoforma expresszálódik, spontán kalcium-felszabadulási eseményeket tudunk detektálni. Intakt emlős izmon ilyen eseményeket eddig nem rögzítettek. Méréseinket Fluo-8 fluoreszcens kalciumérzékeny festék használata mellett, Axon Multiclamp 700b elektrofiziológiai mérőrendszerrel felszerelt, Zeiss Live ultragyors konfokális mikroszkópon végeztük.

Megállapítottuk, hogy az események kitüntetett helyeken jelennek meg a rost mentén, egy adott helyen megjelenő események számának eloszlása ugyanis különbözött a véletlenszerű kialakulást leíró Poisson-eloszlástól. Rövid (spark-szerű, hossz= $46,0 \pm 1,5$ ms, $n=125$) és hosszú (ember-szerű, hossz= 473 ± 14 ms, $n=218$) eseményeket egyaránt rögzítettünk ugyanazon a sejten. Ezek mellett komplex kinetikájú eseményeket is megfigyeltünk. Az extracelluláris kalcium szerepét a kalcium külső téréből történő eltávolításával, illetve $5 \mu M$ nizoldipine alkalmazásával vizsgáltuk. Elemeztük továbbá a szarkoplazmatikus retikulum (SR) kalcium csatornáját (rianodin receptor; RyR) gátló rianodin ($100 \mu M$) hatását is az események gyakoriságára. A fenti körülmények között az események eltűntek.

Eredményeink azt mutatják, hogy a $Ca_v1.1e$ csatornán keresztül történő folyamatos kalcium-beáramlás spontán kalciumfelszabadulási eseményeket eredményez, melyek kialakulásához

az SR-ből a RyR-on keresztül kilépő kalcium is hozzájárul. A jelenség mitokondrium-károsodást okozhat és izomtömeg-vesztéshez is vezethet a MD-s betegekben.

Kutatási támogatás: NKFIH NK-115461, GINOP-2.3.2-15-2016-0044

P1.3.6

A SEPTIN7 SZEREPE A VÁZIZOM FEJLŐDÉSÉBEN

Cseri Karolina, Szentesi Péter, Dienes Beatrix, Fodor János, Csernoch László

Debreceni Egyetem, ÁOK, Élettani Intézet

A szeptinek 30-65 kDa molekulatömegű, az eukariótákban általánosan előforduló, erősen konzervált, GTP-t (guanozin-trifoszfát) kötő fehérjék, melyeknek 13 altípusa ismert eddig. Hetero-oligomerekké rendeződve filamentumokat, kötegeket, gyűrűket alakítanak ki. Újabb kutatások szerint citoszkeletális elemek, melyek kapcsolatban állnak a sejtmembránokkal, az aktin szálakkal és a mikrotubulusokkal. A szeptinek, amellett, hogy diffúziós gátként szolgálnak a sejten belüli biokémiai folyamatok számára, bonyolultabb komplexeik révén képesek összegyűjteni más fehérjéket, elősegítve azok funkcionális kapcsolódását. Vázizmokban betöltött szerepük azonban eddig még tisztázatlan.

Kísérleteink során kapcsolatot kerestünk a vázizmok kalciumhomeosztázisában szerepet játszó egyes fehérjék, az 1-es típusú rianodin receptor (RYR1; a szarkoplazmatikus retikulum (SR) kalcium csatornája) valamint az SR, mint kalcium raktár tartalma által vezérelt kalcium csatorna (Orai1) és a Septin-7 fehérje között.

A Septin-7 és a többi fehérje kolokalizációját 5 hónapos, C57/BL6 egérből preparált gyors típusú, FDB (*flexor digitorum brevis*) izomrostokon, és az egér eredetű C2C12 vázizom sejtenyészeten immunfluoreszcens festéssel vizsgáltuk konfokális és szuperrezolúciós mikroszkópiával.

Méréseink alapján felnőtt vázizomrostokon a Septin-7 az I-csík területén helyezkedik el és kolokalizációt mutat RYR1 receptorral. A C2C12 sejtenyészeten a Septin-7 mintázata a differenciálódás előrehaladtával változik. A proliferáció kezdetén a Septin-7 egymással párhuzamos filamentumokként és egyes sejtekben a mag körül apró karikákként illetve granulumokként tűnik fel. A differenciálódás során ez a struktúra felbomlik, és diffúz, a citoplazmában szemcsézett mintázatba megy át. Az Orai1 a proliferáció elején asszimmetrikusan, sapkaszerűen rendeződik a mag köré, majd a differenciálódás előrehaladtával a magot gyűrűszerűen veszi körül. Néha a magtól távolabb is megjelenik a citoplazmában, nagyobb granulumokat alkotva. A RYR1 receptor a proliferáció kezdetén gyenge diffúz, homogén mintázatot mutat a citoplazmában, majd a mikrotubulusok citoplazmájában nagyobb szemcsékként látható.

A Septin-7 és RYR1 kifejlett vázizomrostokon talált kolokalizációjából arra következtetünk, hogy a Septin-7-nek szerepe lehet a kalciumhomeosztázis szabályozásában. A C2C12

sejteken talált mintázatok alapján valószínű, hogy a Septin-7 dinamikus átrendeződése a sejtciklusra érzékeny folyamat. A Septin-7-nek a kalciumhomeosztázis szabályozásában betöltött szerepe további funkcionális kísérleteket igényel.

Kutatási támogatás: NKFIH NK-115461, GINOP-2.3.2-15-2016-00044.

P1.3.7

EGY ÚJ, FLUORESCENCIÁN ALAPULÓ ELJÁRÁS KIFEJLESZTÉSE AZ OSZTEOKLASZTOK FÚZIÓJÁNAK VIZSGÁLATÁHOZ

Erdélyi András¹, Csete Dániel¹, Simon Edina¹, Pánczél Áron¹, Jakus Zoltán² és Mócsai Attila¹

¹Semmelweis Egyetem, Élettani Intézet, MTA-SE „Lendület” Gyulladásélettani Kutatócsoport;

²Semmelweis Egyetem, Élettani Intézet, MTA-SE „Lendület” Nyirokélettani Kutatócsoport

Bevezetés: Az oszteoklasztok a csontszövet bontására specializált, mieloid eredetű sejtek. Érésük egy biokémiai és egy fúziós fázison keresztül történik. A biokémiai érés során specifikus faktorok fejtik ki hatásukat, majd a fúzió során egymagvú sejtek olvadnak össze többmagvú sejtekké. Oszteoklasztok *in vitro* M-CSF és RANKL jelenlétében fejlődnek. A sejtek jellemzése *in vitro* az oszteoklaszt specifikus TRAP enzim megfestésével történik. Az eljárás a széles körű alkalmazása ellenére limitált. A mi célunk egy új, fluoreszcencián alapuló rendszer kialakítása és fejlesztése volt, amivel tanulmányozni tudjuk az oszteoklasztokat *in vitro*.

Anyag és módszer: Az eljáráshoz egy vörösen fluoreszkáló tdTomato-t kifejező (mTmG) és egy zölden fluoreszkáló EGFP-t kifejező (mG) egeret használtunk. Csontvelőből nyert mTmG és mG sejteket külön, vagy összekeverve (mTmG+mG) differenciáltattuk oszteoklaszt irányba. Az oszteoklaszt kultúrákat továbbá kitettük egy ismert oszteoklaszt fejlődést gátló szer, a dasatinib hatásának is.

Eredmények: Amennyiben a csontvelőből nyert mTmG és mG sejteket külön tenyésztettük piros, illetve zöld sejteket kaptunk. Ezzel szemben az mTmG+mG kultúrák esetén „sárga” sejteket is tapasztaltunk, melyek pirosan és zölden is fluoreszkáltak. Ez a különböző genotípusú sejtek fúzióját jelezte. Az mTmG+mG kultúrákban kialakuló oszteoklasztok normális fejlődést mutattak, érzékenyek voltak a dasatinibes kezelésre, illetve TRAP festeni is lehetett őket. Ezen felül az mTmG+mG kultúrák analízise lényegesen könnyebb volt, mint a TRAP festett sejteké.

Következtetés: Az általunk kidolgozott kettős fluoreszcencián alapuló rendszer alkalmas az *in vitro* sejtek közötti fúzió mikroszkóppal történő nyomon követésére, megkerülve a TRAP festés limitáló tényezőit.

P1.3.8

A MEF2D RENDEZETLEN FEHÉRJESZAKASZÁNAK SZABÁLYOZÓ SZEREPE AZ IZOM DIFFERENCIÁLÓDÁSBAN

Gönczi Mónika¹, Ráduly Zsolt¹, Gregus Andrea¹, Oláh Tamás², Csernoch László², Fuxreiter Mónika¹

¹MTA-TKI Fehérjedinamikai Kutatócsoport, Debreceni Egyetem, ÁOK, Biokémiai és Molekuláris Biológiai Intézet;

²Debreceni Egyetem, ÁOK, Élettani Intézet

A MEF2D (Myocyte enhancer factor 2D) transzkripció faktor számos olyan gén expressziójának szabályozásában játszik szerepet, melyek a kalcium- és stresszmediált szignalizáció részei. A rövid, savas karakterű β domén kifejeződése növeli a fehérje transzkripció aktivitását és fokozott az izom differenciálódása során. Bioinformatikai elemzések arra utalnak, hogy a β domén egy hosszabb rendezetlen régió része, s a predikciók alapján ez a rövid rész fehérjekomplex formában is megőrzi strukturális heterogenitását (bolyhos fehérjerégió).

Kísérleteinkben arra voltunk kíváncsiak, hogy a β domén dinamikai paramétereinek finom módosítása befolyásolja-e az izom differenciálódást. Csökkent vagy növekedett dinamikájú MEF2D- β variánsokat hoztunk létre anélkül, hogy jelentős változást indukáltunk volna a molekula másodlagos szerkezetében. Ezen variánsokat HEK293T és egér eredetű C2C12 sejtekben fejeztük ki és hatásukat a vad típusú fehérje, illetve a vad típusal megegyező dinamikájú variánsokkal vetettük össze.

A csökkent dinamikájú β domének jelenlétében fokozott transzkripció aktivitást tapasztaltunk mindkét alkalmazott sejt vonal esetében, a C2C12 sejteknél a transzaktiválás jelentős differenciáció-függést mutatott. A variánsokkal történő transzfekciót követően miogén regulatórikus faktorok és MEF2D kölcsönható fehérjék kifejeződésének vizsgálata során megfigyeltük, hogy a MyoD és dezmin expresszió a differenciálódás első három napjában szignifikáns emelkedést mutatott a csökkent dinamikájú variánsok esetében. Meghatároztuk a differenciálódást jól reprezentáló fúziós indexet is, s megállapítottuk, hogy a β domén dinamikai stabilizálása esetén a C2C12 sejtek differenciálódásának progressziója korábban indul el, mely különbség elsősorban a 2-3. differenciálódási napokon volt kifejezett. A differenciálódás előrehaladtával mindegyik variáncsoportnál csökkent a purinerg szignalizáción keresztül megvalósuló intracelluláris Ca^{2+} szint emelkedés, míg az elektromechanikai kapcsolat egyre érettebb voltát mutató KCl-indukálta kalcium tranziensek egyre kifejezettebbek voltak. A MEF2D partnerfehérjék differenciálódás folyamán

megfigyelhető expressziós változása jelentős eltéréseket mutatott a különböző dinamikájú variánsok esetében.

Eddigi eredményeinket összegezve feltételezzük, hogy az izom differenciálódásban jelentős szereppel bíró MEF2D transzkripciós faktor szabályozó szerepét a rövid β domén dinamikai sajátosságai nagymértékben befolyásolják.

A munkát a Magyar Tudományos Akadémia LP2012-41 Lendület programja finanszírozta. Gönczi Mónika munkáját az MTA Bólyai János Kutatói Ösztöndíja támogatta.

P1.3.9

ILLÉKONY ANESZTETIKUMOK GÁTOLJÁK A TRPM3 IONCSATORNA MŰKÖDÉSÉT

Kelemen Balázs¹, Kulin Flóra¹, Radnóti Enikő¹, Vladár Anita¹, Posta János², Thomas Voest³, Bíró Tamás^{1,4}, Tóth István Balázs¹

¹Debreceni Egyetem ÁOK Élettani Intézet;

²Debreceni Egyetem KK, Igazságügyi Orvostan, Igazságügyi Toxikológia Labor ;

³Laboratory of Ion Channel Research, Department of Cellular and Molecular Medicine and TRP Research Platform Leuven (TRPLe), KU Leuven, Leuven, Belgium;

⁴Debreceni Egyetem ÁOK, Immunológiai Intézet

Bevezetés

Az illékony anesztetikumok (IA-k) a legelterjedtebben használt szerek az általános anesztézia gyakorlatában. Reverzibilis tudatvesztéssel járó hatásukat részben a központi idegrendszer egyes ioncsatornáin keresztül fejtik ki, de más csatornák működését is befolyásolják. Az utóbbi években az IA-k egyes nociceptív és termoszenzitív transziens receptor potenciál (TRP) ioncsatornákra (TRPV1, TRPA1, TRPM8) kifejtett hatását is kimutatták, ami szerepet játszhat az IA-k egyes mellékhatásainak (pl. légúti irritáció) kialakulásában is. Jelen vizsgálataink során az IA-k hatását vizsgáltuk a nocicepcióban szintén szerepet játszó hőérzékeny TRPM3-ra.

Anyag és módszer

Különböző kémiai szerkezetű IA-k (kloroform, halothane, isoflurane) hatását vizsgáltuk HEK293T sejteken a rekombináns valamint egér hátsógyöki ganglionokból izolált érző neuronokon a natív TRPM3 működésére *in vitro*. A csatorna aktivitását vagy fluoreszcens indikátorfestékeket (Fura-2 és Fluo-4) alkalmazva az intracelluláris Ca^{2+} koncentráció mérésével követtük nyomon vagy patch clamp technika segítségével közvetlenül mértük a csatornán átfolyó transzmembrán áramokat.

Eredmények

A vizsgált IA-k dózisfüggő módon gátolták az endogén TRPM3 aktivátor pregnenolon szulfát (PS) és az exogén ultrapotens agonista CIM0216 által kiváltott Ca^{2+} jeleket és transzmembrán áramokat a rekombináns csatornát kifejező HEK293T sejteken. A vizsgált anesztetikumok közül a halotán bizonyult (IC₅₀: 0,52 mM, 10 μ M PS jelenlétében) a rekombináns TRPM3 legpontensebb gátlószerének. A kloroform és az isoflurán, önmagában

alkalmazva nem aktiválta a rekombináns TRPM3-at kifejező sejteket, míg a halotán 5 mM-ban alkalmazva önmagában is Ca^{2+} jeleket váltott ki HEK293T sejteken, mely hatás TRPM3 függetlennek bizonyult. A korábbi irodalmi adatokkal összhangban a vizsgált IA-k a TRPM3-tól függetlenül Ca^{2+} tranzienseket váltottak ki a szenzoros neuronok egy részén, ugyanakkor 1 mM-ban alkalmazva valamennyi IA jelentősen csökkentette a natív TRPM3 aktivációját is.

Megbeszélés

Eredményeink tovább bővítik ismereteinket az IA-k hatásmechanizmusáról és új típusú, potenciális fájdalomcsillapító TRPM3 gátlószerek fejlesztéséhez is hozzájárulhatnak.

Támogatók

A kutatás a GINOP-2.3.2-15-2016-00050, az NKFIH 120187 és az Emberi Erőforrások Minisztériuma Új Nemzeti Kiválóság Programjának támogatásával készült. T.I.B. munkáját az MTA Bolyai János Kutatási Ösztöndíja támogatta.

P1.4.1

AZ ÖREGEDÉS ÉS A NEMI DIMORFIZMUS HATÁSÁNAK VIZSGÁLATA OXIDATÍV STRESSZ MARKEREKRE, VALAMINT AZ UCHL-1 ENZIMRE PATKÁNY COLONBAN

Almási Nikoletta¹, Amin Al-awar¹, Szabó Renáta¹, Török Szilvia¹, Pósa Anikó¹, Varga Csaba¹, Kupai Krisztina¹

¹Szegedi Tudományegyetem, Természettudományi és Informatikai Kar, Élettani, Szervezettani és Idegtudományi Tanszék

A reaktív oxigén gyökök (ROS) által kiváltott oxidatív stressz okozta makromolekula degradáció az öregedési folyamat egyik fontos ismérve. Az ubiquitin proteasómális rendszer az egyik fő degradálója a sérült proteineknek, melynek megfelelő működéséhez fontos az Ubiquitin C terminális hidroláz-1 (UCHL-1) kettős aktivitással rendelkező enzim.

Célunk volt az öregedés, valamint a nemi dimorfizmus hatásának vizsgálata oxidatív stressz markerekre, valamint az ubiquitin proteasómális degradációs rendszerhez köthető UCHL-1 enzimre patkány colonban.

Kísérleteink során Wistar patkányokat alkalmaztunk, melyeket négy csoportra osztottunk: fiatal (10 hetes) hím és nőstény, valamint öreg (13 hónapos) hím és nőstény. Colon mintákból UCHL-1 expressziót határoztunk meg, valamint az oxidatív stresszhez/antioxidáns rendszerhez köthető molekulák aktivitását mértük: mieloperoxidáz (MPO), hemoxigenáz (HO) és konstitutív nitrogén-monoxid szintáz (cNOS), továbbá glutathione (GSH) szinteket mértünk.

Eredményeink szerint az UCHL-1 expressziója szignifikáns csökkenést mutat öreg hímekben a fiatal hím csoporthoz képest ($111,89 \pm 25,06$ vs $362,54 \pm 39,47$), valamint az öreg és a fiatal nőstények ($304,65 \pm 38,48$ vs $575,07 \pm 60,50$) között is ugyanezt tapasztaltuk. Továbbá szignifikánsan alacsonyabb UCHL-1 expresszió tapasztalható hímekben a nőstényekhez képest az öreg ($111,89 \pm 25,06$ vs $304,65 \pm 38,48$) és a fiatal ($362,54 \pm 39,47$ vs $575,07 \pm 60,50$) csoportokban egyaránt. A HO aktivitásában, valamint a GSH szintekben nem volt mérhető változás, a nitrogén-monoxid (NO) szintetizáló konstitutív cNOS enzim, valamint a

gyulladásos marker, MPO aktivitásában pedig tendenciózus növekedés volt megfigyelhető az öreg hímekekben és nőstényekben a fiatal csoportokhoz képest, nemek közötti különbség azonban nem volt tapasztalható.

Konklúzióként megállapítható, hogy az UCHL-1 enzim expressziója a kor előrehaladtával csökken, így feltehetőleg a proteaszómális degradációs rendszer inkompetenssé válik az oxidatív stresszel szemben az öregedési folyamatok során, továbbá nemi különbségek is megfigyelhetők az enzim kifejeződésében.

Munkánk a TÁMOP 4.2.4. A/2-11-1-2012-0001 Nemzeti Kiválósági Program (Kupai Krisztina), valamint az Emberi Erőforrások Minisztériuma ÚNKP-ÚNKP-16-4 (Pósa Anikó) és ÚNKP-ÚNKP-16-3 (Szabó Renáta) kódszámú Új Nemzeti Kiválóság Programjának támogatásával készült.

P1.4.2

CINGULÁRIS KÉRGI INTERLEUKIN-1 β MIKROINJEKCIÓ METABOLIKUS HATÁSAI PATKÁNYBAN

Csetényi Bettina^{1,2}, Hormay Edina^{1,2}, Szabó István^{1,2}, Karádi Zoltán^{1,2,3}

¹Pécsi Tudományegyetem, ÁOK, Élettani Intézet;

²Pécsi Tudományegyetem, Idegtudományi Centrum;

³Pécsi Tudományegyetem, Szentágothai János Kutatóközpont, Molekuláris Neuroendokrinológia és Neurofiziológia Kutatócsoport

Kísérleteinkben a primer citokin interleukin-1 β (IL-1 β) metabolikus hatásait vizsgáltuk hím Wistar patkányok cinguláris kérgébe juttatását követően. A cinguláris kéreg a limbikus rendszer részeként fontos szerepet tölt be a táplálkozás és anyagcsere központi szabályozásában. Extracelluláris egysejtelvezetésű kísérletben igazoltuk, hogy ezen kérgi régióban IL-1 β -ra tüzelési frekvenciájukat megváltoztató idegsejtek találhatóak.

A citokin cinguláris kéregbe juttatása bilaterális mikroinjekció formájában, mikroinfúziós pumpa segítségével történt, az előzetesen sztereotaxiás műtét során beépített vezető kanülökön keresztül. A kísérleteket 20 perccel az anyagbeadást követően végeztük. Tizenkét órás táplálékmegevonást követően glukóz tolerancia tesztben (GTT) vizsgáltuk az állatok vércukorszintjét. Farokvénából nyert vérmintában mértük a glukózszintet közvetlenül az agyi mikroinjekció előtt, majd az intraperitoneális glukózterhelést követő 9., 18., 30., 60. és 120. percben. Szintén 12 órás táplálékmegevonást követően hidegkémiás fotométerrel mértük az összkoleszterin, a HDL és az LDH, valamint a trigliceridek és a húgysav plazmaszintjét.

A GTT során az IL-1 β kezelt állatoknál végig magasabb vércukorértékeket figyeltünk meg, de a különbség nem bizonyult szignifikánsnak. A citokin kezelt patkányokban a metabolitok plazmaszintjének mérésekor szignifikáns csökkenés mutatkozott a HDL és az összkoleszterin értékekben. Az LDL, a trigliceridek, illetve a húgysav esetében nem tapasztaltunk eltérést a kontroll állatokhoz képest.

Eredményeink azt jelzik, hogy a cinguláris kérgi IL-1 β mediálta folyamatok fontos szerepet játszanak az anyagcsere központi szabályozásában.

Támogatás: PTE ÁOK KA 2013/34039/1; EFOP-3.6.1-16-2016-00004.

P1.4.3

A POLI(ADP-RIBÓZ) POLIMERÁZ-2 (PARP-2) ÉS A MITOKONDRIUM KAPCSOLATA

Jankó Laura¹, Márton Judit¹, Szántó Magdolna¹, Bay Péter^{1,2,3}

¹Debreceni Egyetem ÁOK Orvosi Vegytani Intézet;

²Debreceni Egyetem TA-DE Lendület Sejtmetabolizmus kutatócsoport;

³Debreceni Egyetem ÁOK Molekuláris Medicina Kutatóközpont

A poli(ADP-ribóz) polimerázok emberben egy 17 tagú fehérjecsaldot alkotnak, melynek egyik tagja a poli(ADP-ribóz) polimeráz-2 (PARP-2). A PARP-2 enzim szerepét először a DNS hibajavításban azonosították, azonban manapság számos metabolikus hatása is ismert a különböző szövetekben. A harántcsíktolt izomban, a májban és a hasnyálmirigyben PARP-2 hiányában a SIRT1 enzim szintje és aktivitása megnő, beindul a mitokondriális biogenezis, emellett a harántcsíktolt izomban nő a *de novo* koleszterol szintézis is.

Munkánk során a mitokondriális struktúrát tanulmányoztuk C2C12 myoblast, HepG2 hepatokarcinóma, Min6 β scrambled kontroll és PARP-2 csendesített sejtekben.

Eredményeink alapján a PARP-2 csendesített sejtekben megváltozik a mitokondriális struktúra, fuzionáltabbá válik a mitokondriális rendszer. H₂O₂ kezelés hatására a mitokondriális hálózat fragmentálódik, mely fragmentálódás a PARP-2 csendesített sejtekben nem olyan kifejezett, mint a scrambled kontroll sejtekben. A PARP-2 csendesítés a sejtek életképességére nincs hatással.

Támogatók: NKFIH K108308, GINOP-2.3.2-15-2016-00006, GINOP-2.3.3-15-2016-00021, PD121138

P1.4.4

ANALYSING THE ROLE OF I1 IMIDAZOLINE RECEPTORS IN THE PATHOMECHANISM OF DSS-INDUCED ACUTE COLITIS IN MICE

Lázár B.¹, Fehér Á.¹, Tóth V.E.¹, Al-Khrasani M.¹, Balogh M.¹, Helyes Z.², Gyires K.¹, Zádori Z.S.^{1*}

¹ Farmakológiai és Farmakoterápiás Intézet, Semmelweis Egyetem, Budapest;

² Farmakológiai és Farmakoterápiás Intézet, Pécsi Tudományegyetem

Studies have revealed the existence of at least three distinct types of imidazoline receptors (IRs), and proposed that they may be promising targets in the treatment of numerous diseases, including hypertension, diabetes, depression and chronic pain. The gastrointestinal localization of these receptors and their endogenous ligands suggests that these receptors may be promising targets in the treatment of various gastrointestinal diseases as well, including inflammatory bowel diseases (IBDs). Therefore, in the present study we aimed to analyse, for the first time, the effect of different IR ligands on the development of dextran sulfate sodium (DSS)-induced colitis in mice. Colitis was induced in female C57BL/6 mice, and DSS (2,5 %) was added to their drinking water for 7 days. Various synthetic and endogenous IR ligands (moxonidine, rilmenidine, AGN192403, efaroxan, agmatine and harmaline) were injected in different doses intraperitoneally, once or twice daily. The severity of inflammation was evaluated on the 9th day both macroscopically and histologically, and also by measuring the colonic level of myeloperoxidase. It was found that moxonidine and rilmenidine at therapeutically relevant doses did not have any significant effect on the severity of colonic inflammation, similarly to the other IR ligands. Although our study implies that IR ligands do not have a major impact on the development of colitis, further experiments with other colitis models and also clinical studies are required to completely rule out the role of IRs in the pathomechanism of IBDs.

This work was supported by the Austrian-Hungarian Action Foundation (88öu2 project) and by the Hungarian Scientific Research Fund (OTKA PD 109602).

P1.4.5

OXIDATIVE METABOLISM MODELING OF FLAVONOIDS

Peter Szabados-Furjesi¹, Lisa M. Frensemeier², Evelin Csepanyi¹, Attila Kiss-Szikszai³, Uwe Karst², Istvan Bak¹

¹University of Debrecen, Faculty of Pharmacy, Department of Bioanalytical Chemistry;

²University of Münster, Institute of Inorganic and Analytical Chemistry, Germany;

³University of Debrecen, Faculty of Science and Technology, Department of Organic Chemistry

Oxidative stress is a phenomenon which is related to the formation of free radicals, reactive oxygen species in excess. One of the major consequences of oxidative stress is the damage of biological macromolecules leading to the development and/or progression of numerous illnesses. Nowadays, an increase application of natural products can be observed, an application in the prevention of these disorders. Flavonoids are a large class of phenolic compounds and their antioxidant activity is well known. During our previous study, we investigated the antioxidant properties of nine chromone derivatives, which were selected from the molecule bank of the University of Debrecen. One of the nine molecules showed significant scavenging activity against ABTS radical, had higher ORAC value, than coumarin and had an increased FRAP activity compared to the standard molecule and to the other tested compounds.

Our aim was to gather information about the oxidative transformation of this selected molecule by different biomimetic systems. Initially, the oxidation of the molecule was performed by chemical Fenton reaction to obtain information on the behavior of the compound. The off-line analysis of the samples was performed immediately by ESI-MS with

syringe pump injection. In further experiments an artificial porphyrine, Fe(III) meso-tetra(4-sulfonatophenyl)porphine chloride was utilized to mimic the oxidative transformation. The samples were analyzed off-line by ESI-MS. As a third method, the electrochemical oxidation of the compound was performed using an electrochemical thin-layer cell coupled with an ESI-MS. The generated mass voltammograms aided the determination of the optimal oxidation potential. During these experiments four potential metabolites were generated and identified.

P1.4.6

A SZABADIDŐS TESTMOZGÁST KÍSÉRŐ ANTIOXIDÁNS MECHANIZMUSOK ÖSZTROGÉNHIÁNYOS PATKÁNY MODELLBEN

Szabó Renáta¹, Kupai Krisztina¹, Karácsonyi Zoltán², Juhász Béla³, Varga Csaba¹, Pósa Anikó¹

¹Szegedi Tudományegyetem, TT és Informatikai Kar, Élettani, Szervezettani és Idegtudományi Tanszék;

²Debreceni Egyetem, OEC, ÁOK, Ortopédiai Tanszék;

³Debreceni Egyetem, OEC, ÁOK, Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet

Bevezetés: Pathológiás körülmények között, a kardiovaszkuláris rizikófaktorokkal összefüggésben az extracelluláris mátrix (ECM) átalakuláson megy keresztül. A kóros ECM remodelling egy kulcsfolyamatnak tekinthető a kardiovaszkuláris megbetegedések okozta mortalitásban.

Anyag és Módszer: Nőstény Wistar patkányokon áloperálást vagy ovariectómiát hajtottunk végre, majd 12 hetes periódus során vizsgáltuk a szabadidős testmozgás és étrend (CTRL, normál táp vagy HT, magas-triglicerid tartalmú diéta) befolyásoló hatását az ECM átépülésében szerepet játszó enzim, a mátrix metalloproteáz-2 (MMP-2) aktivitásában, továbbá meghatároztuk a szívben mért nitrotirozin (3-NT) és glutathion (GSH) szinteket, valamint az infarktusz terület nagyságát.

Eredmények: 12 hetes HT diéta és tréning periódust követően emelkedett a 3-NT és GSH szint a testmozgást nem végző állatokhoz képest. A 64 és 72 kDa-os MMP-2 izoformák aktivitása szignifikáns növekedést mutatott a CTRL és HT diétán tartott futó állatok esetében áloperált és ösztrogénhiányos állapotban egyaránt. Az iszkémia/reperfúziót követő sérülés vizsgálatakor az ösztrogénhiány és a HT diéta növelte az elhalt területek arányát, míg tréning protokollunk protektívnek bizonyult ezen értékek csökkentésében.

Következtetés: Eredményeink azt mutatják, hogy az ösztrogénhiány és a HT étrend szerepet játszik a miokardiális ECM kóros átépülésében, valamint növeli az iszkémia/reperfúzió okozta sérülést. A 12 hetes szabadidős testmozgás, a MMP-2 aktivitásának növelésével, ígéretes támadáspont a kóros remodelling csökkentése érdekében.

A projekt az Emberi Erőforrások Minisztériuma ÚNKP-ÚNKP-16-4 (Pósa Anikó) és ÚNKP-ÚNKP-16-3 (Szabó Renáta) kódszámú Új Nemzeti Kiválóság Programjának, valamint a GINOP-2.3.2-15-2016-0062 pályázat támogatásával készült.

P1.4.7

A PARP-2 A BŐR LIPID HOMEOSZTÁZISÁNAK POTENCIÁLIS REGULÁTORA

Szántó Magdolna^{1,2}, Bíró Tamás³, Christos C. Zouboulis⁴, Bai Péter^{1,2}

¹Orvosi Vegytani Intézet, Debreceni Egyetem ÁOK;

²MTA-DE Lendület Sejtmetabolizmus kutatócsoport, Molekuláris Medicina Kutatóközpont, Debreceni Egyetem, ÁOK;

³Immunológiai Intézet, Debreceni Egyetem ÁOK;

⁴Departments of Dermatology, Venereology, Allergology and Immunology, Dessau Medical Center, Germany

A bőrben a szebociták és keratinociták is képesek koleszterol szintézisére, amely a sejtmembránok egyik alkotóeleme, részt vesz az epidermális barrier kialakításában, kiválasztódik a faggyúban, továbbá a bőr szteroid hormon bioszintézisének kiinduló vegyülete. A bőr koleszterol homeosztázisának rendellenessége tehát a faggyútermelés és az epidermális barrier integritásának felborulását okozhatja, megzavarhatja a bőr szteroidszintézisét is, ezáltal lényeges faktor lehet az olyan bőrbetegségek patogenezisében, mint az acne vulgaris vagy az atópiás dermatitis. Így a bőr koleszterol és szteroid szintézisét szabályozó útvonalak vizsgálata klinikai és terápiás szempontból nagy jelentőségű.

A poli(ADP-ribóz) polimeráz-2 (PARP-2) a PARP enzimek szupercsaládjába tartozó sejtmagi fehérje, amelynek eredetileg a DNS hibajavításban, illetve a genom integritásának fenntartásában tulajdonítottak elsődleges szerepet, de kutatócsoportunk eredményei a PARP-2 számos, korábban nem várt funkciójára világított rá. PARP-2 csendesítés hatására szebocitákban és keratinocitákban is a koleszterol és androgén hormon szintézis kulcsfontosságú enzimei expressziójának szignifikáns indukcióját tapasztaltuk, aminek következtében ezen sejtek összlipid-tartalma megemelkedett. További eredményeink alapján pedig feltételezzük, hogy a PARP-2 down-reguláció az egyik meghatározó lépés az olyan anyagok jelátviteli útvonalában, mint például a linolsav, tesztoszteron vagy dihidrotesztoszteron, amelyek végső soron a bőr egyes sejtjei lipid-szintézisének fokozódását eredményezik.

Mindezek alapján úgy véljük, hogy a PARP-2 elemi szabályozója lehet a bőr koleszterol és szteroid szintézisének, így terápiás célpont lehet olyan bőrbetegségek kezelésében, amelyek a lipid homeosztázis abnormalitásával hozhatók összefüggésbe.

Munkánkat támogatta: Bolyai ösztöndíj (SzM), NKFIH PD121138 és K108308, valamint a GINOP-2.3.2-15-2016-00006 és GINOP-2.3.3-15-2016-00021 kutatási pályázatok.

P1.5.1

A MENINGEÁLIS NYIROKEREK STRUKTURÁLIS ÁTALAKULÁSA SZÜKSÉGES A MAKROMOLEKULÁK KÖZPONTI IDEGRENSZERBŐL TÖRTÉNŐ ELSZÁLLÍTÁSÁHOZ

Bálint László^{1,2}, Deák Bálint András^{1,2}, Ocskay Zsombor^{1,2}, Jakus Zoltán^{1,2}

¹Semmelweis Egyetem, Élettani Intézet, Budapest;

²MTA-SE „Lendület” Nyirokélettani kutatócsoport, Budapest

Bevezetés: Habár az általánosan elfogadott nézet szerint a központi idegrendszerre nem jellemző a nyirokerek jelenléte, a közelmúltban nyirokérstruktúrákat írtak le a kemény agyhártyában. Nem ismert azonban a meningeális nyirokerek fejlődési programja, valamint a pontos élettani és kórélettani szerepe. Kísérleteinkben azt tűztük ki célul, hogy jellemezzük a meningeális nyirokerek fejlődési programját, valamint vizsgáljuk a funkciójukat.

Módszerek: A kemény agyhártya nyirokereinek fejlődési programját immunfestéssel jellemeztük. A funkcionális vizsgálathoz 70 kDa-os Rodamin dextránt injektáltunk riporter egértörzsek agyszövetébe, majd követtük a makromolekula elvezetődését.

Eredmények: Kísérleteinkben igazoltuk a nyirokerek jelenlétét a kemény agyhártyában. Eredményeink arra utalnak, hogy a meningeális nyirokerek a születést követő időszakban alakulnak ki, és jelentős strukturális átalakuláson mennek keresztül. Kimutattuk, hogy az agyszövetbe injektált makromolekulák elszállítása a mély nyaki nyirokcsomók irányába történik. Azt találtuk továbbá, hogy a makromolekulák elszállításának a megindulása egybeesik a strukturális átalakulás kezdetével, és a születést követő második hét végére éri el a maximumát.

Következtetés: Az adataink azt támasztják alá, hogy a meningeális nyirokerek posztnatális strukturális átalakulása elengedhetetlen az aktív nyirokérfunkció megindulásához a mély nyaki nyirokcsomók irányába. Eredményeink arra utalnak, hogy a kemény agyhártya nyirokereinek strukturális átalakulásának lényeges irányítója lehet a nyirok fokozódó áramlása. A meningeális nyirokhálózat fejlődési programjának és funkciójának megismerése hozzájárulhat a makromolekula felhalmozódással járó központi idegrendszeri

betegségek (pl.: Alzheimer kór) patogenezisének megértéséhez.

P1.5.2

VASOACTIVE EFFECTS OF A NEW NITRIC OXIDE DONATING ACETYLSALICYLIC ACID DERIVATIVE

Attila Czompa, Istvan Bak, Kitti Szoke, Peter Szabados-Furjesi, Istvan Lekli, Aniko Borbas, Pal Herczegh, Arpad Tosaki

Department of Pharmacology, Faculty of Pharmacy, University of Debrecen

Aims: According to the latest WHO mortality rates ischemic heart conditions are the main cause of death among non-communicable diseases. In the following investigation we have aimed to test the properties of a nitric oxide (NO) donating acetylsalicylic acid (ASA) derivative, which is stable, water soluble compound newly synthesized at the University of Debrecen, Hungary. Based on our hypothesis this molecule could combine the positive effects of the anticoagulant ASA and the vasodilator effect of NO, therefore, it could be a more powerful medication against ischemic heart diseases.

Materials and methods: In the first part of our experiments we were tested the possible cytotoxic effects of our ASA derivative *in vitro* in 10^{-4} – 10^{-7} M concentrations. MTT cell viability assay and hemolysis tests were performed on H9c2 cells and rat erythrocytes, respectively. Thereafter, we were measured the vasoactive effects on female Sprague Dawley rats *ex vivo* according to the Langendorff method in the presence or absence of the NO donating molecule.

Results: Our new NO donating ASA derivative is not affecting negatively to the cell viability in the tested concentrations. Furthermore, we have noticed a dose-dependent, out washable vasodilation on coronaries.

Discussion: Based on the beneficial observations through our experimental arrangement, the new molecule synthesized in our University is a powerful vasodilator with no significant toxic effects. It may contribute to new therapeutic approaches against ischemic heart diseases and possibly related syndromes, but the molecular mechanisms needs to be clarified.

Acknowledgements: NTP-NFTÖ-16, OTKA-PD-111794, TÁMOP 4.2.4. A/2-11-1-2012-0001 and GINOP-2.3.2-15-2016-00043.

P1.5.3

NYIROKÉRNŐVEKEDÉS SZERVSPECIFIKUS SERKENTÉSE LIPID NANOPARTIKULÁKBA CSOMAGOLT VEGFC (VEGFC MRNS-LNP) KOMPLEXEKEL *IN VIVO*

Styevkóné Dinnyés Andrea^{1,2}, Szőke Dániel^{1,2}, Pardi Norbert³, Ajtay Kitti^{1,2}, Drew Weissman³, Jakus Zoltán^{1,2}

¹Semmelweis Egyetem, Élettani Intézet, Budapest;

²MTA-SE „Lendület” Nyirokélettani kutatócsoport, Budapest;

³University of Pennsylvania, Philadelphia, USA

Bevezetés: A nyirokerműködés zavara primer vagy szekunder nyiroködéma kialakulásához vezet. A nyirokérfunkció helyreállítására azonban jelenleg nem áll rendelkezésre hatékony terápiás megközelítés.

Célkitűzés: Kísérleteinkben célul tűztük ki egy olyan – a korábbi megközelítésektől teljesen eltérő - mRNS alapú rendszer kifejlesztését, amellyel a nyirokérnövekedési faktor (VEGFC) kifejezésén keresztül nyirokérnövekedést indukálhatunk *in vivo*.

Anyag és módszer: Kísérleteinkben lipid nanopartikulákba (LNP) csomagolt tisztított mRNSeket alkalmaztunk (VEGFC-t, GFP-t és poly(C)-t). Az *in vitro* karakterizálásához sejtvonalakat transzfektáltunk mRNS-LNP komplexekkel, és fehérje expressziót vizsgáltunk.

***In vivo* kísérleteinkben** vad típusú és nyirokendotél riportert hordozó egereket lokálisan és szisztémásan injektáltunk a különböző mRNS-LNP komplexekkel, majd a nyirokérnövekedést monitoroztuk.

Eredmények: Igazoltuk, hogy a GFP és VEGFC mRNS-LNP komplexeinek sejtenyészetekbe juttatása indukálja a fehérjék kifejeződését. Kimutattuk, hogy a GFP mRNS-LNP komplexekkel történő kezelés hatására jelentősen növekszik a fluoreszcens szignál az egyes szervekben *in vivo*. Kísérleteinkben a VEGFC mRNS-LNP komplex injektálása után fokozott szervspecifikus nyirokérnövekedést találtunk, amelyet a kontrollhoz viszonyított jelentősen megnövekedett nyirokér hossz és elágazási szám jelzett.

Következtetés: Kísérleteink azt támasztják alá, hogy mRNS-LNP rendszerrel hatékonyan lehetséges indukálni fehérjék kifejeződését *in vitro* és *in vivo* egyaránt. Az eredményeink arra utalnak, hogy a VEGFC mRNS-LNP komplex alkalmazása kiválóan alkalmas a nyirokérnövekedés serkentésére, ami új távlatokat nyithat a nyiroködéma kezelésében és a nyirokérfunkció szervspecifikus jelentőségének kísérletes vizsgálatában.

P1.5.4

A NITROGÉN-MONOXID SZEREPE A REGIONÁLIS AGYKÉRGI VÉRÁRAMLÁS SZABÁLYOZÁSÁBAN FÉLOLDALI ARTERIA CAROTIS ELZÁRÁS UTÁN

Hricisák László¹, Andreas Polycarpou¹, Iring András^{1,2}, Daniel Safar¹, Ruisanchez Éva¹, Horváth Béla¹, Sándor Péter¹, Benyó Zoltán¹

¹Klinikai Kísérleti Kutató Intézet, Semmelweis Egyetem, Budapest;

²Max Planck Institute for Heart and Lung Research, Department of Pharmacology, Bad Nauheim, Németország

A féloldali arteria carotis elzáródás (CAO) gyakran nem vagy csak minimális mértékben okoz neurológiai tüneteket, ami arra utal, hogy az agyi makro- és mikrocirkuláció kiválóan képes alkalmazkodni a Willis-kör vérellátásának részleges csökkenéséhez. Munkánk egyik célja ezen alkalmazkodási folyamat molekuláris mechanizmusainak megismerése, főként a nitrogén-monoxid (NO) szerepének vizsgálata transzgenikus egérmodellek, illetve farmakológiai gátlószerek alkalmazásával. További célunk a circulus Willisi-t alkotó artériák, illetve a különböző agykérgi régiók között húzódó piális anasztomózisok funkciójának meghatározása az agyi vérkeringés adaptációjában féloldali CAO hatására. Felnőtt hím C57Bl/6N, endotheliális NO szintáz (eNOS)-, illetve neuronális NO szintáz (nNOS)-deficiens egereket 2% izofluránnal elaltattunk, majd vérnyomás mérés céljából femoralis artériájukat megkanuláltuk. Ketamin (100 µg/g iv.) - xylazin (10 µg/g iv.) altatásban egy trachea kanül behelyezése után a bal oldali arteria carotis communisra (CCA) hurkot helyeztünk, melyet később a kísérlet során meghúztunk (CAO). A regionális agykérgi véráramlás változásainak vizsgálatát laser-speckle módszerrel végeztük.

A mérés kezdetekor a xylazin antidotumaként 1 µg/g atipamezole-t, míg a NOS izoenzimek általános farmakológiai gátlására az állatok egy csoportjának 30 µg/g L-NAME-t adtunk intraperitoneálisan. A kísérlet végén meghatároztuk az artériás vérgáz- és sav-bázis paramétereket az állatok fiziológiai állapotának jellemzésére. A CAO-t követően 5-10 másodperccel az azonos oldali féltekében az a. cerebri media (MCA) ellátási területéhez tartozó temporális régióban 26%-os, míg az a. cerebri anterior (ACA) ellátási területéhez tartozó frontoparietális régióban 17-19%-os véráramlás-csökkenés alakult ki. Az ellenoldali agykéreg egyik régiójában sem tapasztaltunk véráramlás-változást, ami azért meglepő, mert egérben mindkét félteke frontoparietális régióját a közös ACA látja el. Ez arra utal, hogy a bal frontoparietális régió véráramlás-csökkenése a piális kollaterális ereken keresztül a súlyosan iszkémiás temporális régió felé történő vérkeringési redisztribúció következménye lehet.

Valamennyi érintett agykérgi régió véráramlása kb. 30 másodperc elteltével a beavatkozás előtti szint közelébe állt vissza, ami az adaptációs mechanizmus(ok) hatékonyságára utal. Az eNOS-KO állatokban az akut agykérgi véráramlás-csökkenés mértéke nem különbözött a WT egerekben tapasztalttól, a véráramlás normalizálódása pedig még fel is gyorsult.

Eredményeink alapján tehát megállapíthatjuk, hogy a Willis-kör erei önmagukban nem képesek teljes mértékben kompenzálni a CCA elzárását, illetve az ipsilaterális temporális kéreg iszkémiáját a különböző agykérgi régiók között futó piális anasztomózisok a frontoparietális régió véráramlásának terhére csökkentik. Az eNOS – meglepő módon – nem látszik fontos szerepet játszani az agykérgi mikrocirkuláció féloldali CCA elzáródásához való alkalmazkodásban.

P1.5.5

A KÉNHYDROGÉN FOKOZOTT VAZORELAXÁCIÓT OKOZ IDŐS DB/DB EGEREKBEN

Beliczai-Marosi Gabriella¹, Ane Stensønes Dybvig¹, Zoltán Benyó¹, Kiss Levente²

¹Klinikai Kísérleti Kutató Intézet, Semmelweis Egyetem, Budapest;

²Élettani Intézet, Semmelweis Egyetem, Budapest

Bevezetés A kardiovaszkuláris megbetegedések világszerte vezetnek a halálozási statisztikákat. Ezen megbetegedések elsősorban rizikófaktora az öregedés, továbbá ismert kockázati tényező a cukorbetegség is. Az öregedés és a cukorbetegség befolyásolja az érműködést, mely endotél diszfunkcióhoz és megváltozott simaizom-működéshez kapcsolódik. A kénhidrogén (H₂S) számos kardiovaszkuláris megbetegedés esetén protektív hatásokat mutatott, továbbá képes vazorelaxációt kiváltani. Munkánk során idős, kettes típusú diabéteszes egerekben vizsgáltuk az értónus szabályozását.

Anyag és módszer Idős, nőstény 2-es típusú diabéteszes (db/db) és kontroll egerekből izolált 3 mm hosszúságú thoracalis aorta érgyűrűkön, izometriás körülmények között miográffal végeztük kísérleteinket. Megvizsgáltuk a fenilefrin (10⁻⁸-10⁻⁵ M), acetilkolin (Ach, 10⁻⁹-10⁻⁵ M) és a kénhidrogén-donor nátrium-hidroszulfid (NaHS, 10 -1000 μM) kezelés hatására kialakuló érválaszokat, valamint a nitrogén-monoxid (NO) -donor nátrium-nitroprusszid (SNP, 10⁻¹⁰ -10⁻⁵ M) által létrehozott érreakciókat.

Eredmények Az acetilkolin és SNP által kiváltott vazorelaxáció csökkent volt a diabéteszes állatokból származó érszegmentumok esetében (Ach 3x10⁻⁸ – 10⁻⁵ M, p<0,001; SNP 10⁻⁹ – 3x10⁻⁸ M; p<0,001 vs kontroll, n=4-6) és fokozott relaxációt tapasztaltunk NaHS hatására a diabéteszes csoportban 100 μM koncentráció alkalmazásakor (36,5±20,4% vs 73,0±11,8%; p<0,001 vs control, n=4-6).

Következtetés Az SNP hatására kialakult mérsékelt relaxációs válasz a diabéteszes csoportban csökkent NO-függő relaxációs képességre utal az idős cukorbeteg állatok körében.

Megfigyeléseink szerint a diabéteszes állatokból származó erek érzékenyebbek a H₂S kezelésre, mivel vazorelaxációjuk H₂S hatására fokozott volt. Irodalmi adatok alapján diabéteszes szövetekben fokozott a foszfodiészteráz (PDE) enzim aktivitása. Mivel a H₂S gátolja a PDE enzimet, a nagyobb relaxáció hátterében a H₂S fokozott gátló hatása állhat, melynek következtében kisebb PDE hatás érvényesül és nagyobb vazorelaxáció jön létre a diabéteszes állatokból származó erekben.

Támogatás:

OTKA K-112964, OTKA K-115607 és BO/00470/14 Bolyai Ösztöndíj

P1.5.6

KRÓNIKUS QUERCETIN TÁPLÁLÉK KIEGÉSZÍTÉS KÉSLELTETI A KORONÁRIA KISEREK KOROSODÁSSAL JÁRÓ HÁLÓZATI ÁTÉPÜLÉSÉT

Lónyi Flóra¹, Monori-Kiss Anna¹, Pásti Gréta¹, Danics Lea¹, Monos Emil¹, Nádasy György²

¹Klinikai Kísérleti Kutató Intézet, Semmelweis Egyetem, Budapest;

²Élettani Intézet, Semmelweis Egyetem, Budapest

A quercetin a természetben egyik leggyakrabban előforduló bioflavonoid, ismert antioxidáns, szabadgyökfogó, gyulladásgátló molekula. Előzetesen bizonyítottuk, hogy akut vazodilatátor is. E kísérletes munkánkban a hosszú távú táplálékkiegészítés hatásait vizsgáljuk koronária arteriola hálózat biomechanikai és farmakológiai tulajdonságaira.

Nyolc hetes hím Wistar patkányok egyik csoportja (n=9) napi 30 mg/ttkg quercetint kapott per os nyolc hétig (Q) a másik csoport (n=10) pedig kontrollként szolgált (K). A kezelés végén a bal leszálló koronária artériát és ágait kipreparáltuk a kb. 80 µm átmérőjű erekig. In situ, 50-70 Hgmm perfúziós nyomás mellett nagy felbontású fényképeket készítettünk, melyeket kvantitatív elemzésnek vetettünk alá. Az állatok plazmájából teljes antioxidáns kapacitást mértünk.

A teljes antioxidáns lecsökkent a kezelés hatására (339±10 vs. 301±14 CRE µmol). Korábbi eredményeinkkel összhangban az érfal megvastagodását észleltük a Q csoportban 500 µm alatti átmérőknél (p<0,01). A szegmentális tortuozitás csökkent a kezelés hatására (11,0±0,1% vs. 9,4±0,1%, p<0,01) és a szöglettorések száma visszaszorult (3,5±0,6 vs. 1,0±0,5 db, p<0,01). Az elágazási szögek a K csoportban gyakrabban vettek fel hemodinamikailag előnytelen (45°-nál kisebb, vagy 105°-nál nagyobb) értéket, mint a Q csoportban (23% vs. 9%, p<0,05). A leányágak aszimmetria indexe a kezelés hatására csökkent (2,3±0,2 vs. 1,7±0,1, p=0,03). A hálózat szerveződési hibáit jelző hálózati tortuozitás a quercetin kezelés hatására csökkent (11,5±0,2% vs. 9,7±0,1%, p<0,01). A Q csoportban több 200-300 µm

érátmérőjű szakaszt regisztráltunk, míg a K csoportban megjelentek extrém nagy átmérőjű artériák ($>600\mu\text{m}$, $p<0,01$).

A quercetin kezelés hatása az előnytelen hálózati elemek számának csökkenésében jelentkezett, quercetin lassíthatja az életkor és/vagy hemodinamikai stressz okozta előnytelen átépülést, ezáltal csökkentheti a károsodást a szív munkaizomzatában.

(OTKA 32019, 42670, Magyar Hipertónia Társaság, Magyar Vese Alapítvány támogatásával.)

P1.5.8

A METÁN BELÉGZÉS MEGŐRZI A THROMBOCYTA FUNKCIÓT PERICARDIALIS TAMPONÁD KÖVETKEZTÉBEN LÉTREJÖVŐ KERINGÉSI ELÉGTELENSÉGBEN

Szücs Szilárd¹, Bari Gábor², Varga Gabriella¹, Érces Dániel¹, Gules Mária¹, Gyarakai Petra¹, Löfler Fanni Krisztina¹, Boros Mihály¹

¹Szegedi Tudományegyetem ÁOK, Sebészeti Műtéttani Intézet;

²Szegedi Tudományegyetem ÁOK, II. számú Belgyógyászati Klinika és Kardiológiai Központ, Szívsebészeti osztály

Bevezető: A szöveti hipoperfúzióval jellemezhető keringési állapotokat gyakran kíséri a thrombocyta funkció megváltozása. A folyamat jelentőségét hangsúlyozza, hogy traumát követő thrombocyta diszfunkció megjelenése szoros összefüggést mutat a mortalitás emelkedésével (White, 2013). A gyulladással válasz szerepet játszik a szövetskárosodást kísérő thrombocyta diszfunkció kialakulásában. Jelen tanulmányunkban azt vizsgáltuk, hogy a korábbi kísérleteinkben gyulladáscsökkentőnek bizonyult normoxiás metán-levegő keverék hatást gyakorol-e a thrombocyta reaktivitásra.

Anyag és módszer: Altatott, lélegeztetett törpesertések két csoportján perikardiális tamponádot (PT) hoztunk létre, melyet transphrenicus úton a pericardium üregébe vezetett kanülön át saját, heparinizált vérrel való feltöltés útján értük el. Ezzel az artériás középnyomást (MAP) 60 percen át 40-45 Hgmm-re csökkentettük. A kezeletlen PT (n=6) csoport állatai körlevegőt, a második csoport (PT+Met; n=7) a PT vége előtti 5. perctől 20 percen át 2,5%-os metán-levegő normoxiás keveréket (Linde) lélegeztek. A harmadik csoport kontrollként szolgált (n=7). A PT megszüntetését 180 megfigyelés követte. A makrohemodinamikát PiCCO monitor segítségével vizsgáltuk, illetve teljes vérből thrombocyta számot és reaktivitást határoztunk meg, az utóbbit impedancia aggregométer segítségével (Multiplate analyzer, Roche).

Eredmények: PT után a MAP a kontroll érték ~80%-ára mérséklődött. A thrombocyta szám a PT-t követően nem változott, azonban a thrombocyta reaktivitás csökkenését figyeltük meg. A normoxiás metán belélegeztetés a thrombocyta számot szintén nem befolyásolta, azonban a thrombocyták szignifikánsan magasabb reaktivitást mutattak a megfigyelési idő végéig.

Következtetés: Eredményeink alapján a PT által létrehozott szöveti hypoperfúzió következtében kialakuló thrombocyta diszfunkció jelentősen csökkenthető metángáz belélegeztetésével.

Támogató: OTKA-K104656; NKFI-116861; GINOP-2.3.2-15-2016-00015

P2.1.1

SZOMATOSZTATIN 4 RECEPTOR AGONISTÁK VIZSGÁLATA NEUROPÁTIÁS FÁJDALOM, SZORONGÁS ÉS DEPRESSZIÓ-SZERŰ VISELKEDÉS EGÉRMODELLJEIBEN

Hunyady Ágnes¹, Borbély Éva¹, Kántás Boglárka¹, Pintér Erika¹, Szolcsányi János¹, Helyes Zsuzsanna^{1,2}

¹Pécsi Tudományegyetem ÁOK Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet & Szentágothai János Kutatóközpont;

²MTA-PTE NAP B Krónikus Fájdalom Kutatócsoport, Pécs

Az idegsérülés következtében kialakuló neuropátiás fájdalom nehezen kezelhető, gyakran társul hangulatzavarral és szorongással, jelentősen rontva az életminőséget. Mivel kezelésében a jelenlegi gyógyszerek hatása nem kielégítő, szükség van új hatásmechanizmusú fájdalomcsillapítók kifejlesztésére. Munkacsoportunk saját eredményei és irodalmi adatok bizonyították a szomatosztatin fájdalomcsillapító, gyulladáscsökkentő és antidepresszáns hatásait. E hatások a szomatosztatin 4 receptor (sst₄) aktivációján keresztül valósulnak meg, amely endokrin hatásokat nem közvetít. Kísérleteinkben saját fejlesztésű kismolekulájú sst₄ agonistáink (VCC158015, VCC885587; Vichem Kft.) hatásait vizsgáltuk egérmodellekben. Hím NMRI egerekben traumás mononeuropátiát a n. ischiadicus részleges lekötésével idéztünk elő, a talp mechanonociceptív küszöbét dinamikus plantáris eszteziométerrel mértük. A depressziószerű viselkedést tail suspension tesztben (TST) és forszírozott úszás tesztben (FST), a szorongást emelt keresztpalló (EKP) tesztben, a spontán lokomotor aktivitást open field tesztben vizsgáltuk. Az agonistákat vagy a metilcellulóz oldószert szájon át (p.o.) adtuk 1 órás előkezelésben. A neuropátia modellben a 7. napi posztoperatív kontroll mérések után anyagadást követően ismételt vizsgálatokat végeztünk.

Mindkét agonista szignifikánsan, dóziszfüggő módon (20, 100 és 500 µg/kg p.o.) gátolta a neuropátiás mechanikai hiperalgéziát. A legnagyobb dózisok, amelyek az open field tesztben nem befolyásolták a spontán lokomotor aktivitást, megközelítőleg 70-80%-os anti-hiperalgetikus hatást eredményeztek. A kb. 40-50%-os gátló hatást okozó 100 µg/kg dózisok szignifikánsan csökkentették a TST-ben a depressziószerű viselkedést jelző immobilitási időt,

azonban az eltérő neuronális aktivációs mechanizmusokon keresztül közvetített FST-ben nem voltak hatásosak. Szorongáscsökkentő hatást egyik vegyület sem mutatott az EKP tesztben. Szájon át adható sst₄ agonistáink hatékonyan csökkentik a neuropátiás hiperalgéziát és a depressziószerű viselkedést, amelyek ígéretes irányokat nyithat teljesen új hatásmechanizmusú kombinált fájdalomcsillapító és antidepresszáns gyógyszerek kifejlesztésére.

Támogatás: KTIA_NAP_13-2014-0022, GINOP-2.3.2-15-2016-00048, GINOP-2.3.2-15-2016-00050

P2.1.2

THE ROLE OF INTRAAMYGDALOID OXYTOCIN AND DOPAMINE INTERACTION IN ANXIETY

László K¹, Fittler K¹, Ollmann T.¹, Kovács A.¹, Péczely L¹, Kertes E.¹, Karádi Z.^{1,2}, Lénárd L.^{1,2}

¹Institute of Physiology, University of Pécs, Medical School;

²Molecular Endocrinology and Neurophysiology Research Group, University of Pécs, Szentágothai Center

Neuropeptide oxytocin (OT) plays a role in various behavior including pair bonding, empathy, social recognition, anxiety, drug addiction and learning. The central nucleus of the amygdala (CeA), part of the limbic system, plays an important role in learning, memory, anxiety and reinforcing mechanisms. Our previous findings indicated that in the rat CeA OT has a dose dependent anxiolytic effect. The aim of our present study was to examine in the CeA the possible effects of OT and dopamine (DA) D2 receptor antagonist sulpiride on anxiety in elevated plus maze test.

Male wistar rats were microinjected bilaterally with 10 ng OT (Sigma: O6379, injected in volume of 0.4 µl). In different group of animals 4 µg DA D2 receptor antagonist (sulpiride: Sigma: S7771 dissolved in sterile saline, injected in volume of 0.4 µl) was applied. Other animals received DA D2 receptor antagonist 15 min before 10 ng OT treatment or vehicle solution into the CeA.

Rats receiving 10 ng OT spent significantly longer time on the open arms. Prior treatment with DA D2 receptor antagonist blocked the effects of OT. Antagonist in itself did not influence the time rats spent on the open arms.

Our results show that in the rat CeA OT has anxiolytic effects. DA system plays a role in anxiolytic effects of OT because DA D2 receptor antagonist can block these actions.

The project has been supported by the European Union, co-financed by the European Social Fund (EFOP-3.6.1.-16-2016-00004) and Pécs University, Medical School (PTE ÁOK KA-2015-15).

P2.1.4

ALTERATION OF THE PAC1 RECEPTOR EXPRESSION IN THE BASAL GANGLIA OF MPTP-INDUCED PARKINSONIAN MACAQUE MONKEYS

Reglodi D^{1*}, Feher M^{1,2}, Gaszner B¹, Tamas A¹, Gil-Martinez AL³, Fernandez-Villalba E³, Herrero MT^{3*},

¹Department of Anatomy, University of Pecs;

²Department of Neurosurgery, "Kaposi Mór" Teaching Hospital, Kaposvar;

³Clinical and Experimental Neuroscience (NiCE), Institute of Bio-Health Research of Murcia (IMIB), Institute of Aging Research (IUIE), School of Medicine, Campus M

Pituitary adenylate cyclase activating polypeptide (PACAP) is a well-known neuropeptide with strong neurotrophic and neuroprotective effects. PACAP exerts its protective actions via three G protein-coupled receptors: the specific Pac1 receptor (Pac1R) and the Vpac1/Vpac2 receptors, the neuroprotective effects being mainly mediated by the Pac1R. The protective role of PACAP in models of Parkinson's disease and other neurodegenerative diseases is now well-established in both in vitro and in vivo studies. PACAP and its receptors occur in the mammalian brain, including regions associated with Parkinson's disease. PACAP receptor up- or downregulation has been reported in several injury models or human diseases, but no data are available on alterations of receptor expression in Parkinson's disease. The model closest to the human disease is the MPTP-induced macaque model. Therefore, our present aim was to evaluate changes in Pac1R expression in basal ganglia related to Parkinson's disease in a macaque model. Monkeys were rendered parkinsonian with MPTP, and striatum, pallidum and cortex were evaluated for Pac1 receptor immunostaining. We found that Pac1R was markedly downregulated in the caudate nucleus, putamen, as well as in the internal and

external parts of the globus pallidus, while expression remained unchanged in the cortex of MPTP-treated parkinsonian monkey brains. This decrease was attenuated in some brain areas in monkeys treated with L-DOPA. The strong, specific downregulation of the PACAP receptor in the basal ganglia of parkinsonian macaque monkey brains suggests that the PACAP/Pac1R system may play an important role in the development/progression of the disease.

P2.1.5

A MEDIALIS ORBITOFRONTALIS KÉRGI GLUKÓZ-MONITOROZÓ NEURONOK SZEREPE A HOMEOSZTÁZIS FENNTARTÁSÁBAN

Szabó István^{1,2}, Hormay Edina^{1,2}, Csetényi Bettina^{1,2}, Karádi Zoltán^{1,2,3}

¹Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Élettani Intézet;

²Pécsi Tudományegyetem, Idegtudományi Centrum;

³Pécsi Tudományegyetem, Szentágotthai János Kutatóközpont, Molekuláris Neuroendokrinológiai Kutatócsoport

A medialis orbitofrontalis kéreg (mOFC) az előagyi limbikus rendszer részeként fontos szerepet tölt be a táplálkozás és az anyagcsere központi szabályozásában. Az itt található glukóz-monitorozó idegsejtek ezen funkciókban sokrétűen érintettek. Jelen vizsgálatainkban a mOFC GM idegsejtjeinek elpusztítását követően metabolikus vizsgálatokat végeztünk.

Kísérleteinkben hím Wistar patkányok mOFC-ébe a D-glukózhoz hasonló szerkezetű, a GM sejteket szelektíven elpusztító streptozotocint (STZ) injektáltunk. Ezt követően glukóz tolerancia teszteket, valamint plazma metabolit méréseket végeztünk.

A mOFC GM idegsejtjeinek streptozotocinnal való elpusztítása után a glukóz tolerancia tesztben a STZ kezelt állatok vércukor szintváltozásának a dinamikája eltérő, lassabb volt a vivőanyagot kapott állatokéinál: a 30. és 60. perces vércukorértékek a kontroll állatokéinál szignifikánsan magasabbak voltak. A streptozotocin mikroinjekciós csoportban a plazma

triglicerid koncentráció a kontrollokban mért szinteknél szintén nagyobbak bizonyult, a többi, általunk vizsgált metabolit értékekben (vércukor, húgysav, HDL, albumin) nem találtunk jelentős eltérést.

Eredményeink arra utalnak, hogy a medialis orbitofrontalis kéreg glukóz-monitorozó neuronjai fontos szerepet játszanak a metabolizmus, így a homeosztázis egyensúlyának a központi idegrendszeri szabályozásában.

Támogatás: PTE ÁOK KA 2013/34039/1; EFOP-3.6.1-16-2016-00004.

P2.1.6

A SZOMATOSZTATIN 4 RECEPTOR SZEREPÉNEK VIZSGÁLATA TANULÁS ÉS MEMÓRIA EGÉRMODELLJEIBEN

Szentes Nikolett¹, Tékus Valéria¹, Mohos Violetta¹, Helyes Zsuzsanna^{1;2}

¹Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet & Szentágothai János Kutatóközpont, Pécsi Tudományegyetem, Pécs;

²MTA-PTE NAP B Krónikus Fájdalom Kutatócsoport, Pécs;

³PharmInVivo Kft., Pécs

A szomatosztatin számos központi idegrendszeri funkciót szabályozó gátló neuropeptid. Öt G_i-proteinhez kapcsolt receptora közül a szomatosztatin 4 receptor (sst₄) gyulladáscsökkentő, fájdalomcsillapító és antidepresszáns hatásokat közvetít endokrin hatások nélkül. Mivel egy új közlemény egy szintetikus sst₄ agonista kognitív funkciókat javító hatásait mutatta Alzheimer kór egérmodelljében, célunk a receptor szerepének vizsgálata volt tanulás és memória folyamatokban génhiányos egerek segítségével.

Három hónapos sst₄ génhiányos (sst₄^{-/-}) és vad típusú (sst₄^{+/+}) hím és nőstény egerek új útkereső magatartását Y-útvesztőben (gyors tanulás), rövid- és hosszútávú memóriáját többkaros útvesztőben a karok ismétlésének száma és jutalomfalat segítségével vizsgáltuk. A spontán lokomotoros aktivitást és szorongást nyílt tér tesztben, az újdonság felfedezési és ismert információk feldolgozási képességét új tárgy felismerési tesztel végeztük.

Vad típusú nőstények ugyanúgy teljesítettek az Y-útvesztőben, azonban a többkarosban több kart látogattak, többet ismételték és tévesztettek, de ugyanannyi jutalomfalatot találtak meg, mint a hímek. A nyílt tér tesztben szignifikánsan több időt töltöttek közepén, az új tárgy

felismerési tesztben kevesebbet vizsgálták mindkét tárgyat. Nőstény $sst_4^{-/-}$ egerek mindkét útvesztőben kevesebb kart látogattak és ismételtek, de azonos számú jutalomfalatot találtak meg, az új tárgy vizsgálatával szignifikánsan több időt töltöttek, mint az $sst_4^{+/+}$ kontrolljaik. Hím $sst_4^{-/-}$ egerek szignifikánsan kevesebb jutalomfalatot találtak meg és kevésbé érdeklődtek mindkét tárgy iránt a vad típusúakhoz viszonyítva, azonban a többi paraméterben nem találtunk szignifikáns eltérést.

Nőstény egerek rosszabb hosszútávú tanulási képességgel, kisebb szorongással és explorációs képességgel rendelkeznek, mint a hímek. A receptor hiányában nőstényeknél gyorsabb rövidtávú tanulást, azonban mindkét nemben rosszabb felfedező magatartást és érdeklődést tapasztaltunk. Az sst_4 komplex szabályozó szerepe memóriafolyamatokban ezen eredményeink és az irodalmi adatok alapján valószínűleg kognitív deficit esetén kifejezett.

Támogatás: KTIA_NAP_13-2014-0022, GINOP-2.3.2-15-2016-00048, GINOP-2.3.2-15-2016-00050

P2.1.7

A GLIA-AKTIVÁCIÓ MEGHATÁROZÓ SZEREPET JÁTSZIK A KOMPLEX REGIONÁLIS FÁJDALOM SZINDRÓMA AUTOANTITESTTEL KIVÁLTOTT PASSZÍV TRANSZFER-TRAUMA EGÉRMODELLJÉBEN

Tékus Valéria¹, Szentes Nikolett¹, Pohóczky Krisztina¹, Dénes Ádám², Goebel Andreas³, Helyes Zsuzsanna¹

¹Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet, Idegtudományi Centrum, Szentágotthai János Kutatóközpont, Pécsi Tudományegyetem;

²Molekuláris Neuroendokrinológia Kutatócsoport, Kísérleti Orvostudományi Kutatóintézet MTA, Budapest;

³Transzlációs Medicina Intézet and Walton Fájdalom Központ, Liverpooli Egyetem, Liverpool

A komplex Regionális Fájdalom Szindrómában (CRPS) az érzőideg-végződésekből felszabaduló antigének elleni kóros immunválasz és neuro-immun interakciók szerepe valószínűsíthető, azonban a pontos kórélettani mechanizmusok nem ismertek. Ezek vizsgálatára kidolgoztunk és karakterizáltunk egy transzlációs passzív-transzfer-trauma egérmodellt, melyben a perifériás gyulladáshoz és centrális neuroinflammációs folyamatok szerepét analizáltuk.

Nőstény C57Bl/6 egereket naponta kezeltünk CRPS betegek és egészséges önkéntesek (n=4-4 egyén; 6 egér/csoport) tisztított IgG frakcióival 1-14 napig, a mikrosérülést talpbőr-izom incízióval modelleztük. Az érintési érzékenységet dinamikus plantáris észteziométerrel, a lábterfogatot pletizmométerrel, a lábhomogenizátumokból a szenzoros neuropeptideket (P-anyag: SP, calcitonin gén-rokon peptid: CGRP) radioimmunesszével, a gyulladáshoz citokineket (interleukin-1b,-10,-6, tumor nekrozis faktor - α : TNF- α , Rantes) CBA mikrogöngy technikával mértük. A mikrogliá- és asztrocita-meghatározás Iba1 és glialis fibrilláris savi protein (GFAP) immunhisztokémiával történt.

A CRPS IgG kezelés szignifikánsan fokozta az incízióval kiváltott mechanikai hiperalgéziát és lábduzzadást az egészséges IgG-vel kezelt csoporthoz viszonyítva. Ez a késői fázisában volt a legkifejezettebb, amikor a tünetek a kontroll csoportokban normalizálódtak. A szöveti citokin-koncentrációk az incízió hatására emelkedtek, azonban a CRPS IgG kezelésnek nem volt erre hatása. A SP a 7. napon átmenetileg szignifikánsan emelkedett, a CGRP nem változott. A CRPS-IgG szignifikánsan fokozta a GFAP és az Iba-1 immunpozitivitást a fájdalomban szerepet játszó területeken: az L4/L5 gerincvelői hátsó szarvban, a periakveduktális szürkeállományban és a szomatoszenzoros kéregben.

Új passzív-transzfer-trauma egérmodellünkben a betegek IgG frakciójával a CRPS fő tünetei előidézhetők. Az erős, tartós fájdalomban a glia sejtek aktivációján keresztül megvalósuló centrális szenzitizációs mechanizmusok valószínűleg szerepet játszanak, a perifériás gyulladáshoz vezető folyamatok azonban nem döntő jelentőségűek.

Támogatás: KTIA_NAP_13-2014-0022; Pain Relief Foundation; GINOP-2.3.2-15-2016-00048

P2.1.8

PREBIOTIKUM MEDIÁLTA FIGYELMI VÁLASZ VÁLTOZÁS, EGÉSZSÉGES HUMÁN POPULÁCIÓBAN

Tóth Attila^{1,2}, Zhinoo Amiri³, Vízvári Zoltán⁴, Karádi Kázmér⁵, Mintál Kitti⁶, Lénárd László^{1,2}, Karádi Zoltán^{1,2}, Cserjési Renáta³

¹Élettani Intézet, Általános Orvostudományi Kar, Pécsi Tudományegyetem;

²Ideggyógyászati Centrum, Szentágotthai János Kutatóközpont, Pécs;

³Affektív Pszichológiai Tanszék, Pszichológiai Intézet, ELTE, Budapest;

⁴Környezetmérnök Tanszék, Műszaki és Informatikai Kar, Pécsi Tudományegyetem;

⁵Magatartástudományi Intézet, ÁOK, Pécsi Tudományegyetem;

⁶Biológiai Intézet, Természettudományi Kar, Pécsi Tudományegyetem,

A lakosság tradicionális életmódjában bekövetkezett drasztikus változás és a mentális betegségek gyakoriságának a növekedése között kapcsolat mutatható ki. A közelmúlt állatkísérletes adatai alátámasztják a gasztrointesztinális (GI) rendszer és a központi idegrendszer kétirányú kommunikációjának jelentős szerepét. A különböző diétákról kimutatták, hogy rizikó faktorokként szerepet játszanak a fizikai és a mentális betegségekben. Szoros kapcsolat van a diéta és a GI mikrobiális flóra között, amely elengedhetetlen a normális idegi működéshez. A rágcsálókól származó vizsgálatok demonstrálták a speciális pre- és/vagy probiotikumokat tartalmazó diéták gyulladáshoz, valamint neuroprotektív folyamatokban játszott pozitív szerepét. Néhány prebiotikummal kapcsolatos kísérletben jól körülhatárolható hatásokat mutattak ki viselkedési paradigmák (szorongás, tanulás és memória) során. Kognitív deficitet találtak GI betegségek esetén, mint pl. irritábilis-, gyulladáshoz vezető bélzindróma, liszt érzékenység. Jelen kísérletünkben az egyén kognitív funkciójában, illetve a szervezet szintjén létrejövő kvantitatív változások közötti kapcsolatot vizsgáltuk, kéthetes, speciális diétát követően. A testösszetétel vizsgálatát egy általunk kifejlesztett, újfajta bioimpedancia mérőeszközzel végeztük. A kognitív funkció vizsgálatára standard pszichológiai tesztek (Stroop-, figyelmi hálózati- és digit-span) alkalmaztunk. A

résztevő 24 egyetemi hallgatót (n=24, ebből 15 nő), random módon, kontroll, illetve diétás csoportra (speciális, GI flórát támogató táplálkozás [magas rost-, csökkentett kalória tartalom, tisztított szénhidrátok kerülése, stb.]) osztottuk. A kiindulási helyzetben a két csoport tagjai sem súlyban, sem étkezési szokásaikban nem tértek el, illetve nem rendelkeztek étkezési, valamint hangulati problémákkal. Az impedancia változások összefüggést mutattak a két hetes diétát követően a teljes testzsír mennyiségével. Tendenciózus hatást találtunk a diéta, valamint a kognitív viselkedés, ill. a figyelmi kapacitás változása és a munkamemória között. Ezek a prelimináris eredmények arra utalnak, hogy az általunk alkalmazott diéta pozitív eltéréseket idéz elő a figyelem és a munkamemória területén, ami összefüggésben van a testösszetétellel.

A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg. (Átfogó fejlesztések a Pécsi Tudományegyetemen az intelligens szakosodás megvalósítása érdekében: EFOP-3.6.1.-16-2016-00004)

P2.1.9

A MEDIÁLIS ÉS DORZÁLIS RÁFE SZEREPE A SZOCIÁLIS VISELKEDÉSBEN: OPTOGENETIKAI VIZSGÁLATOK

Zelena Dóra¹, Balázsfi Diána¹, Demeter Kornél¹, Miskolczi Christina¹, Varga Zoltán¹, Nagyváradai Ádám¹, Baranyi Mária¹, Sperlágh Beáta¹, Haller József¹

¹MTA Kísérleti Orvostudományi Kutató Intézet;

²Szentágothai Kutatóközpont, Idegtudományi Központ, Pécsi Egyetem, ÁOK, Élettan Intézet

Bevezetés: Korábbi tanulmányok alapján a szerotonin neurotranszmisszió serkentése fokozza a szociális interakciót és csökkenti az agressziót. A két fő szerotonerg mag, a medián (MR) és a dorzális ráfe (DR) szerepe más viselkedésekben ellentétesnek bizonyult, a szociális viselkedésekben betöltött saját szerepükről azonban nem sok információ áll rendelkezésre.. A térbeli elhelyezkedésük miatt nehéz elkülöníteni egymástól a két magot, sőt a felszabaduló neurotranszmitterek aránya és az általuk beidegzett agyterületek is eltérőek, így funkcionálisan is eltérő szerepet tölthetnek be.

Anyag és módszer: Adenoasszociált vírus vektor segítségével channelrhodopsin-t juttattunk a Bl6 egér MR és DR területére. Két héttel később optikai szálát ültettünk a terület fölé. A következő héten az állatok viselkedését önkontrollos elrendezésben vizsgáltuk 3 naponta. A 20Hz-es 473nm-es stimulálás 3 perc után kezdődött 3 x 3 percig tartott 3 perc szünetekkel összesen 21 percig. A másik teszt során az állat nem kapott fényingert. Szociális partnerként CD1-es egeret (20-25 nap) alkalmaztunk. Altatott állatokon mikrodialízissel vizsgáltuk az optikai stimulálás hatására a prefrontális kéregből (PFC) felszabaduló neurotranszmittereket. A kísérlet végén a műtétek sikerességét immuncitokémiával ellenőriztük.

Eredmények: Egyik mag stimulálása sem befolyásolta az állatok motoros képességeit. Az MR stimulálása az ingerlési periódusok alatt növelte a partner szagolását és csökkentette a támadó magatartást. A DR periódikus ingerlése az egész tesztre kihatva csökkentette a támadásokat. A PFC-ből az MR ingerlés hatására fázisosan, míg a DR ingerlés hatására lassan, elhúzódóan szabadult fel a szerotonin. Az MR ingerlés glutamát felszabadulással is járt, míg a noradrenalin és GABA szint mindkét mag ingerlését követően megemelkedett.

Következtetés: Megerősítettük, hogy a szerotonin „barátságosabb” tesz. A szociális interakcióra gyakorolt hatás nem a motoros képességek megváltozása miatt volt megfigyelhető. Míg az MR ingerlése fázisos, gyorsan változó hatásokat okoz, melyben feltehetően a glutamaterg neurotranszmisszió játszik szerepet, addig a DR ingerlés tónusos, lassan kialakuló, elhúzódó hatásokkal jár.

P2.2.2

EGY ÚJ MÓDSZER KIFEJLESZTÉSE AZ ARHGAP25 GTPÁZ AKTIVITÁSÁNAK MÉRÉSÉRE

Kovács Fanni, Wisniewski Éva, Csépanyi-Kömi Roland, Ligeti Erzsébet

Élettani Intézet, Fagocita Élettani Kutatócsoport, Semmelweis Egyetem, Budapest

A kis G-fehérjék jelentős szerepet töltenek be az aktin-citoszkeleton rendszernek, ezáltal a sejt alakjának, mozgásának meghatározásában, valamint gyulladási folyamatokban. A munkacsoportunk által kutatott GTPáz aktiváló fehérjék (köztük az ARHGAP25) a Rho alcsalád (Rac, Rho, Cdc42) fehérjék aktivitási ciklusának negatív regulátorai. Szabályozó hatásuk kvantitatív mérése elengedhetetlen laborunk számára. Az eddigiek során radioaktív izotópos módszert alkalmaztunk, melynek jelentős hátrányai vannak. Célunk egy biolumineszcencia rezonancia energiatranszfer (BRET) alapú, megbízhatóbb, és reprodukálható adatokat biztosító módszer bevezetése.

Elkészítettük a GST-Venus-Rac és a luciferáz enzimet kódoló GST-CRIB-Rluc konstrukciókat, mely utóbbi specifikusan köti az aktív Rac-ot. Az izotópos mérés során a ³²P-GTP-vel töltött Rac-ot 15 percen keresztül inkubáltuk (\pm ARHGAP25), és a nitrocellulóz membránon fennmaradó aktív Rac mennyiségét vizsgáltuk.

A BRET méréseinket 96-os lemezen végeztük, a fehérjéinket (Rac, CRIB \pm ARHGAP25) 100 μ l térfogatban inkubáltuk. Az 530 és 480 nm-en mért intenzitások különbsége adja a BRET hányadost.

Elsőként izotópos kísérletekkel validáltuk a fluoreszcensen jelzett fehérjéink funkcióját. BRET méréseink során beállítottuk a GST-CRIB-Rluc koncentrációját, majd felvettük az elérhető BRET hányados-értékek maximumát és minimumát (konstitutívan aktív és inaktív mutáns Rac, GTPYS-el, GDPBs-el töltött vad típusú Rac). A Rac endogén GTPáz aktivitása, valamint az ARHGAP25 hozzáadásával nyert görbék kiválóan reprodukálták az izotópos módszerrel nyert adatokat.

Az általunk fejlesztett, jelentős előnyökkel bíró (gyors, olcsó, pontos) in vitro BRET módszer alkalmas a kis G-fehérjék időbeli aktivitásának mérésére, ezáltal felválthatja a ma használt GTPáz assay-eket.

P2.2.3

A NOOTROP CENTROFENOXIN HATÁSA AZ *IN VIVO* ÖREGEDÉSI MODELLKÉNT SZOLGÁLÓ BDELLOID KEREKESFÉRGEK ÉLETKÖRÜLMÉNYEIRE

Mácsai Lilla, Kármán Zoltán, Kálmán János, Datki Zsolt

Szegedi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Pszichiátriai Klinika, Kutatólaboratórium

Bevezetés: A centrofenoxin (CPX) az egyik legrégebbi nootrop hatású szer, amely állat- és humán vonalon széleskörű vizsgálatok tárgya volt. Kutatásunk célja a CPX hatásának vizsgálata a bdelloid rotiferek (kerekesférgek) élettartamára és a populációjuk kinetikájára. A *Rotatoria* törzs tagjai mikroszkopikusak, azonban méretük ellenére komplex élőlények. Fejlett ideg-, mozgás-, reprodukciós és hormonrendszerrel rendelkeznek. Méretük, gyors ivarciklusuk, és könnyű kezelhetőségük miatt alkalmasak élettartam és öregedés vizsgálatokra.

Módszerek: A környezetünkben lévő mohapárnákból három különböző fajt izoláltunk. Egyetlen egyedből kiindulva több ezres egyedszámú tenyészeteket hoztunk létre. Vizsgáltuk a CPX stimuláló hatását az egyedek életképességére, élettartamára, a reprodukcióra, valamint protektív szerepét oxidatív stresszel szemben. A hatásmechanizmus felderítésére az acetil-kolin/kolinerg rendszer (acetilkolin-észteráz aktivitás és gátlás) területén végeztünk vizsgálatokat.

Eredmények: A *Philodina vorax* (Philodinidae) és az *Adineta steineri* (Adinetidae) fajoknál a CPX kezelés hatására szignifikánsan megnövekedett az élettartam (20-30 %-kal), azon belül is kiemelten a reprodukciós szakasz. Növekedett a populáció szaporodási rátája, továbbá fokozottabb védettséget élveztek a hidrogén-peroxid toxikus hatásával szemben. A centrofenoxin az adatok alapján önmagában nem bizonyult antioxidánsnak, de serkentő hatással bír a szervezet antioxidáns-enzimjeinek működésére, ami a kolinerg rendszerre gyakorolt stimuláló hatástól független. A kapott eredmények és jelenségek nem univerzálisak, ugyanis a *Mniobia russeola* (Philodinidae) faj egyedeinél a CPX kezelés hatástalannak bizonyult.

Megbeszélés: Eredményeink és tapasztalataink nagy biztonsággal igazolják feltevéseinket, miszerint a rotiferek sikerrel alkalmazhatóak összetettebb biológiai és élettani mechanizmusok vizsgálatára. A validált, idegrendszeri funkciókra ható CPX mérései is az mutatják, hogy alkalmazásuk tágítja az *in vivo* modellek horizontját, teret adva újszerű gyógyszervizsgálati módszerek kidolgozására.

P2.2.4

AZ ASZTROCITÁKON EXPRESSZÁLÓDÓ TRP IONCSATORNÁK VIZSGÁLATA, VALAMINT A SZEMIKARBAZID-SZENZITÍV AMINOXIDÁZ GÁTLÓ VEGYÜLET HATÁSÁNAK TANULMÁNYOZÁSA

Sághy Éva^{1,2,4}, Szőke Éva^{1,2,3}, Tóth Krisztina⁵, Környei Zsuzsanna⁵, Dénes Ádám⁵, Pintér Erika^{1,2}, Helyes Zsuzsanna^{1,2,3}

¹Pécsi Tudományegyetem ÁOK Farmakológiai és Farmakoterápiás Intézet;

²Szentágotthai János Kutatóközpont, Pécs;

³MTA-PTE Krónikus Fájdalom Kutatócsoport, Pécs;

⁴Semmelweis Egyetem, Farmakológiai és Farmakoterápiás Intézet, Budapest;

⁵MTA Kísérleti Orvostudományi Kutatóintézet, Neuroimmunológia Kutatócsoport, Budapest

Bevezetés: A Tranziens Receptor Potenciál Ankyrin 1 (TRPA1) és Vanilloid 1 (TRPV1) receptorok nem-szelektív kationcsatornák, primer szenzoros neuronokon expresszálódnak, fontos szerepet töltenek be fájdalom és gyulladáshoz kapcsolódó folyamatokban. Újabb kutatások ezen receptorok jelenlétét asztrocitákban is bizonyították [1; 2; 3]. A szemikarbazid-szenzitív aminoszulfonid (SSAO) enzim elsősorban a vaszkuláris simaizomsejtekben expresszálódik, a primer aminok oxidatív dezaminációját katalizálja. Az újonnan kifejlesztett SSAO inhibitor, az SZV-1287 képes gátolni az akut és a krónikus gyulladást. Kutatócsoportunk az SZV-1287 antagonistikus hatását bizonyította TRPA1 és TRPV1 receptorokra érzőidegsejteken [4]. Az asztrocitákban lokalizálódó TRP receptorok funkciójáról kevés irodalmi adattal rendelkezünk, ezért célul tűztük ki asztrocitákban a receptorok aktivációs/gátló mechanizmusainak, illetve az SZV-1287 hatásának vizsgálatát.

Anyag és módszer: Egér primer asztrocita kultúrán GFAP-TRPA1, illetve GFAP-TRPV1 fluoreszcens kettős jelölést végeztünk a TRP receptor expresszió bizonyítására. A sejteken TRPV1 agonista kapszaicin, TRPA1 agonista allil-izotiocianát (AITC) kezeléseket alkalmaztunk 6 illetve 24 órán keresztül, valamint a sejtek egy részén SZV-1287 előkezelést végeztünk az agonisták alkalmazása előtt. A sejtek életképességét a kezeléseket követően MTT assay vizsgálattal határoztuk meg. A kezelések hatására felszabadult citokinek (KC, IL-10, INF- γ , TNF, G-CSF, MCP-1, IL-6, IL-4, RANTES, IL-1 β , IL-1 α) mérése CBA technikával történt.

Eredmények: Immunhisztokémiai módszerrel az asztrocitákban TRPA1 és TRPV1 receptor expressziót detektáltunk. Az MTT assay nem mutatott különbséget a kezelt és a kontroll

sejtek esetében, tehát a kezelések nem csökkentették a sejtek életképességét. A 24h-s AITC és kapszaicin kezelés emelkedett KC szintet eredményezett.

Következtetés: Eredményeink alapján az asztrocita tenyészet alkalmas a TRPA1, illetve a TRPV1 receptorok további farmakológiai vizsgálatára. A 24h-s AITC és kapszaicin kezelés emelkedett KC szintet eredményezett. Ugyanezzel a CBA méréssel az SZV-1287 receptorális hatását is sikerült igazolnunk.

Támogatók: Az Emberi Erőforrások Minisztériuma ÚNKP-16-4-I. kódszámú Új Nemzeti Kiválóság Programjának támogatásával készült, Nemzeti Agykutató Program KTIA_NAP_13-2-2014-0022 MTA-PTE NAP B Krónikus Fájdalom Kutatócsoport, GINOP-2.3.2-15-2016-00050 – PEPSYS, GINOP 2.2.1-15-2016-00020 - TOXI-COOP, CRPS Grant, nemzeti agykutató program-A ktia_nap_13-1-2013-0001. Lendület Program LP2016-4/2016 (DA).

P2.2.5

NOVEL ASPECTS OF THE ENDOCANNABINOID SIGNALING IN HUMAN SEBOCYTES

Shahrazad Alimohammadi¹, József Magi¹, Arnold Markovics¹, Fanni Kinga Tóth¹, Ágnes Angyal¹, Zsófia Péntes¹, Ágnes Pór², Ilona Kovács², Christos C. Zouboulis³, Tamás Bíró^{1,4}, Attila Oláh¹

Departments of ¹Physiology and ⁴Immunology, Faculty of Medicine, University of Debrecen; ²Department of Pathology, Gyula Kenézy Hospital, Debrecen; ³Departments of Dermatology, Venereology, Allergology, and Immunology, Dessau Medical Center, Dessau, Germany

Introduction: Atopic dermatitis (AD) is one of the most prevalent human skin diseases, with a total prevalence of 10.7%. AD is a multifactorial disease; its pathogenesis includes abnormal immune responses, impairment of the epidermal lipid barrier, and a loss of diversity of the cutaneous microbiota. It is also an accepted fact that the frequently observed sebaceous gland (SG) hypoplasia and the subsequent pathological reduction of the sebaceous lipid production (SLP) in lesional skin of AD patients may also contribute to the development of the disease, mostly because appropriate SLP would be important in maintaining the physiological diversity of the cutaneous microbiota. We have previously shown that “classical” endocannabinoids (eCB) are potent autocrine/paracrine enhancers of the SLP, and that besides them, SGs produce additional, “novel” eCBs (e.g. oleoylethanolamide [OEA]) as well. Since effects of these latter substances are completely unknown in human SGs, within the confines of the current study, we aimed to assess putative biological effects of OEA by using human, immortalized SZ95 sebocytes.

Materials and methods: Viability and cell death were investigated by MTT-assay and DilC₁(5)-SYTOX Green staining, respectively. Lipid synthesis was assessed by Nile Red labeling, whereas gene expression was monitored by Q-PCR (mRNA level) and Western blot as well as immunohistochemistry (protein level).

Results: We found that the most important receptor of OEA (i.e. the recently “de-orphanized” GPR119) is expressed both at mRNA and protein levels in human sebocytes. Moreover, by

using appropriate positive and negative controls, expression of the receptor was also confirmed *in situ* in human SGs. Next, we assessed the biological effects of OEA on cultured human sebocytes. We found that up to 50 μ M, OEA did not decrease the viability and did not induce apoptotic or necrotic cell death (48h treatments). Moreover, we could also demonstrate that non-cytotoxic concentrations of OEA markedly increased SLP, and our preliminary data suggest that 50 μ M OEA was able to suppress lipopolysaccharide (LPS)-induced pro-inflammatory response. Last, but not least, we intended to unveil the mechanism of the above cellular actions. We found that lipogenic effect of OEA is most probably realized via activation of the ERK1/2 MAPK pathway, and our ongoing siRNA experiments intend to confirm or refute the role of GPR119 in mediating OEA's effects.

Conclusions: Taken together, our results strongly argue that locally produced OEA is a novel, potent, positive regulator of the SLP in human SGs. Moreover, its apparent anti-inflammatory and lipogenic effects make it a promising novel-class therapeutic agent in the management of cutaneous dryness-accompanied skin diseases, e.g. AD.

Acknowledgements:

NRDIO 120552, 121360; GINOP-2.3.2-15-2016-00015; NTP-HHTDK-16-0034.

P2.2.6

SEJTSPECIFIKUS FEHÉRJE IZOLÁLÓ RENDSZER OPTIMALIZÁLÁSA IN VIVO
JELÁTVITELI VIZSGÁLATOKHOZ

Soltész- Katona Eszter, Turu Gábor, Hunyady László

Semmelweis Egyetem, Élettani Intézet

A jelátviteli vizsgálatokat a sejtek természetes környezetében gyakran korlátozza az a tény, hogy a látott válasz a sejtek összességéből származik, és nem egy adott típusú sejtől. Például egy adott agyi területen, egymással pont ellentétesen is történhet a jelátvitel attól függően melyik sejtől van szó.

Célunk egy általunk kifejlesztett - és korábban már ismertetett – módszer, a biotin ligáz expresszió alapuló fehérje izoláló rendszer optimalizálása volt, valamint az *in vivo* vizsgálatokhoz szükséges adeno-asszociált vírus alapú transzfekciós rendszer hatékonyabbá tétele.

A korábban használt biotin ligáz és a sejtspecifikus promotereket (hSyn – neuron, GFAP – asztrocita, F4/80 – mikroglia) tartalmazó konstrukciókba egy kereskedelmi forgalomban is kapható új, kisebb méretű promiszkus biotin ligáz (BioID2) helyeztünk. A BioID2 növeli a fehérje-fehérje interakciók vizsgálatának hatékonyságát, valamint ezzel elértük, hogy az *in vivo* és az *in vitro* kísérletekben is kevesebb állandó biotin koncentrációra van szükségünk a maximális biotin jelölődéshez, amely után a fehérjéket ki tudjuk tisztítani a szövetekből, és a közeljövőben vizsgálni tudjuk nagyon pontos sejtes felbontással a szövetek működését.

A célfehérjéinket AAV vírusokkal jutattuk be a primer sejtekbe vagy újszülött egerek agyába. Az AAV vírusokat AAV HEK-293 sejtekben termeltettük, melyhez kalcium foszfát kotranszfekcióval juttatuk be a szükséges konstrukciókat. A korábban már működő AAV-DJ szerotípus mellett az irodalomban említett idegsejtek vizsgálatára egyértelműen alkalmas AAV-9, és AAV-10 szerotípusokat is alkalmaztunk. Sejtspecifikus promoterral ellátott fluoreszcens fehérjéket (mVenus, mRFP) is alkalmaztunk az egerek agykamrai injektálásának

optimalizálására.

Kísérleteinkben sikerült megvalósítani a sejtspecifikus expressziót és konstrukcióink az egér agyban is expresszálódnak.

OTKA: K116954

P2.2.7

A SZÍVIZOM KALCIUM-FÜGGŐ KLORIDÁRAMÁNAK A SZÍVRITMUSZAVAROKKAL SZEMBENI VÉDŐ SZEREPE

Szentandrassy Norbert^{1,2}, Hegyi Bence¹, Horváth Balázs^{1,3}, Váczi Krisztina¹, Gönczi Mónika^{1,4}, Dienes Beatrix¹, Kistamás Kornél¹, Veress Roland¹, Ruzsnavszky Ferenc¹, Bányász Tamás¹, Magyar János^{1,5}, Csernoch László¹, Nánási Péter^{1,2}

¹Debreceni Egyetem, ÁOK, Élettani Intézet;

²Debreceni Egyetem, FOK, Általános Orvosi Ismeretek Tanszék, Fogorvosi Élettani és Gyógyszertani Tanszék;

³Debreceni Egyetem, GYTK;

⁴MTA-TKI Fehérjedinamikai Kutatócsoport, Debreceni Egyetem, ÁOK, Biokémiai és Molekuláris Biológia Intézet;

⁵Debreceni Egyetem, ÁOK, Élettani Intézet, Sportélettani Nem Önálló Tanszék

A TMEM16A és/vagy Bestrophin-3 fehérjék által kialakított Ca^{2+} -függő Cl^- áram ($I_{\text{Cl}(\text{Ca})}$) szívritmuszavarokat okozhat, míg mások adatai szerint az áram működése antiaritmiás. A $I_{\text{Cl}(\text{Ca})}$ tényleges kamrai akciós potenciál (AP) során kialakuló mintázata viszont kevésbé ismert.

Az áram mintázata (amit 0,5 mM 9-antracén karboxilsav (9-AC)-érzékeny áramként teljes-sejt AP feszültség-clamp (APVC) technikával kutya bal kamrai sejteken mértünk) egy korai, gyors, kifelé irányuló és egy késői, befelé irányuló komponensből állt. Mindkét komponens amplitúdóját csökkentette a ryanodin, míg teljes mértékben gátolta a nifedipin és a BAPTA. 1,1 μM -os intracelluláris Ca^{2+} koncentráció csökkentette, míg az alkalmazott Bay K8644, izoproterenol (ISO) és a megnövelt ingerlési ráta növelte a $I_{\text{Cl}(\text{Ca})}$ -t. Az áram korai, gyors, kifelé irányuló komponense szubepikardiális sejteken nagyobbak adódott a szubendokardiális sejteken mérthez képest.

Hegyes mikroelektródás mérésben a 9-AC korai utódepolarizációkat (EAD) okozott lassú ingerlés alatt, melyek előfordulási gyakorisága ISO jelenlétében megnőtt. A 9-AC megnövelte az AP időtartamának rövidtávú variabilitását és csökkentette az AP első fázisának amplitúdóját. 9-AC jelenlétében fordított frekvencia-függő módon megnőtt az AP időtartama minden vizsgált sejtípusban a szubepikardiális sejteket kivéve.

Sem a teljes-sejten mért $I_{Cl(Ca)}$ denzitás, sem a TMEM16A és Bestrophin-3 fehérjék expressziója nem különbözött a bal kamra eltérő területeinek sejtjein. A TMEM16A és Bestrophin-3 kolokalizációt mutatott egymással és a $Ca_v1.2$ csatornafehérjével mind kutya, mind humán bal kamrai szívizomsejteken.

A $I_{Cl(Ca)}$ aktivációjának szükséges feltétele a szomszédos L-típusú Ca^{2+} csatornán keresztüli Ca^{2+} -belépés, míg a szarkoplazmás retikulumból történő Ca^{2+} -felszabadulás csak növeli az áramot. A $I_{Cl(Ca)}$ szívritmuszavarokkal szembeni védőhatása háttérben a térbeli és időbeli AP időtartam variabilitás és EAD képződés csökkentése állhat.

P2.2.8

A MYOTUBULÁRIS MYOPÁTHIA EGYÜTT JÁR SPONTÁN Ca^{2+} FELSZABADULÁSI ESEMÉNYEK MEGJELENÉSÉVEL HARÁNTCSÍKOLT IZOMBAN

Szentesi Péter¹, Candice Kutchukian², Ana Buj-Bello³, Vincent Jacquemond², Csernoch László¹

¹Debreceni Egyetem, ÁOK, Élettani Intézet, Debrecen;

²Claude Bernard Egyetem, NeuroMyoGène Intézet, Lyon, Franciaország;

³Généthon, Evry, Franciaország

A szarkoplazmatikus retikulumból (SR) történő kalciumfelszabadulás emlős harántcsíkolt izomban a rianodin receptorok (RyR) megnyílásakor történik, amit a (T-)tubuláris membránban található felszültség érzékelő dihydropyridin receptorok (DHPR) konformációváltozása indít el. E szoros fehérje-fehérje kapcsolat miatt a RyR spontán megnyílása nem valósul meg kifejlett emlős harántcsíkolt izomban. Ez az oka, hogy az alacsonyabb rendű gerincesek harántcsíkolt és a szívizommal ellentétben, spontán kalciumfelszabadulási események nem találhatók rajtuk. Azonban különböző kezelésekkel, mint a T-tubuláris membrán Szaponinnal történő permeabilizációjával, vagy ozmotikus shockkal kiválthatóak ilyen kalcium-események.

A foszfoinozítid 3-foszfátáz myotubularint (MTM1) kódoló gén mutációja vagy ennek teljes hiánya - utóbbi egérmodellben már létezik - myotubuláris myopathiához vezet. Ennek jellemzője a részlegesen szétesett T-tubuláris rendszer és csökkent SR-ből történő kalciumfelszabadulás. Munkánkban bemutatjuk, hogy MTM1 hiányos egerekből enzimatikusan izolált intakt felnőtt harántcsíkolt izomrojtjaiban spontán kalciumfelszabadulási események találhatóak 337 ± 53 Hz/mm² frekvenciával. Ezek az események hasonlítanak paramétereikben a korábban szaponinnal permeabilizált izomrostokon talált eseményekhez. Átlagos amplitúdójuk $1,04 \pm 0,02$, míg félérték-szélességük axiális irányban $2,15 \pm 0,02$ μ m és $1,76 \pm 0,02$ μ m transzverzális irányban. Az események a rostok kitüntetett helyein fordulnak elő, mivel az eloszlásuk nem követi az egymástól független eseményekre jellemző Poisson-eloszlást. További érdekesség, hogy

széles, úgynevezett „protoplatycurtic”, és tovaterjedő események voltak megfigyelhetőek, ami arra utal, hogy nem csak egy funkcionális egységbe tartozó néhány RyR aktiválódott egy időben, hanem szomszédos funkcionális egységek is szinkronizáltan aktiválódtak. Ezek az eredmények azt bizonyítják, hogy az MTM1 gén hiánya és az e miatt kialakuló T-tubuláris rendszerbeli és SR membránbeli változások abnormálisan aktiválódó RyR-okat eredményeznek, ami megmagyarázhatja a lecsökkent SR-ből történő kalciumfelszabadulást és hozzájárulhat a patológiás elváltozásokhoz.

P2.2.9

G-FEHÉRJE KAPCSOLT RECEPTOROK ARRESZTIN KÖTÉSÉNEK PREDIKCIÓJA

Turu Gábor, Tóth András, Aczél Dóra, Hunyady László

Semmelweis Egyetem Élettani Intézet, Budapest

A G-fehérje kapcsolt receptorok (GFKR) béta-arresztint kötnek a foszforilált C-terminálisukon keresztül. Egyes receptorok stabilan kötik a fehérjét (B osztály), míg mások csak átmenetileg a plazmamembrán közelében (A osztály). Az irodalmi adatok alapján összeállítottunk egy közel 100 receptorból álló adatbázist, melyekről ismert a béta-arresztin kötés erőssége, és gépi tanulás algoritmus alapján kíséreltük prediktálni, hogy azok melyik osztályba tartoznak. A tréninghez a receptorok C-terminálisában található szerin és treonin aminosavmintázatait használtuk. Egyszerű logisztikus regressziós modell felhasználásával azonosítottuk a legjobb predikciós értékkel rendelkező aminosavmintázatokat, amelyekkel 90% közeli pontossággal prediktálható az interakció típusa. A következőkben az összes Ensembl adatbázisban található GFKR C-terminális szerin/treonin aminosavat érintő missense mutánst megvizsgáltuk és számos osztályváltást eredményező találatot kaptunk. Validáláshoz a béta-arresztin kötés szempontjából jól jellemzett V2-es vazopresszin receptort választottuk. A S357P, T360A and S363P mutánsok esetében csökkent béta-arresztin kötést prediktáltunk, míg T359I mutáció esetében változatlan interakciót. Biolumineszcens energiatranszfer méréssel a S357P, T360A and S363P konstruktok csökkent interakciót mutáltak, konfokális mikroszkóppal megvizsgálva pedig a T360A and S363P mutánsok bizonyultak A osztályba tartozónak. A T359I mutáció nem változtatta meg a béta-arresztin kötés mértékét és a vad típusú receptorhoz hasonlóan B osztályba sorolható.

Az eredményeink azt mutatják, hogy a receptor-béta-arresztin interakció erőssége specifikus szerin/treonin mintázatoktól függ és megjósolható gépi tanulás módszerével.

P2.2.10

HOGYAN HAT A CITOSZOL KALCIUMSZINTJE A KORAI UTÓDEPOLARIZÁCIÓK KIALAKULÁSÁRA?

Veress Roland¹, Horváth Balázs^{1,2}, Baranyai Dóra¹, Szentandrassy Norbert^{1,3}, Bányász Tamás¹, Magyar János^{1,4}, Nánási Péter Pál¹

¹Debreceni Egyetem, ÁOK, Élettani Intézet;

²Debreceni Egyetem, GYTK;

³Debreceni Egyetem, FOK, Fogorvosi Élettani és Gyógyszertani Tanszék;

⁴Debreceni Egyetem, ÁOK, Élettani Intézet, Sportélettani Nem Önálló Tanszék

Kísérleteink célja annak meghatározása volt, hogy a citoszol kalciumkoncentrációjának ($[Ca^{2+}]_i$) változásai milyen hatást gyakorolnak az akciós potenciál (AP) hosszára, illetve a korai utódepolarizációk (EAD) kialakulására. Méréseinkhez ivarérett kutyák szívének bal kamrájából izolált szívizomsejteket használtunk.

Az izolált sejtek akciós potenciáljait (AP) hagyományos mikroelektróda technikával rögzítettük, és ezzel párhuzamosan a $[Ca^{2+}]_i$ változásainak követésére Fura-2 fluoreszcens festéket használtunk. Korai utódepolarizációkat 0,2 Hz-es ingerlési frekvencián a késői egyenirányító káliumáram gátlásával (dofetilid), a késői nátriumáram aktiválásával (veratridin), illetve az L-típusú kalciumáram aktiválásával (Bay K8644) váltottunk ki.

Ezek a farmakológiai beavatkozások az akciós potenciál fokozatos megnyújtásával és az akciós potenciál hossz rövidtávú variabilitásának megnövelésével párhuzamosan korai utódepolarizációkat eredményeztek. 1 Hz-es ingerlési frekvencián a membránpermeábilis kalciumkelátor BAPTA-AM alkalmazására bekövetkező $[Ca^{2+}]_i$ csökkenés megnyújtotta az akciós potenciált veratridin és Bay K8644 jelenlétében. Ugyanakkor ha a sejteket dofetiliddel kezeltük, a BAPTA-AM rövidítette az akciós potenciált. A dofetiliddel és veratridinnel kiváltott korai utódepolarizációk gyakoriságát a BAPTA-AM szignifikánsan

csökkentette, míg a Bay K8644 alkalmazása során jelentkező utódepolarizációk száma megnőtt a kalciumkelátor hatására.

Eredményeink alapján a $[Ca^{2+}]_i$ jelentős hatást fejt ki az akciós potenciál hosszára és a korai utódepolarizációk előfordulására is. A hatásmechanizmus azonban eltérő lehet attól függően, hogy az utódepolarizációt milyen ok váltja ki. Emiatt a sejten belüli kalciumszint csökkentése révén a korai utódepolarizációk nem védhetőek ki minden kísérleti elrendezésben.

Támogatás: GINOP-2.3.2-15-2016-00040

P2.3.1

DIPEPTIDYL PEPTIDASE-4 INHIBITOR MEDIATED CARDIOPROTECTION AGAINST ISCHEMIA REPERFUSION INJURY: ROLE OF NOS AND TRPC1

Amin Al-awar¹, Nikoletta Almási¹, Török Szilvia¹, Renata Szábo¹, Anikó Pósa¹, Csaba Varga¹, Krisztina Kupai¹

¹Szeged University, Faculty of Science and Informatics, Department of Physiology, Anatomy and Neuroscience

Introduction: Dipeptidyl peptidase-4 (DPP4), is an enzyme that cleaves and inactivates incretin hormones. DPP4 inhibitors such as sitagliptin were found to exert cardioprotection against I/R injury in non-diabetic animals. Thus, the aim of the present study was to reveal the cardioprotective mechanisms exerted by sitagliptin in rat isolated I/R heart model.

Methods: Male wistar rats were divided into following groups: Control (saline) and Sitagliptin (Sitg: 25mg, 50mg, 100mg, and 150mg/kg/day), and subjected to 2 weeks oral treatment. Hearts were assigned to 2 IR- injury protocols: 10 min perfusion, 45 min regional ischemia, and 1) 2 hrs or 2) 10 min reperfusion, for infarct size and biochemical measurements respectively. Following parameters were measured: 1) NOS activity, 2) serum triglyceride and cholesterol levels, and 3) TRPC1 protein expression. In separate experiments, NOS inhibitor (25mg/kg/day, i.p) was injected in parallel with sitagliptin to clarify the role of NOS in DPP4 inhibition- induced cardioprotection.

Results: Dose- response data revealed a significant decrease in infarct size in the 50mg sitg treated group compared to control (23 ± 3.34 vs. 37.45 ± 2.73 %). Western blot analysis of TRPC1 showed significant increase in protein expression between 50mg sitg and

control groups (408.12 ± 83.93 vs. 129.38 ± 38.58). No significant change was shown in triglyceride and cholesterol levels between sitagliptin treated groups and control group, while total NOS activity increased significantly in the 50mg sitg group compared to control (210.6 ± 58.57 vs. 77.48 ± 15.67). The co-treatment of sitagliptin with NOS inhibitor abolished its cardioprotective effect of DPP4 inhibition (Control: 37.45 ± 2.73 ; 50mg: 23 ± 3.34 ; 50mg+L-NAME: 36.99 ± 3.82 %).

Conclusion: We hypothesized that the synergistic effect of NO production and TRPC1 modulation could contribute in dipeptidyl peptidase-4 (DPP4) inhibition- mediated cardioprotection.

P2.3.2

DOXYCYCLIN KEZELÉS HATÁSA ÉS A MÁTRIX METALLOPROTEINÁZOK SZEREPE KRÓNIKUS OBSTRUKTÍV TÜDŐBETEGSÉG DOHÁNYFÜSTTEL KIVÁLTOTT KOMORBIDITÁS EGÉRMODELLJÉBEN

Csekő Kata^{1,5}, Kemény Ágnes^{1,5}, Szőke Éva^{1,5}, Nagy Csilla⁶, Bencsik Péter^{7,8}, Kiss Krisztina⁷, Halmosi Róbert^{5,9}, Deres László^{5,9}, Erős Krisztián^{4,5,9}, Perkecz Anikó¹, Kereskai László³, Kiss Tamás⁵, Ferdinandy Péter^{6,8}, Helyes Zsuzsanna^{1,2,5,10}

PTE-ÁOK ¹Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet, ²MTA-PTE NAP B Krónikus Fájdalom Kutatócsoport, ³Pathologiai Intézet, és ⁴Biokémiai és Orvosi Kémiai Intézet; ⁵PTE Szentágothai János Kutatóközpont, Pécs;

⁶SE-ÁOK Farmakológiai és Farmakoterápiás Intézet, Kardiometabolikus Kutatócsoport, Budapest;

⁷SZTE-ÁOK, Biokémiai Intézet, Kardiovaszkuláris Kutatócsoport, Szeged,

⁸Pharmahungary, Szeged;

⁹PTE Klinikai Központ, I. számú Belgyógyászati Klinika, Pécs;

¹⁰PharmInVivo Ltd, Pécs

A dohányfüsttel kiváltott gyulladás és a következményes szövetkárosodás meghatározó szerepet játszik a krónikus obstruktív tüdőbetegség (COPD) patogenezisében. A mátrix metalloproteinázok (MMP) szerepét a krónikus gyulladáshoz kapcsolódó kaszkádokban és a tüdő strukturális károsodásban számos adat igazolja, azonban a dohányzás/COPD során jelentkező szívfunkció romlásban betöltött szerepük tisztázatlan. Beállítottunk és karakterizáltunk egy kórélettani mechanizmusok komplex vizsgálatára alkalmas krónikus egérmodellt, amelyben a tüdőben MMP-2 és -9 aktivitásemelkedést mutattunk ki. Jelen kísérletekben ezek funkcionális jelentőségét vizsgáltuk ebben a modellben.

Hím C57Bl/6J egereket teljes test dohányfüst expozíciónak tettünk ki heti 10x30percig, 6 hónapon keresztül. Az MMP-k szerepének tisztázására egyes csoportokat az ivóvízbe kevert nem-szelektív MMP gátló doxycyclinnel kezeltük (szubantimikrobás dózis: 0,5mg/ml), a szérum doxycyclin koncentrációját HPLC-vel határoztuk meg. A légzésfunkciót invazív teljes test pletizmográffal, a szívfunkciót echocardiográfiával, az MMP aktivitást zselatin zimográfiával vizsgáltuk szív és tüdő homogenizátumokból a 3. és a 6. hó végén.

Hat hónapos dohányoztatás alatt a tüdőben az MMP-2 és -9 aktivitás szignifikánsan emelkedett, azonban a szív MMP-2 aktivitása nem változott. A doxycyclin (az egerplazmából mért 50-200 ng/ml koncentráció-tartományban) *in vitro* a tüdőhomogenizátumokban szignifikánsan csökkentette az MMP-9 aktivitást, azonban a tüdő- és szívizom-homogenizátumokban nem befolyásolta az MMP-2 aktivitást. A krónikus dohányzás hatására szignifikánsan romlott a tüdő légúti ellenállása és kilégzésvégi munkáját, valamint szisztolés és diasztolés diszfunkció jött létre, amely funkcionális károsodásokat a doxycyclin folyamatos adása kivédett.

A szubantimikrobás dózisu doxycyclin kezelés gátolja a dohányzás hatására kialakuló tüdő- és szívfunkció-károsodásokat. Ebben a tüdő MMP-9 gátlása szerepet játszik, azonban a szívben a protektív hatás valószínűleg nem az MMP-2 gátlásának, hanem egyéb mechanizmusoknak köszönhető.

Támogatás: GINOP-2.3.2-15-2016-00048, GINOP-2.3.2-15-2016-00050, TÉT_15_IN-1-2016-0068

P2.3.3

CARDIOVASCULAR EFFECTS OF LOW- AND HIGH-DOSE BETA-CAROTENE TREATMENT IN ZUCKER OBESE RATS

Evelin Csepanyi^{1,2}, Attila Czompa¹, Peter Szabados-Furjesi^{1,2}, Istvan Lekli¹, Arpad Tosaki¹, Istvan Bak^{1,2}

¹Department of Pharmacology, Faculty of Pharmacy, University of Debrecen;

²Department of Bioanalytical Chemistry, Faculty of Pharmacy, University of Debrecen

Introduction: Nowadays there is a growing interest in the components of plants as potential pharmaceutical raw materials. Among these beta-carotene is one of most intensively studied compound. Numerous clinical studies have examined the cardiovascular effects of it, but the results are quite contradictory. Beta-carotene could function as an antioxidant, however, many evidence show that it can act as pro-oxidant under increased oxidative circumstances. In the present study we investigated the cardiovascular effects of long-term, low and high dose beta-carotene treatment in hearts isolated from Zucker obese rats.

Methods: The animals were treated with a daily dose of 30 and 150 mg/kg beta-carotene for 4 weeks. Before, at the 2nd and 4th week of treatment oral glucose tolerance tests were carried out. After the treatment period, hearts were isolated, mounted on a "working-heart" apparatus and subjected to 30 min of global ischemia and 120 min of reperfusion. During the measurements heart function was registered. Finally infarcted area and HO-1 enzyme levels of the hearts were determined.

Results: The glucose tolerance tests showed dose-independent reduction in blood glucose level. Furthermore, low dose treatment resulted in a significant increase in postischemic

cardiac function, which was followed by decreased infarcted area. Moreover, high-dose beta-carotene treatment significantly increased the level of HO-1 in hearts subjected to ischemia/reperfusion. Interestingly, the observed cardioprotective effects are disappeared in case of high dose treatment, in spite of increased HO-1 level.

Conclusion: The observed controversial effects would be the result of formation of harmful oxidative products of beta-carotene during reperfusion.

Acknowledgements: 'National Excellence Program': TÁMOP-4.2.4.A/2-11/1-2012-0001, GINOP-2.3.2-15-2016-00043,

P2.3.4

A FRANK-STARLING MECHANIZMUS SZEREPE A FREKVENCIA-FÜGGŐ CORONARIAÁRAMLÁS-NÖVEKEDÉS KIALAKULÁSÁBAN LANGENDORFF-PERFUNDÁLT TENGERIMALAC SZÍVBEN

Csertő Dóra¹, Csavajda Ádám¹, Csík Norbert², Takács Hedvig¹, Kui Péter³, Varró András³, Farkas Attila¹, Farkas András¹

¹SZTE-ÁOK, II. sz. Belgyógyászati Klinika és Kardiológiai Központ, Szeged

²Pallasz Athéné Egyetem, GAMF Műszaki és Informatikai Kar, Informatika Tanszék, Kecskemét

³SZTE-ÁOK, Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet, Szeged

Bevezetés: Korábbi vizsgálatunkban bizonyítottuk, hogy Langendorff-perfundált izolált szívben a szívfrekvencia növekedésekor növekszik a coronaria erek perfundált és nem perfundált időszakának aránya, mely szerepet játszik a szívfrekvencia-függő coronariaáramlás-növekedés létrejöttében. Jelen munkánkban megvizsgáltuk a jelenség mechanizmusát, azaz, hogy a frekvencia-függő coronariaáramlás-növekedés létrejöttében szerepet játszik-e a Frank-Starling mechanizmus Langendorff-perfundált szívben.

Anyag és módszer: Langendorff szerint állandó oszlopnnyomással perfundált, izolált tengerimalac szívben regisztráltuk az EKG-t, a bal kamrai nyomást, az aortában mért perfúziós oszlopnnyomást, és a 'real-time' módon mért aortaáramlást. Meghatároztuk a coronariaáramlást és a szívfrekvenciát, és szívciklusonként a bal kamrai nyomásgörbe paramétereit, valamint a bal kamra által az aorta csonkba ejektált folyadék térfogatát, mely megegyezik a bal kamrát feltöltő folyadék térfogatával. A szívfrekvenciák alapján a szíveket egy alacsony (<235 ütés/perc; n=11) és egy magas (>235 ütés/perc; n=10) szívfrekvenciájú

csoporthoz soroltuk.

Eredmények: A magas szívfrekvenciájú csoportban szignifikánsan magasabb volt a coronariaáramlás, mint az alacsony szívfrekvenciájú csoportban ($8,7 \pm 1,9$ vs. $6,8 \pm 1,8$ ml/perc/g). A magas szívfrekvenciájú csoportban tendenciaszerűen kisebb volt a bal kamrát ciklusonként feltöltő folyadék térfogat, mint az alacsony frekvenciájú csoportban ($5,5 \pm 1,2$ μ l vs. $6,9 \pm 1,5$ μ l). A magas szívfrekvenciájú csoportban az alacsony frekvenciájú csoporthoz viszonyítva alacsonyabb volt a szív ciklusonként mért bal kamrai csúcsnyomás ($68,8 \pm 0,7$ Hgmm vs. $72,8 \pm 2,0$ Hgmm, $p=0,076$), átlagnyomás ($41,5 \pm 0,6$ Hgmm vs. $43,4 \pm 1,4$ Hgmm, $p=0,062$), a bal kamrai nyomásgörbe alatti terület ($6,8 \pm 0,2$ Hgmm s vs. $7,7 \pm 0,2$ Hgmm s; $p<0,05$), és az az időtartam, amíg a bal kamrai nyomás meghaladta a standard perfúziós oszlopnyomást a systole alatt (34 ± 4 ms vs. 51 ± 4 ms; $p<0,05$).

Következtetés: Állandó nyomással perfundált, izolált szívben magasabb frekvencián csökken a bal kamrai telődés, és a bal kamrai nyomásgörbe megkisebbedik. Emiatt a bal kamrai nyomás rövidebb ideig haladja meg a perfúziós oszlopnyomást, azaz rövidül a nem perfundált időszak hossza. Ez alapján a Frank-Starling mechanizmus szerepet játszik a szívfrekvencia-függő coronariaáramlás-növekedés létrejöttében Langendorff-perfundált szívben.

P2.3.5

POSSIBLE CONNECTION BETWEEN HEME-OXYGENASE-1/CO SYSTEM AND AUTOPHAGY IN CARDIOMYOCYTES

Istvan Lekli, Alexandra Gyongyosi, Kitti Szoke, Attila Czompa, Istvan Bak, Arpad Tosaki
Debreceni Egyetem, Gyógyszerésztudományi Kar, Gyógyszerhatástani tanszék

Several groups have demonstrated that separately the increased activity of heme-oxygenase-1/CO system and autophagy could protect the myocardium against ischemic events. However, it is still not clear whether a connection between HO-1/CO system and autophagy processes exists in the myocardium.

In the current study we aimed to examine the possible connection between the two systems. H9c2 cardiomyoblast cells were treated with different doses of hemin or cobalt-protoporphyrin IX (CoPPiX) or vehicle (20mM NaOH solution) for 24-h. After the treatment of the cells cytotoxicity was measured by MTT assay. Furthermore, staining was carried out to determine the alterations in cell size. To study the autophagic process CytoID staining was carried out and cells were studied by fluorescence microscope. Moreover, Western blot analysis was performed to analyse the level of HO-1, certain autophagy related proteins and apoptosis markers.

We have detected a slight decrement in cell viability in the hemin and CoPPIX treated groups, respectively, which may indicate a toxic effect of high concentration of heme-oxygenase-1 inducers. The cell size did not alter. As it was expected a robust induction of HO-1 were detected with both of inducer. An enhanced number of autophagosome were detected by CytoID staining, and elevated level of LC3B-II was found in the highest hemin and CoPPIX treated groups.

Taken together, our results show that, there is a connection between HO-1/CO system and autophagy process, but further experiments needs to be carried out to precisely understand the nature of the connection.

Acknowledgments: OTKA PD 111794, 'National Excellence Program': TÁMOP-4.2.4.A/2-11/1-2012-0001, NTP-NFTÖ-16, GINOP-2.3.2-15-2016-00043.

P2.3.6

HOSSZÚ TÁVÚ INTENZÍV FIZIKAI TERHELÉS HATÁSA A KUTYA SZÍVIZOM STRUKTURÁLIS ÉS ELEKTROMOS TEVÉKENYSÉGÉRE

Polyák Alexandra¹, Farkas András¹, Morvay Nikolett², Ágoston Gergely³, Varga Albert³, Leprán István², Baczkó István², Varró András², Farkas Attila¹

¹SZTE ÁOK II. sz. Belgyógyászati Klinika és Kardiológiai Központ;

²SZTE ÁOK Farmakológiai és Farmakoterápiái Intézet;

³SZTE ÁOK Családorvosi Intézet és Rendelő

Bevezetés: A hirtelen sportolói halálesetek egy jelentős részében a kiváltó ok pontosan nem ismert. Feltételezésünk szerint az ismert strukturális elváltozások mellett funkcionális okok (pl. a repolarizációs tartalék csökkenése) is vezethetnek életveszélyes kamrai ritmuszavarok kialakulásához. Jelen munkánkban a hosszú távú intenzív fizikai terhelés hatását vizsgáltuk a kutya szívizom elektromos tevékenységére.

Módszerek: Munkánkban azonos méretű keverék kutyákat randomizáltan 'Pihenő', 'Futó' és 'Dopping' csoportba soroltunk (n=2). Az utóbbi két csoportot 16 héten keresztül futópádon edzettük. A doppingolt állatokat időszakosan tesztoszteron-undecanoáttal kezeltük. Szívultrahang és nyugalmi EKG vizsgálatokat végeztünk. A 0. és 16. héten az ismert kálium csatorna gátló (IKr) dofetilid (35µg/kg iv.) adása mellett vizsgáltuk a proaritmia iránti

érzékenységet. Paraszimpatikus idegrendszeri gátlás mellett (0.04mg/kg atropin-szulfát iv.) vizsgáltuk az autonóm idegrendszeri változásokat.

Eredmények: A szívtultrahang-vizsgálat nem mutatott érdemi változást a kiindulási értékekhez képest egyik csoportban sem. A nyugalmi szívfrekvencia kismértékben csökkent a tréningezett csoportokban. A dofetilid QTc szakaszt nyújtó hatása tendenciaszerű növekedést mutatott a 'Futó' és 'Dopping' csoportokban a 'Pihenő' csoporthoz képest (252.8 ± 13.2 és 251.8 ± 14.6 vs. 221.8 ± 0.8 ms). Az atropin a 'Futó' és 'Dopping' csoportokban kisebb mértékben növelte a szívfrekvenciát (127.6 ± 11.9 és 135.9 ± 0.9 vs. 166.1 ± 13.5).

Megbeszélés: Részeredményeink alapján a megnyúlt repolarizációs paraméterek a modell aritmiák iránti érzékenységet növelhetik, melynek bizonyításához további kísérletek szükségesek. A tartós terhelés hatására lecsökkent nyugalmi szívfrekvencia a sportszívre jellemző élettani válasz. A fokozott paraszimpatikus tónus a terhelés autonóm idegrendszerre kifejtett hatásait mutatja. A szívomorfológiai változások megítélése további vizsgálatok elvégzését indokolja.

Támogatók: AZ EMBERI ERŐFORRÁSOK MINISZTERIUMA ÚNKP-16-4 KÓDSZÁMÚ ÚJ NEMZETI KIVÁLÓSÁG PROGRAMJÁNAK TÁMOGATÁSÁVAL KÉSZÜLT.

P2.3.7

A SZABADIDŐS TESTMOZGÁS HATÁSA A MIOKARDIÁLIS FUNKCIÓVÁLTOZÁSRA IDŐSKORÚ PATKÁNYOKBAN

Pósa Anikó¹, Szabó Renáta¹, Kupai Krisztina¹, Karácsonyi Zoltán², Juhász Béla³, Varga Csaba¹

¹Szegedi Tudományegyetem, Természettudományi és Informatikai Kar, Élettani, Szervezettani és Idegtudományi Tanszék;

²Debreceni Egyetem, OEC, ÁOK, Ortopédiai Tanszék;

³Debreceni Egyetem, OEC, ÁOK, Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet

Bevezetés: Az öregedési folyamattal összefüggő strukturális és funkcionális változások ismerete javíthatja a rizikóbecslést, a megfelelő terápiás eszköz megválasztásával befolyásolható a kardiovaszkuláris öregedés.

Anyag és Módszer: Munkánkhoz 12 hónapos, idős nőtény és hím Wistar patkányokat használtunk, melyeket futó és nem-futó csoportokra osztottuk. 12 hetes kísérleti periódust követően szívtultrahangos méréseket végeztünk, meghatároztuk a bal kamrai (BK) és jobb kamrai (JK) funkcionális paramétereket, valamint iszkémia/reperfúziót követően az infarktuszus területek arányát *ex vivo*.

Eredmények: A testmozgást végző, idős nőtény és hím állatoknál a BK frakcionális rövidülése (FS) és ejekciós frakciója (EF) szignifikáns növekedést mutatott a testmozgást nem végző csoportokhoz viszonyítva. Szignifikánsan magasabb értékeket tapasztaltunk a futó nőtény és nem-futó csoportok közötti mitrális anulus szisztolés sebesség (MAPSE)

eredményében. Mindkét nem esetében az E/A arány szignifikánsan növekedett testmozgás következtében, míg az isovolumetriás relaxációs idő (IVRT) és a Tei-index csökkent. Az E'/A' és az E/E' hányados a hím futó állatoknál emelkedett. A JK vizsgálata során a testmozgást végző, nőtény állatok diasztolés funkciójának javulását tapasztaltuk. Futás hatására mérséklődött az infarktusos terület aránya.

Következtetés: A szabadidős testmozgás a szisztolés és diasztolés funkciók javításával, valamint az infarktusos terület arányának csökkentésével potenciális terápiás megoldást jelenthet az öregedési folyamatokat kísérő funkcionális elváltozásokra.

A projekt az Emberi Erőforrások Minisztériuma ÚNKP-ÚNKP-16-4 (Pósa Anikó) és ÚNKP-ÚNKP-16-3 (Szabó Renáta) kódszámú Új Nemzeti Kiválóság Programjának, valamint a GINOP-2.3.2-15-2016-0062 pályázat támogatásával készült.

P2.3.8

POSSIBLE CONNECTION BETWEEN THE ANTI-AGING KLOTHO PROTEIN AND AUTOPHAGY

Kitti Szőke, Attila Czompa, Alexandra Gyongyosi, , Istvan Lekli, Arpad Tosaki

University of Debrecen, Department of Pharmacology

Background and aims: According to the WHO, the average age of the population is increasing. Age is considered as main risk factor for the common diseases including cardiovascular disease and cancer in the developed countries. Several studies show that autophagy plays an important role in aging. Numerous studies revealed that autophagy decreases with aging. In this study we have investigated the connection between autophagic process and the level of klotho protein.

Material and methods: To induce the klotho protein aged mice (2 years old) were treated with intraperitoneal injection of rapamycin (1mg/bwkg) weekly for 12 weeks. We have monitored the body weight during the treatment. Thereafter the organs were isolated. The expression levels of anti-aging klotho protein and autophagic, apoptotic proteins such as LC3B-II and p62 were evaluated by Western blot. Furthermore, we have also visualized the immunohistochemical localization of klotho protein in the different organs.

Results: We have noticed decreased lifespan and body weight at the control group compared to mice exposed to rapamycin, where the extended lifespan suggests that klotho functions as an anti-aging protein. We have investigated that the expression level of the klotho increased in most of the organs, especially in the kidney. Furthermore, a decreased p62 protein level was found in the treated group, which is involved in the regulation of apoptosis and autophagy.

Conclusion: Taken together our results suggest that in case of rapamycin induced klotho protein autophagy is increasing, which may help to reduce damaged protein organelles.

Acknowledgements: OTKA-PD-111794, TÁMOP 4.2.4 A/2-11-1-2012-0001, GINOP-2.3.2-15-2016-00043

P2.3.9

POTENTIAL CARDIOPROTECTIVE ROLE OF PACAP IN HEART FAILURE PATIENTS

Andrea Tamas¹, Dora Szabo², , Dora Reglodi¹, Balazs Gaszner², Attila Konyi², Jozsef Nemeth³; Beata Lelesz³, Reka Anna Vass¹, Zsolt Sarszegi²

¹Department of Anatomy, University of Pecs;

²Heart Institute, University Pecs;

³Department of Pharmacology and Pharmacotherapy, University of Debrecen

Pituitary adenylate cyclase activating polypeptide (PACAP) is a pleiotropic and multifunctional neuropeptide having cardioprotective effects in vitro and in various animal models. However, few data are available on PACAP in human cardiac tissues and its role in the pathomechanism and progression of different cardiac disorders particularly heart failure. We assumed that there may be a significant correlation between PACAP and the severity of heart failure. We investigated serum levels of PACAP in patients with chronic heart failure caused by primer dilated cardiomyopathy or ischemic cardiomyopathy. N-terminal prohormone of brain natriuretic peptide (NT-proBNP) and ejection fraction were determined and the New York Heart Association (NYHA) classification was used to characterize the severity of heart failure.

In the group of mild heart failure patients (NT-proBNP < 500 pg/ml, NYHA I.) a significant ($p=0.039$) strong negative connection ($\beta= - 0.83$) and correlation ($r= - 0.8$) was detected. Furthermore, in the moderate heart failure group (NT-proBNP = 500-3000 pg/ml, NYHA II-III.) we found a significant ($p=0.021$) moderate negative correlation ($r= - 0.6$) and an important negative connection ($\beta= - 0.57$) between PACAP and NT-proBNP levels only in ischemic subgroup. Positive correlation was found between serum PACAP level and ejection fraction ($r=0.37$) only in patients with heart failure due to ischemic cardiomyopathy but not in patients with primary dilated cardiomyopathy.

In summary, remarkable differences were observed between the ischemic and non-ischemic heart failure suggesting that PACAP might play an important role in the pathomechanism and progression of ischemic heart failure and it might be a potential biomarker of cardiac diseases in the future.

This study was supported by the following grants: NKFIH K119759, K104987, Bolyai Janos Scholarship, UNKP-16-4-IV. New National Excellence Program of the Ministry of Human Capacities, Hungarian National Office for Research and Technology (AGR-PIAC-13-1-2013-0008), GINOP-2.3.2-15-2016-00050, AOK KA Research Grant.

P2.4.1

MODERNKORI INFORMATIKA A LÁTÁSSZŰRÉS SZOLGÁLATÁBAN

Guth Kitti^{1,2}, Budai Anna², Mikó-Baráth Eszter², Szabó István², Jandó Gábor²

¹Pécsi Tudományegyetem, Egészségtudományi Kar;

²Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Élettani Intézet

Az amblyopia (tompalátás), egy olyan látásfejlődési zavar, melyben a domináns szem végzi a látásfunkció nagy részét, míg a tompalátó szem látóélessége gyengébb, többé-kevésbé elnyomott állapotban van. A kórkép korai, még gyermekkorban történő felismerése kiemelt fontosságú, hiszen a látórendszer kritikus érési periódusának lezárulta után ritka az eredményes kezelés. Az amblyopia a sztereolátást (kétszemes térlátást) lehetetlenné teszi, így ennek vizsgálata jó diagnosztikai eszköznek bizonyult. A korábban alkalmazott random pont sztereotesztben ún. Snellen-E optotípeket használtunk (RDS-E), vagyis a véletlenszerű pontokból álló háttéren különböző orientációjú, diszparitással rendelkező E betűket jelenítettünk meg. A teszt szabad szemmel kivehető mintázatot nem tartalmaz, az ábrák csak 3D (piros-kék ill. magenta-zöld szűrőjű) szemüveg segítségével, csak ép térlátás mellett ismerhetők fel.

Kutatásunk aktuális célja egy olyan web alapú applikáció fejlesztése, melyben a gyermekek számára érdekes figurák jelennek meg és amellyel számítógépen, tableten, de akár

okostelefonon is kivitelezhető a látásszűrés. Jelen kutatási fázisban az esetleges monokuláris artefaktok felderítése és a vörös-zöld szemüveggel való felismerhetőség tesztelése a cél. Monokuláris artefaktok jelenléte ugyanis megkérdőjelezné a módszer alkalmazhatóságát. A teszteléséhez három különböző denzitásban (2, 10 és 50%) használtuk az RDS-E-t önkéntes alanyokon. Az RDS-E statikus és dinamikus módon került megjelenítésre. A vizsgált alanyok találati aránya a denzitással pozitív korrelációt mutatott. A dinamikus ábrák felismerhetősége általában jobb volt, mint a statikusaké. A legnagyobb pontsűrűségű képeknél (50%) mindkét módban már 100%-os találati arányt mérhettünk. Statisztikailag kimutatható monokuláris artefaktokat nem találtunk, de egyes alanyok random találati arány fölött teljesítettek, melynek okát a jövőben vizsgáljuk.

Támogatás: KTIA_NAP_13-1-2013-0001.

P2.4.2

AZ LCA HATÁSA AZ OXIDATÍV STRESSZ FOLYAMATAIRA EMLŐTUMOR SEJTEKBEN

Kovács Patrik, Mikó Edit, Vida András, Kovács Tünde, Sári Zsanett, Újlaki Gyula, Bai Péter

MTA-DE Lendület Sejtmetabolizmus kutatócsoport, Orvosi Vegytani Intézet, Debreceni Egyetem, ÁOK

A tumoros transzformációt jellegzetes biokémiai változások kísérik, amelyeket angolul „hallmarks of cancer”-ként ismerünk. A tumorsejteket reaktív (oxigén) specieszek elleni védetség jellemzi. Az NRF2 (Nuclear factor erythroid 2-related factor 2) gén a sejtek védekező rendszerének egyik fontos komponense. Oxidatív stressz hatására az NRF2 a citoszolból sejtmagba kerülve számos, a sejt védekező rendszerében fontos gén transzkripcióját indítja el.

Kísérleteimben kimutattam, hogy egy másodlagos epesav, a litokólsav (LCA), csökkenti a NRF2 gén kifejeződését 4T1 egér és MCF7 humán emlőtumor sejtekben. Vizsgálom LCA

hatására az NRF2 fehérje sejten belüli lokalizációját, valamint egyéb antioxidánsok és az NRF2 célgénjeinek kifejeződését is RNS szinten RT-qPCR technikával. Tanulmányozom az emlőtumor sejtekben az LCA hatását a szuperoxid termelésre, hydroethidine fluoreszcencia mérésén keresztül áramlási citométerrel, valamint a lipidperoxidációra TBARS assay és 4-HNE detektálásán keresztül Western blot technika segítségével. Eredményeim azt mutatják, hogy az LCA növeli a szuperoxid termelést és a lipidperoxidációt is az emlőtumor sejtekben. Mindezekből arra következtetünk, hogy az LCA fontos szerepet tölt be az oxidatív stressz folyamataiban ezekben a tumorsejtekben.

Munkánkat támogatta: NKFIH K108308, GINOP-2.3.2-15-2016-00006 , GINOP-2.3.3-15-2016-00021

P2.4.3

BIOGÉN AMINOK HATÁSA EMLŐTUMOR SEJTEKRE

Kovács Tünde¹, Mikó Edit^{1,2}, Vida András^{1,2}, Boratkó Anita¹, James J. Goedert³, Bay Péter^{1,2,4}

¹Orvosi Vegytani Intézet, Debreceni Egyetem, ÁOK;

²MTA-DE Lendület Sejtmetabolizmus kutatócsoport, Debreceni Egyetem, ÁOK;

³National Cancer Institute, National Institutes of Health, Bethesda, 20982 MD, USA;

⁴Molekuláris Medicina Kutatóközpont, Debreceni Egyetem, ÁOK

Az emberi testben élő mikróbák szoros kapcsolatban állnak a gazdaszervezettel. Mivel ez a kapcsolat kétirányú, ezért a mikrobiomban bekövetkező változások kihatnak az egész szervezetre. Megváltozhat a mikrobiom összetétele, így az általuk termelt másodlagos epesavak, rövid szénláncú zsírsavak, biogén aminok, emésztési metabolitok, szteroidok aránya is eltolódhat. Ez a változás előidézhethet bélgyulladást, mentális elváltozásokat, metabolikus betegségeket (elhízás, inzulin rezisztencia, II típusú diabétesz), amelyek összefüggést mutatnak különböző tumorok kialakulásával.

Munkámban biogén aminok hatását vizsgáltam különböző eredetű emlőtumor sejtvonalakon. A biogén aminok (putrescin, cadaverin, spermin, spermidin) az aminosavak lebontási termékei melynek számottevő részét a mikrobiom alakítja ki.

A biogén aminok csökkentik az emlőtumorsejtek proliferációját, kolóniaformáló képességét, viszont nem okoznak jelentős sejtpusztulást. Csökkentik a sejtek migrációs képességét, amit az EMT assay és Scratch-assay is megerősít. A kezelést követően erősödő sejt-sejt kapcsolatok és a mátrix metalloproteinázok expressziójának csökkenése a metasztatikus potenciál csökkenésére utal.

Humán fibroblaszt sejteken végzett kísérletek igazolják, hogy ezek az anyagok a test normál sejteire nem fejtenek ki jelentős hatást.

Támogatók: K108308, GINOP-2.3.2-15-2016-00006, GINOP-2.3.3-15-2016-00021

P2.4.4

ÍZÜLETI TOK VÁLTOZÁSAINAK DSC VIZSGÁLATA KÜLÖNBÖZŐ CSÍPÓ RENDELLENESSÉGEK MŰTÉTI TECHNIKÁJÁNAK KIVÁLASZTÁSÁHOZ

¹Bücs Gábor, ¹Nöt László G., ¹Dandé Árpád, ¹Wiegand Norbert és ²Lőrinczy Dénes

PTE ÁOK ¹Traumatológiai és Kézsebészeti Klinika, ³Biofizikai Intézet

A világon növekszik a teljes csípőprotézis műtétek (THR) száma, és ezért egyre újabb műtéti technikákat vezetnek be. A leggyakoribb probléma az ilyen műtétek során az, hogy az ízületi tokot eltávolítsák, vagy az előzetes állapot alapján megtartsák. A DSC egy hasznos technika a septikus/nem septikus arthritis értékelésére.

Az volt a célunk, hogy találunk-e jellemző termikus paramétert azon mintákban, amelyek arthritises, avaszkuláris combfejlhalásos (AVN) és combnyaktöréses (FX) esetekből nyerhetők. A termikus paramétereket (T_m , maximális denaturációs hőmérséklet, és tömegre normált kalorimetriás entalpia változás, ΔH : Jg^{-1}) SETARAM Micro DSC-II kaloriméterrel vizsgáltuk 20-90 °C-os tartományban 0,3 $Kmin^{-1}$ felfűtési sebesség mellett. A különböző

ízületi tokok denaturációs görbéi jellegzetes változásokat mutattak. Szignifikáns különbség volt a denaturációs hőmérsékletek ($T_m=64,7$ °C arthrosis, $65,3$ °C AVN és 63 °C FX, $p<0,05$) valamint a kalorimetriás entalpiák között ($\Delta H=9,4$ Jg⁻¹ arthrosis, $8,9$ Jg⁻¹ AVN és $5,7$ Jg⁻¹ FX, $p<0,05$), amelyek a degeneratív és/vagy gyulladásos folyamatok eredménye lehet.

P2.4.5

BAKTERIÁLIS METABOLITOK HATÁSA EMLŐTUMOR SEJTEKRE

Sári Zsanett¹, Mikó Edit^{1,2}, Vida András^{1,2}, Kovács Tünde¹, Jankó Laura¹, Bai Péter^{1,2,3}

¹Orvosi Vegytani Intézet, Debreceni Egyetem, ÁOK;

²MTA-DE Lendület Sejtmetabolizmus kutatócsoport, Debreceni Egyetem, ÁOK;

³Molekuláris Medicina Kutatóközpont, Debreceni Egyetem, ÁOK

Az emberi szervezetben nagyszámú baktérium él, mely testünk normál baktériumflóráját képezi, s új generációs szekvenálással történő meghatározás alapján mikrobiomnak nevezzük. A gazdaszervezet és a mikrobiom között dinamikus és kétirányú kapcsolat áll fenn, mely a mikrobiom összetételére is hatással van. Ezen változások következtében az általuk termelt bakteriális metabolitok aránya felborulhat, gyulladásos- és anyagcsere rendellenességeket előidézve bizonyos rákos megbetegedések kialakulásával összefüggésben állhatnak.

Munkám során ismerten metabolikus hatást kiváltó, mikrobiom által kialakított bakteriális metabolitokat, származékokat vizsgáltam egér és humán eredetű emlőtumor sejtvonalakon.

Tanulmányoztam ezen mikrobiális metabolit kezelések tumorsejt proliferációra kifejtett hatását, meghatároztam az apoptotikus és nekrotikus sejtek arányát. Valamint a sejt-sejt kapcsolatokban bekövetkező változásokat aktin festéssel vizsgáltam. Több olyan metabolitot találtam, amely gátolta az emlőtumor sejtek proliferációját, azonban nem volt toxikus. A proliferációgátlásban központi szerepe volt a mezenchimalis-endoteliális tranzíciónak.

Támogatók: K108308, GINOP-2.3.2-15-2016-00006, GINOP-2.3.3-15-2016-00021

P2.4.6

A MÁSODLAGOS EPESAVAK HATÁSA AZ A2780 OVÁRIUM KARCINÓMA SEJTEK METABOLIZMUSÁRA

Ujlaki Gyula, Mikó Edit, Vida András, Kovács Tünde, Sári Zsanett, Kovács Patrik, Bai Péter
MTA-DE Lendület Sejtmetabolizmus kutatócsoport, Orvosi Vegytani Intézet, Debreceni Egyetem, ÁOK

A tumorsejtek többségére jellemző a Warburg-hatásnak nevezett metabolikus átrendeződés, a tumorsejtekben a gyors növekedést emelkedett glikolitikus és csökkent mitokondriális aktivitás segíti. A jelenséget a felfedezőjéről nevezték el Warburg hatásnak.

Kutatócsoportunk a bélflóra által termelt metabolitok között keres olyan molekulákat, melyek potenciálisan pro-, vagy anti-Warburg hatásúak lehetnek. Kísérleteim során a másodlagos epesavak közül a litokólsav (LCA), deoxikólsav (DCA) és ursodeoxikólsav (UDCA) – a bélflóra metabolitjai – hatását tanulmányozom fiziológiáshoz közeli koncentrációkban A2780 ovárium karcinóma sejteken.

A másodlagos epesavak hatását a sejtek proliferációjára Sulphorhodamine B Assay segítségével, a mitokondriális membránpotenciálra gyakorolt hatást pedig áramlási citométerrel vizsgáltam. Eredményeim azt mutatják, hogy mindhárom metabolit csökkentette a sejtek proliferációját, valamint a DCA és az UDCA emelte a mitokondriális membránpotenciált. A továbbiakban tanulmányoztam a másodlagos epesavak hatását a mitokondriális biogenezisben fontos szerepet játszó gének expressziójára. Az ATP5g1, FOXO1, IDH2, Fumaráz, Citokróm C, NDUFB5 és ACO2 gének kifejeződését RNS szinten RT-qPCR módszerrel követtem nyomon, valamint fehérje szinten Western blot technikával a FOXO1, NRF1, AMPK gének kifejeződését vizsgáltam.

Kísérleti eredményeim alapján feltételezhető, hogy ezen bakteriális metabolitok hatással vannak az ovárium karcinómasejtek metabolizmusára, a DCA és az UDCA potenciális anti-Warburg hatású szer lehet ezekben a tumorsejtekben.

Munkánkat támogatta: NKFIH K108308, GINOP-2.3.2-15-2016-00006, GINOP-2.3.3-15-2016-00021

P2.4.7

A LITOKÓLSAV LASSÍTJA AZ ÁTTÉTKÉPZŐDÉST EGÉR EMLŐTUMOR MODELLBEN

Vida A^{1,2}, Mikó E^{1,2}, Kovács T^{1,2}, Trencsényi Gy³, Nagy T³, Szabó JP³, Lente G^{1,2}, Bay P^{1,2,4}

¹MTA-DE Lendület Sejtmetabolizmus Kutatócsoport;
Debreceni Egyetem ÁOK ²Orvosi Vegytani Intézet, ³Nukleáris Medicina Intézet,
⁴Molekuláris Medicina Kutatóközpont

Bevezetés: A litokólsav (LCA) egy másodlagos epesav, melyet a bélrendszer bakteriális flórája állít elő. Munkacsoportunk korábban már kimutatta, hogy a LCA csökkenti a 4T1 emlőtumor sejtek proliferációs képességét. Ebben a tanulmányban az in vitro kísérletekre építkezve megvizsgáltuk 4T1 tumorsejtekkel inokulált BALB/c állatokban is a LCA tumor progresszióra gyakorolt hatását.

Anyagok és módszerek: A kísérleti állatok mindkét oldali második ágyéki emlő zsírszövetébe 100-100 ezer 4T1 tumorsejtet oltottunk PBS és Matrigel 1:1 arányú keverékében szuszpendálva. A tumoros állatokkal kétféle kísérletsorozatot végeztünk. Az egyikben az állatokat naponta kezeltük LCA-al vagy a LCA oldószerével (1% etanol). Ebben a kísérletben

a kísérleti egereket 18-21 nap után termináltuk, majd számos tumor paramétert vizsgáltunk: a tumorok méretét, áttétek számát és tömegét, illetve a tumorok technécium (99mTc)-sestamibi felvételét. Mivel az endogén LCA-at kizárólag a bélflóra baktériumai állítják elő, ezért egy másik kísérletben napi 200 mg/kg dózisú antibiotikum kezelésnek vetettük alá a tumoros kísérleti állatokat, melynek során az antibiotikummal kezelt és kezeletlen csoportok állatainak túlélési idejét hasonlítottuk össze.

Eredmények: A LCA-al kezelt csoportban az áttétek száma (kontroll vs. LCA: $1,125 \pm 0,44$ vs. $0,37 \pm 0,18$) és átlagos tömege (kontroll vs. LCA: $0,045 \pm 0,045$ g vs. $0,017 \pm 0,01$ g) szignifikánsan kisebb volt, mint a kezeletlen csoportban. Ezen kívül a 99mTc-sestamibi felvétel is jelentősen alacsonyabb volt a kezelt csoportban (kontroll vs. LCA DAR: $9,81 \pm 3,83$ vs. $3,28 \pm 1,81$). A túléléses vizsgálatok alapján a Kaplan-Meyer görbéket összehasonlítva, az antibiotikummal kezelt állatok hamarabb pusztultak el a kialakult áttétek következtében.

Diszkusszió: A LCA kezelés hatására kevesebb és kisebb méretű metasztázis alakult ki. Ezen kívül az áttétek 99mTc-sestamibi felvétele is kisebbnek bizonyult, ami humán adatok alapján a betegség jobb prognózisával korrelál. Ezen kívül a túléléses kísérletekben a CPX-al kezelt és ezért endogén LCA-at előállítani nem képes állatok hamarabb pusztultak el a kialakult tumorok és áttétek következtében. Ezek az eredmények alátámasztják, hogy a bélflóra által előállított LCA eljut a távoli tumorokhoz, és azok metabolizmusát befolyásolva csökkenti a 4T1 eredetű emlőtumor progresszióját.

Támogatók: K108308, GINOP-2.3.2-15-2016-00006, GINOP-2.3.3-15-2016-00021

P2.5.1

AZ OXIDATÍV-NITRATÍV STRESSZ VIZSGÁLATA ARTERIA UTERINA ELLENÁLLÁS MÉRÉSE MELLETT EGÉSZSÉGES VÁRANDÓS NŐKBEN

Mezei Zsuzsanna¹, Penyige Áron Sándor^{1,2}, Benkő Rita¹, Sárai-Szabó Boglárka^{1,2}, Demendi Csaba², Várbíró Szabolcs², Horváth Eszter Mária¹

¹Semmelweis Egyetem, Élettani Intézet, Budapest;

²Semmelweis Egyetem, II. sz. Szülészeti és Nőgyógyászati Klinika, Budapest

Bevezetés: Az uteroplacentáris keringés előnytelen változása a terhesség során, az ennek kapcsán kialakuló magasabb keringési ellenállás prediktív jelentőséggel bírhat preeclampszában. Az arteria uterina ellenállásának az első trimeszter végén történő mérése hozzájárulhat a magasabb kockázatú kismamák azonosításához. Mivel megfigyelések szerint a fokozott oxidatív-nitratív stressznek szerepe van a terhességi hipertónia kialakulásában, így

vizsgálatunk arra irányult, hogy a két folyamat (arteria uterina ellenállásának változása és az oxidatív-nitratív stressz fokozódásának mértéke) egymással kapcsolódik-e.

Módszerek: A vizsgálatban a Semmelweis Egyetem II. sz. Szülészeti és Nőgyógyászati Klinikájának gondozásában álló egészséges terhesek (n=29) vettek részt, akikről a terhesség 12-13. hetében vérmintát gyűjtöttünk, illetve az esedékes ultrahang vizsgálat során meghatároztuk az arteria uterina ellenállását. Ennek alapján két csoportot alkottunk, 2,4 feletti pulzatilis index esetében magas (n=16), alatta alacsony (n=13) ellenállású besorolás történt. A vérmintában a klinikai laboratóriumi paraméterek mellett meghatároztuk a plazma összperoxid, nitrotirozin, nitrit-nitrát szintjét, valamint a leukociták tirozin nitrációját (NT).

Eredmények: A magas rezisztenciájú csoportban a paritás szignifikánsan alacsonyabb volt ($1,2 \pm 0,4$ vs. $0,2 \pm 0,1$) volt. A plazma összperoxid, és LDH szintje szignifikánsan alacsonyabb ($3528 \pm 167,1$ vs. $3159 \pm 155,6 \mu\text{M}$; $167,6 \pm 4,9$ vs. $145,1 \pm 5,1 \text{U/L}$; $p < 0,05$), NT szintje a leukocitákéhoz hasonlóan szignifikánsan magasabb volt ($925,2$ [$632,7$; $1513,0$] vs. $526,3$ [$216,9$; $850,0$] ng/ml ; 77 [55 ; 92] vs. 90 [86 ; 96] $\%$; $p < 0,05$). A nitrit-nitrát plazmaszintek mérése során szignifikáns különbség nem adódott a két csoport között.

Következtetés: Eredményeink alapján koincidencia feltételezhető az alacsonyabb plazma összperoxid szint, a magasabb tirozin nitráció és az emelkedett arteria uterina ellenállás között, az ok-okozati viszony tisztázása további vizsgálatokat igényel.

Támogatás: OTKA-PD 113022

P2.5.2

A LIZOFOSZFATIDSAV KORONÁRIA SZŰKÍTŐ HATÁSÁT KÖZVETÍTŐ JELÁTVITELI ÚTVONALAK AZONOSÍTÁSA

Wafa Dina, Hobot Eszter, Ruisanchez Éva, Kerék Margit, Benyó Zoltán és Miklós Zsuzsanna

Semmelweis Egyetem, Klinikai Kísérleti Kutató Intézet, Budapest

Bevezetés: A lizofoszfatidsav (LPA) a vérkeringési rendszer szabályozásában is fontos szerepet játszó lipidmediátor, melynek hat G-fehérje kapcsolt receptora (LPA_{1-6}) ismert. Korábban megfigyeltük, hogy az LPA csökkenti izolált egérszívek koronária áramlását. Jelen vizsgálatunk célja a hatást közvetítő receptor és intracelluláris jelátviteli utak azonosítása volt.

Módszerek: Felnőtt, hím egerek szíveit Langendorff rendszerben perfundáltuk. Mértük a koronária áramlást és a bal kamrai nyomásváltozást. Az LPA koronária szűkítő hatásának kiváltásához 1-oleoil-LPA-t (10^{-6} M) adagoltunk a perfúziós oldathoz 5 percig, értékeléskor a kialakuló maximális hatásokat vettük figyelembe. A hatásmechanizmus tisztázásához géndeficiens egérszíveket, illetve farmakológiai gátlószereket használtunk.

Eredmények: Az LPA áramláscsökkentő hatása ($35\pm 4\%$ -os maximális csökkenés kontroll szívekben, $n=13$, $p<0,01$) LPA_1 , valamint LPA_2 receptor géndeficiens egerek szíveiben, továbbá LPA_3 blokkolók jelenlétében is változatlanul kialakult. Az LPA_4 antagonistá BrP-LPA (10^{-8} M), illetve az LPA_4 hiánya kivédte a jelentős áramláscsökkenést (BrP-LPA: $2\pm 1\%$, $n=5$, LPA_4 KO: $8\pm 3\%$, $n=6$, $p<0,01$ vs. LPA hatás kontroll szívben). Az intracelluláris jelátviteli utak azonosításához használt simaizomspecifikus KO modellekben a $G\alpha_{q/11}$ fehérje hiánya nem módosította ($31\pm 8\%$, $n=4$), a $G\alpha_{12/13}$ hiánya mérsékelte ($17\pm 4\%$, $n=5$, $p<0,05$ vs. LPA hatás kontroll szívben), a Rho-kináz gátlása (Y27632 10^{-6} M) pedig kivédte ($4\pm 2\%$, $n=13$, $p<0,01$ vs. LPA önmagában) az LPA koronária hatását.

Következtetések: Eredményeink arra utalnak, hogy az LPA koronária konstriktor hatása az LPA_4 receptorok közreműködésével, $G\alpha_{12/13}$ fehérjék által közvetített jelátviteli úton, a Rho-kináz fehérjén keresztül valósul meg. Úgy gondoljuk, hogy az általunk leírt érreakciónak komoly patofiziológiai jelentősége lehet olyan folyamatok esetében (pl. plakk ruptúra, trombocita aktiváció), amikor a koronária erekben jelentős mennyiségű LPA szabadul fel. Kutatási támogatás: OTKA K112964

P2.5.3

MESTERSÉGESEN KIALAKÍTOTT RETIKULÁRIS ÉS PÓKVÉNÁK, REFLUXOS PERFORÁNS ÁGAK ÉS VARIKÓZUS OLDALÁGAK PATKÁNY HÁTSÓ VÉGTAGJÁBAN

Nádasy György László¹, Dörnyei Gabriella⁴, Hetthéssy Judit,³ Patai Bettina¹, Szekeres Mária^{1,4}, Hunyady László¹, Monos Emil²

Általános Orvostudományi Kar Élettani Intézet¹, Klinikai Kísérleti Kutató Intézet² és Ortopédiai Klinika³, valamint Egészségtudományi Kar Morfológiai és Élettani Intézet⁴, Semmelweis Egyetem Budapest

Bevezetés. A vénás nyomás és áramlás zavarai esszenciális elemei az alsóvégtagi varikozitás betegség kialakulásának. E folyamatok patológiai tanulmányozásának egyelőre még jelentős akadálya, hogy nem rendelkezünk használható állatkísérletes modellekkel. Jelen kísérletsorozatunkban e betegség számos tünetét sikerült produkálnunk.

Anyag és módszer. Vénás nyomásnövekedést ferde csöketrebben fej-fel tartással, krónikus striktúra fölhelyezésével a vena saphena főágára illetve a femoralis mélyvénára, valamint billentyűirtással értünk el. A kialakult kóros érhálózatokat video-mikroszkópiával

metilénkékes infúzióval, plasztik öntvényeken, nyomás angiográfiával, valamint szövettani metszeteken tanulmányoztuk.

Eredmények. Patkányokat fej-fel helyzetben tartva a v. saphena nyomása megduplázódott ($p < 0.05$, Anova), a véna főága szövettani és biomechanikai átépülés jeleit mutatta, de varikozitás nem alakult ki. A főágon 500 μm -es szűkítést alkalmazva 4-8-12 hét alatt gazdag kollaterális hálózat jött létre, mely a szűkítés helyét hidalta át. A kollaterális értömeg az idővel nőtt ($p < 0.05$, Anova). A vénás neoformációk morfológiája sok esetben a humán varikozitás retikuláris vénáira emlékeztetett. Ezek az erek a tartós gravitációs terhelésre fokozottan érzékenyek voltak, rajtuk tágulatok, unduláló lefutás alakult ki. A mély femoralis véna szűkítését követően a mélyvénák felől a felszíni vénák felé vezető refluxos perforáns ágak, ezekhez kapcsolódóan pókvénák, varikózus plakkok jelentek meg (11 állaton). A hátsó poplitealis régió sok esetben volt érintve, hasonlóan a humán szituációhoz.

Következtetések. Vénás áramlási zavar esetén billentyű nélküli, vagy a megfelelő irányban vezető kisvénás szakaszokból összetevődő, zegzugos lefutású kollaterális hálózatok alakulhatnak ki a végtagon. Egyes ágak a fokozott áramlás révén megvastagodhatnak még akkor is, ha szokatlan áramlási irányúak (refluxos áramlás) illetve szabálytalan alakúak (pók vénák, retikuláris vénákból álló plakkok).

Támogatás: OTKA 32019, Magyar Vese Alapítvány, Semmelweis Egyetem Általános Orvosi Kar.

P2.5.4

A TMEM16A KLORIDCSATORNA SZEREPE IDIOPATHIÁS PULMONÁLIS ARTÉRIÁS HIPERTÓNIA B A N

Papp Rita¹, Chandran Nagaraj¹, Nagy Bence¹, Grazyna Kwapiszewska¹, Bálint Zoltán¹, Miroslava Didiasova², Malgorzata Wygrecka², Laura Schenk³, Walter Klepetko⁴, Bahil Ghanim⁴, Andrea Olschewski^{1,2}

¹Ludwig Boltzmann Institute for Lung Vascular Research, Graz, Ausztria;

²Department of Biochemistry, Universities of Giessen and Marburg Lung Center, Giessen, Germany;

³Medical Clinic D, University Clinic of Münster, Germany;

⁴Division of Thoracic Surgery, Department of Surgery, Medical University of Vienna, Austria;

⁵Department of Physiology, Medical University of Graz, Austria

Az idiopathiás pulmonális artériás hipertóniában (IPAH) magas pulmonális artériás vérnyomás, valamint a pulmonális artéria falának kóros megvastagodása (remodeling)

figyelhető meg, amelynek egyik oka a pulmonális artéria simaizomsejtjeinek (PASMC) depolarizációja és az intracelluláris Ca^{2+} koncentráció növekedése. Munkánk során olyan ioncsatornákat keresünk, amelyek szerepet játszanak az IPAH pathomechanizmusában. Kísérleteinkhez egészséges humán donor tüdőből, illetve IPAH-s betegek tüdejéből izolált pulmonális artériákat és PASMC-t használtunk. Az IPAH-s betegekből származó mintákban a TMEM16A Ca^{2+} aktivált Cl^- csatorna génjének (ANO1) fokozott expresszióját figyeltük meg, amelyet fehérjeszinten, illetve a Ca^{2+} aktivált Cl^- áram (I_{ClCa}) voltage clamp módban történő mérésével is igazoltunk. Az egészséges donor tüdőkből származó PASMC membránpotenciálja current clamp módban mérve -47 ± 2 mV, míg az IPAH-s betegekből izolált PASMC-ben -35 ± 2 mV. Ha az IPAH-s betegek PASMC-it a TMEM16A csatorna gátlószereivel (T16Ainh-A01, benzbramarone) kezeltük, a membránpotenciál negatívabb tartományba, akár az egészséges sejtek értékére tolódott. Hasonló hiperpolarizációt figyeltünk meg, ha az IPAH-s betegek PASMC-it előzetesen a TMEM16A-t célzó siRNS-sel kezeltük. Ugyanakkor ha az egészséges donorok PASMC-iben a TMEM16A fehérjét túltermeltettük, az IPAH sejtekre jellemző depolarizációt mértünk. Mivel a membrán depolarizációja a feszültségfüggő Ca^{2+} csatornákat aktiválva az intracelluláris Ca^{2+} koncentrációt növelheti, Fura-2 AM-mel fluoreszcens méréseket végeztünk egészséges és IPAH betegek PASMC-in, benzbramarone perfúzió előtt és után. Az IPAH-s betegek PASMC-iben a benzbramarone csökkentette az intracelluláris Ca^{2+} koncentrációt.

Eredményeink arra utalnak, hogy a TMEM16A kloridcsatorna fokozott expressziója az IPAH-s betegek PASMC-iben egy erős depolarizáló áramot hoz létre, mely szerepet játszik a pulmonális artéria tónusregulációjában.

P2.5.5

KISSPEPTIN HATÁSA A HUMÁN VÉRLEMEZKÉK ARACHIDONSAV METABOLIZMUSÁRA

Stumpf Csaba¹, Váczi Sándor¹, Török Viktória Réka¹, Szabó Gyula¹, Rajda Cecília², Vécsei László², Mezei Zsófia¹

Szegedi Tudományegyetem ÁOK, ¹Kórélettani Intézet és ²Neurológiai Klinika

Bevezetés:

A trombociták fontos szerepet játszanak a kardiovaszkuláris és neurovaszkuláris kórképek pathomechanizmusában, kulcsfontosságúak az érlemeszesedés kialakulásában, melynek leggyakoribb etiológiai tényezője a dohányzás.

Előkísérleteink során a központi idegrendszeri és perifériás hatással egyaránt rendelkező kisspeptin a nem dohányzó egyének vérlemezkéinek aggregációs készségét csökkentette, míg a dohányzó egyénéket nem befolyásolta. Jelen vizsgálataink során arra kerestük a választ, hogy az arachidonsav metabolitoknak szerepe lehet-e ezen eltérő hatás létrejöttében.

Bizonyított a vérlemezkék által szintetizált eikozanoidok szerepe kísérletes epilepszia modellben, ezért a kisszeptin vérlemezke funkcióra kifejtett hatásának vizsgálatát kiterjesztettük epilepsziás egyénekre is.

Módszerek:

Vizsgálatunkban gyógyszert vagy táplálék kiegészítőt nem szedő, 5 nem dohányzó (ND) és 6 dohányzó (D) egészséges, valamint 5 epilepsziás, nem dohányzó férfi vett részt. Aktiválatlan, szeparált, kisszeptinnel (2,5; 5; 10×10^{-8} mol/L KP-13) inkubált vérlemezkék arachidonsav metabolizmusának *in vitro* vizsgálatához [14 C]-arachidonsav (3.7kBq, 0.172 pmol/mL) radioaktív szubsztrátot használtunk. A radioaktív termékek meghatározását Bioscan lapscannerrel végeztük. Az eredmények statisztikai analízise párosított T-próbával, SPSS segítségével történt.

Eredmények:

D, egészséges férfiak vérlemezkéi szignifikánsan több ciklooxygenáz metabolitot (7587 ± 582 v. 5416 ± 454 CPM), és a tromboxánt képezték (4646 ± 411 v. 3248 ± 311 CPM), mint a ND, egészséges egyének trombocitái. A KP-13 nem idézett elő változást sem a ND, sem a D férfiak vérlemezkéiben. A ND epilepsziás egyének vérlemezkéi azonban szignifikánsan több tromboxánt, ciklooxygenáz és lipoxigenáz metabolitot szintetizáltak, mint a ND, egészséges alanyok. Mindhárom termék képződése tovább fokozódott 10×10^{-8} mol/L KP-13 hatására.

Megbeszélés:

Eredményeink alapján az arachidonsav metabolitok nem játszanak szerepet a kisszeptin ND egyének TRAP indukálta vérlemezke aggregációt csökkentő hatásában. A kisszeptin képes módosítani az epilepsziások egészséges egyénétől eltérő vérlemezke funkcióját.

Támogatók: Nemzeti Agykutató Program-KTIA_13_NAP-A-III/8

Etikai engedély szám: 143/2015.

P2.5.6

A DIHIDROPIRIDIN-SZÁRMAZÉK LA1011 NEM BEFOLYÁSOLJA A NEUROVASZKULÁRIS CSATOLÁST

Szabó Írisz,¹ Varga Dániel Péter,¹ Menyhárt Ákos,¹ Bari Ferenc,¹ Horváth Ibolya,^{2,3} Török Zsolt,^{2,3} Vigh László,^{2,3} Farkas Eszter¹

¹Orvosi Fizikai és Orvosi Informatikai Intézet, ÁOK és Természettudományi és Informatikai Kar, Szegedi Tudományegyetem;

²Biokémiai Intézet, Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Magyar Tudományos Akadémia;

³LipidArt Kutató Fejlesztő és Tanácsadó Kft., Szeged

BEVEZETÉS

Az LA1011 egy dihidropiridin származék, amely Alzheimer kóros transzgen egér modellben egyes hősokk proteinek szabályozásán keresztül neuroprotektív hatásának bizonyult. Kísérletünkben arra kerestük a választ, hogy az LA1011 növelheti-e a neuronok életképességét a neurovaszkuláris csatolás hatásfokának javításán keresztül.

ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

Izofluránnal altatott, felnőtt, hím Sprague-Dawley patkányok (n=12) parietális lebenye felett két nyitott kraniális ablakot készítettünk. Üvegkapilláris-elektrodával helyi mező potenciált, valamint lézer-Doppler áramlásmérés segítségével agyi véráramlás-változást mértünk a rostrális koponyablakból, amelyre az LA1011-et (100 μ M) vagy annak hordozóját mostuk. Az állat kontralaterális bajuszpárnáját mechanikailag ingereltük, majd a kaudális ablakba történő 1 M KCl rámosásával kúszó depolarizációkat váltottuk ki.

EREDMÉNYEK

Az LA1011-nek nem volt szignifikáns hatása sem a bajusz ingerlésre adott (pl. a görbe alatti terület esetén: 290.7 ± 125.7 vs. 324.7 ± 167.7 % x s, LA1011 vs. hordozó) sem pedig az SD-t követő hiperémiás válasz mértékére (7283.7 ± 3528.9 vs. 8556.3 ± 2556.8 % x s, LA1011 vs. hordozó). Ezzel ellentétben az LA1011 szignifikánsan növelte az SD amplitúdóját (19.0 ± 1.9 vs. 14.7 ± 2.5 mV, LA1011 vs. hordozó).

KÖVETKEZTETÉS

Az eredmények alapján elmondható, hogy az LA1011-nek nincs hatása a neurovaszkuláris csatolásra, de fokozza a kiváltott depolarizációk intenzitását. Feltételezzük, hogy az LA1011 lehetséges anti-inflammatórikus hatásán keresztül okozza az SD elmélyülését.

P2.5.7

AZ ARACHIDONSAV SZEREPE AZ AGYI VÉRKERINGÉS SZABÁLYOZÁSÁBAN

Szénási Annamária¹, Szarka Nikolett², Tóth Péter³, Koller Ákos^{1,3,4}

¹Semmelweis Egyetem, Kóréletani Intézet, Budapest;

²Pécsi Tudományegyetem, Transzlációs Medicina Intézet;

³Idegsebészeti Klinika, Pécs;

⁴Testnevelési Egyetem, Természettudományi Intézet, Budapest

Bevezetés: Korábbi kutatások kimutatták, hogy az arachidonsavat a citokróm P450 ω -hydroxylázok (CYP 450 4A) 20-hydroxyeikozatetraénsavvá (20-HETE) alakítják, ami az agyi erek agonista- és nyomás-indukálta konstriktójának mediátoraként fontos szerepet játszik a cerebrovaszkuláris tónus szabályozásában. A folyamatos agyi véráramlás (CBF) fenntartása pedig kiemelt fontosságú az agyi funkciók ellátásában.

Anyagok és módszerek: Kísérleteink során patkány arteria cerebri media (MCA) izoláltunk, kanuláltunk majd vizsgáltuk a nyomásváltozás, az áramlásváltozás és a különböző vasoaktív anyagok hatását az átmérőjükre.

Eredmények: Az intraluminális áramlás növekedése állandó nyomáson (80 mmHg) konstriktiót eredményezett patkány agyi artériákban. MCA-t HET0016-tal (amely Cyp4504A enzimek blokkolásával gátolja a 20-HETE termelődését) inkubálva az áramlás-indukálta konstriktió megszűnt. A 20-HETE direkt adása (10^{-7} mol/L) az áramláshoz hasonlóan csökkentette az MCA átmérőjét. A HET0016 nem hatott szignifikánsan más érválaszra, pl. az acetilkolin-indukálta dilatációra.

Következtetés: Az áramlás-indukálta konstriktió fontos szerepet játszik az agyi vértérfogat és az intrakraniális nyomás szabályozásában is. A myogén válasszal együtt az áramlás-indukálta konstriktió valószínűleg különböző arányban vesz részt az egyes agyi területek keringési ellenállásának szabályozásában. Vizsgálataink alapján elmondható, hogy patkány agyi erek áramlás-indukálta konstriktiója blokkolható volt HET 0016-al, ami a 20-HETE szintézisének gátlója, mely eredmények megerősítik Gebremedhin és Harder eredményeit, azaz hogy a CYP450 4A enzimek jelen vannak patkány MCA-ban és szerepet játszanak az agyi keringés szabályozásában.

Támogatás: Országos Tudományos Kutatási Alap (NFKI-OTKA K-108444)

P2.5.8

KISSPEPTIN HATÁSA A CUKORBETEG PATKÁNYOK VÉRLEMEZKÉINEK ARACHIDONSAV METABOLIZMUSÁRA

Török Viktória Réka, Ónodi Ádám, Váczi Sándor, Mezei Zsófia, Szabó Gyula

Szegedi Tudományegyetem ÁOK, Kórélettani Intézet

Bevezetés: A kisspeptin szerepet játszik az anyagcsere folyamatok regulálásában, az energia homeosztázis fenntartásában és az inzulin szekréció gátlásában is. Kardiovaszkuláris rendszerre és hemosztázisra gyakorolt hatását is bizonyították. A csökkent inzulin szekréció és/vagy hatás következtében kialakuló diabétesz mellitusz során vérlemezke aktiváció és érlemeszesedés lép fel. Előzetes vizsgálataink során a kisspeptin kollagén indukálta aggregációt fokozó hatását mutattuk ki, mind az egészséges, mind a cukorbetegségben szenvedő patkányokban. Jelen kísérletünkben arra kerestük a választ, hogy a vérlemezke aggregációs készség fokozódásában szerepe lehet-e a kisspeptin hatására bekövetkező arachidonsav metabolizmus változásnak.

Módszerek: Diabéteszes Wistar-Kyoto hím patkányokat (n=5) Streptozotocinnal (i.p. 50mg/tskg) hoztunk létre. Cukorbetegség kialakulását laboratóriumi és fizikális vizsgálatokkal igazoltuk. Aktiválatlan, szeparált, kisspeptinnel (1,25; 2,5; 5; 10×10^{-8} mol/L KP-13) inkubált vérlemezkék arachidonsav metabolizmusának *in vitro* vizsgálatához [¹⁴C]-arachidonsav (3.7kBq, 0.172pmol/mL) radioaktív szubsztrátot és SunRed ELISA kitteket használtunk. Az abszorbancia koncentrációvá történő számítását SPSS programmal, míg a radioaktív termékek meghatározását Bioscan lapscannerrel végeztük. Az eredmények statisztikai analízise párosított T-próbával, SPSS segítségével történt.

Eredmények: A cukorbeteg állatok vérlemezkéi szignifikánsan több érszűkítő és vérlemezke aggregáló hatású tromboxánt képeztek, mint az egészségesek (3065±83 v. 2636±74 CPM). A diabéteszes patkányok trombocitái által arachidonsavból szintetizált lipoxigenáz metabolitok összmenyisége is jelentősen nagyobb volt, mint az egészséges állatoké (6711±202 v. 5869±221 CPM). A radioaktív vizsgálatokkal nyert eredményeket az ELISA-val történt tromboxán, ciklooxigenáz és lipoxigenáz mennyiség meghatározás is alátámasztotta. 10×10^{-8} mol/L KP-13 fokozta a tromboxán, és a lipoxigenáz metabolitok szintézisét egészséges és cukorbeteg állatokban egyaránt.

Megbeszélés: Peptid hatásra létrejövő arachidonsav metabolizmus fokozódásnak szerepe lehet a vérlemezkék aggregációs készségének fokozódásában.

Támogatók: Nemzeti Agykutatási Program-KTIA_13_NAP-A-III/8

Témavezetők: Dr. Mezei Zsófia egyetemi docens