

# **Metabolikus hormonok szabályozó szerepe egér GnRH idegsejtek működésében**

Doktori disszertáció tézisei



**Csillag Veronika**

Témavezetők:

Farkas Imre, PhD

Liposits Zsolt, MD, PhD, DSc

Pázmány Péter Katolikus Egyetem Információs

Technológia és Bionikai Kar

Roska Tamás Műszaki és Természettudományi Doktori

Iskola

Budapest, 2021

## Bevezetés

Az emlősök szaporodása sok egymásra épülő precízen szervezett biológiai folyamatból áll, melyek megfelelő működése alapvető a sikeres reprodukcióhoz és az egyedfejlődés elindulásához. A szervezet mindenkori energiaszintje befolyásolni képes ezt a folyamatot.

Mivel a reprodukció energiaigényes folyamat, fontos, hogy a szervezet energiakészlete megfelelő legyen és a szaporodás ne járjon magas kockázattal az anyára nézve.

A táplálék elérhetősége és így a tápláltsági szint, ingadozást okoz a metabolikus hormonok szérumszintjében. A leptin, a glukagon-szerű peptid-1 (GLP-1) és a ghrelin reprodukcióra kifejtett hatása már korábban bizonyítást nyert [1]. Egyes kórképekben, mint az anorexia nervosa, a reprodukció folyamata háttérbe szorul a szervezet alapvető működésének fenntartása érdekében [2]. A metabolikus betegségek során kialakuló meddőséget széleskörűen vizsgálják, ami bizonyítja, hogy fontos ezen hormonok hatásmechanizmusának megismerése.

Elengedhetetlen tudnunk, hogy a különböző metabolikus változások hogyan hatnak a gonadotropin felszabadító hormon (GnRH)-t termelő idegsejtekre, a reprodukció legfontosabb központi idegrendszeri irányítóira.

Doktori értekezésem céljából tűztem ki két metabolikus hormon reprodukció szabályozásában betöltött szerepének megismerését. A két vizsgált hormon a szekretin és az inzulin szerű növekedési faktor-1 (IGF-1).

A szekretin egy anorexigén hormon [3], mely jelként szolgál az agy számára a szervezet energiaháztartásáról. Ez volt az első hormon amit felfedeztek 1902-ben [4]. A középbeli S sejtek választják el amikor a savas kémhatású gyomortartalom megérkezik a bélbe és a szekretin lokálisan aktiválja a hasnyálmirigyet, hogy semlegesítse azt karbonát elválasztásával [4]. A vérben keringő szekretin képes átlépni a vér-agy gáton és a perifériáról információt szállítani különböző agyterületekre [5, 6].

A szekretin szerepéről a reprodukció szabályozásában egyelőre kevés információ áll rendelkezésre [7]. Korábbi eredmények azt mutatják, hogy a szekretin egy a reproduktív tengelyt szabályozó metabolikus hormonok közül.

Egy korai, patkányokban végzett kísérletben a preoptikus agyterületbe injektált szekretin tízszeres emelkedést okozott a szérumszintben [8], amely azt sugallta, hogy a szekretin a GnRH neuronok szintjén fejti ki hatását. A pontos sejtszintű folyamatok azonban nem ismertek még ebben a reguláló hatásban.

A szekretin hatását a sejtek tüzelésére és a poszt-szinaptikus áramokra whole-cell patch clamp módszerrel vizsgáltam GnRH-GFP idegsejteken, hím egerekben. Tanulmányoztam továbbá a szekretin által aktivált jelátviteli útvonalat is.

Az inzulin-szerű növekedési factor 1 (IGF-1) egyike a metabolikus növekedési hormonoknak és elsődlegesen a májban termelődik felnőttekben [9, 10].

Az IGF-1 szintje éhezés alatt csökken, melyet emberben és rágcsálókban is kimutattak [11, 12]. Ezen kívül az IGF-1 kötéséért felelős IGF kötő fehérje-3 (IGFBP3) szintjének növekedését is leírták táplálék megvonás alatt, mely a szabad IGF-1 szint jelentős csökkenéséhez vezet [13].

A pubertás alatt megfigyelhető egy jelentős IGF-1 szint növekedés a plazmában, amely arra utal, hogy a hormon képes befolyásolni a pubertás folyamatát [14]. A magas IGF-1 koncentráció a vérben előbbre hozhatja a pubertás kezdetét mindkét nemből [15].

Nőkben az IGF-1 alacsony szintje a ciklus zavarához vezethet [16]. A hormon szintje a ciklustól függően oszcillációt is mutat [17, 18]. Egérben kimutatták, hogy IGF-1 receptor szintje szintén ciklus függően változik, proösztrozis idején a legmagasabb. Ösztradiol (E2) ugyancsak befolyásolja az IGF-1 hatását [15]. Az észleletek arra utalnak, hogy az IGF-1 képes befolyásolni a reprodukciót.

Fontos kérdés, hogy az IGF-1 közvetlenül befolyásolja-e a GnRH neuronokat. Korábban kimutatták az IGF-1 receptor jelenlétét GnRH idegsejtekben [19], valamint az IGF-1 GnRH termelést fokozó hatását [16]. A perifériáról származó IGF-1 hozzájárul a pubertás folyamatának elindításához, a GnRH sejtek serkentésével, mely hatást az is erősíti, hogy a receptor mennyisége az első proösztrozis alatt a legmagasabb az eminencia mediana területén [20]. Az IGF-1 mutációja emberben [21] és a receptor GnRH specifikus hiánya egérben [22] szintén a pubertás késlekedéséhez vezet. A GT1-es neuronális sejtvonalon szintén kimutatták, hogy az IGF-1 serkenti a GnRH expressziót [23, 24]. Korábbi eredmények azonban nem tárták fel, hogy az IGF-1 képes-e a GnRH neuronokra közvetlen hatást gyakorolni.

Az IGF-1 hatásának vizsgálatát a GnRH neuronokon *in vitro* elektrofiziológiai módszerrel végeztük és vizsgáltuk a hozzá tartozó jelátviteli útvonalat is. Korábbi eredményeink azt mutatták, hogy több metabolikus hormon hatásának kifejtésében használja a GnRH idegsejtekből kiinduló, retrográd jelátviteli útvonalakat [25, 26]. A GnRH neuronok működésében alapvető a serkentő hatású GABA neurotranszmisszió, melyet a preszinaptikus oldalon retrográd jelátviteli útvonalak befolyásolnak [27]. A pontos mechanizmus vizsgálata fontos az IGF-1 működésének feltérképezésében, ezért az IGF-1 hormonhatás esetében is vizsgáltuk a retrográd szabályozó útvonalak szerepét.

## **Kitűzött célok**

Doktori értekezésem célja az volt, hogy elektrofiziológiai módszerekkel pontosabb információt adjak a metabolikus hormonokkal kapcsolatos jelátviteli útvonalokról a GnRH idegsejtekben. Az értekezésben ismertetett első munkában a szekretin GnRH neuronokra gyakorolt hatását vizsgáltam, whole-cell patch clamp kísérleteken keresztül.

A következő kérdésekre kerestem a választ:

1. Képes-e a szekretin modulálni a GnRH neuronok elektrofiziológiai tulajdonságait?
2. A modulációs hatás közvetlenül a GnRH idegsejtek szekretin receptorain keresztül érvényesül?
3. Milyen jelátviteli út aktiválódik a szekretin hatására GnRH neuronokban?
4. Retrográd jelátviteli utak részt vesznek-e ebben a mechanizmusban?

A második munkában bemutatom az IGF-1 növekedési hormon szabályozó szerepével kapcsolatos eredményeimet.

A következő kérdéseket szerettem volna megválaszolni:

1. Módosíthatja-e az IGF-1 a GnRH neuronok elektrofiziológiai paramétereit?
2. A feltételezett modulációs hatás közvetlenül GnRH neuronokban történik-e az IGF-1 receptor aktiválásával?
3. Mely molekuláris jelátviteli útvonal aktiválódik az IGF-1 hatására?
4. Szerepet játszanak-e retrográd jelátviteli útvonalak a mechanizmusban?

## **Anyagok és Módszerek**

### **Állatok**

Felnőtt, pubertás (50 napos) és prepubertás (23-29 napos) korú C57Bl/6J genetikai háttérrel rendelkező GnRH-GFP transzgenikus hím egereket használtam [28].

### **Túlélő agyszeletek készítése és whole-cell patch clamp mérések**

Az akut agyszeletek készítése a korábban már leírt módszer alapján történt [27]. 250  $\mu\text{m}$  vastag, frontális síkú, túlélő szeleteket készítettem, melyek tartalmazzák a preoptikus területet. A whole-cell patch clamp kísérletek során spontán- és miniatűr posztszinaptikus áramokat mértem, valamint akcióspotenciálokat, melyek felvételéhez voltage- vagy current-clamp módszert alkalmaztam.

A whole-cell patch clamp mérések egy kontroll szakasz felvételével kezdődtek (5 min), ami után a szekretin vagy az IGF-1-et pipettával, egy dózisban adtam a mesterséges agygerincvelői folyadékkal (aCSF) telt mérőkamrába, ahol az agyszereletről mérést végeztem. Az anyag ráadása után további 10 percig mértem a sejtek aktivitását. Az antagonistákkal történő előkezelés során az antagonistát az aCSF-be oldottam. A mérések elkezdése előtt 10 percet vártam, hogy a hatás teljes legyen és az antagonisták a mérés teljes ideje alatt jelen voltak. Az intracellulárisan alkalmazott anyagok az intracelluláris oldatban kerültek feloldásra és a whole-cell patch clamp mód elérése után 15 percig hagytuk, hogy a sejt citoplazmájában kialakuljon a szükséges koncentráció. Minden neuron önmaga kontrolljaként szolgált a mérések alatt, amelyhez az agonisták hatását viszonyítottuk.

#### A kísérletek során használt farmakonok

<b>Extracellulárisan használt anyagok</b>				
<b>Név</b>	<b>Felhasználási cél</b>	<b>Koncentráció</b>	<b>Gyártó</b>	<b>Hivatkozások</b>
<b>Szekretin</b>	Szekretin receptor agonista	30 nM- 1 $\mu$ M	Tocris, UK	Dózis-hatás görbe
<b>Szekretin receptor antagonistá</b>	Szekretin receptor antagonistá	3 $\mu$ M	Distribio-Genecust-Labbox, Luxembourg	[29]
<b>picROTOXIN</b>	GABA <sub>A</sub> -R blokkoló	100 $\mu$ M	Sigma, US	[30, 31]
<b>IGF-1</b>	IGF-1 receptor agonista	1-66 nM	Sigma	[32]
<b>JB-1</b>	IGF-1 receptor antagonistá	800 nM	Bachem, DE	
<b>AM251</b>	CB1 endokannabinoid receptor inverz agonista	1 $\mu$ M	Sigma, US	[27, 33]
<b>TTX</b>	Tetrodotoxin, Feszültségfüggő Na csatorna blokkoló	660 nM	Tocris, UK	[27, 33]
<b>Intracellulárisan használt anyagok</b>				
<b>GDP-<math>\beta</math>-S</b>	G-fehérje blokkoló (nem jut át a membránon)	2 mM	Sigma, US	[34-36]
<b>NPLA</b>	neuronális nitrogén monoxid szintáz gátló	1 $\mu$ M	Tocris, UK	[37-39]
<b>KT5720</b>	protein kináz-A gátló	2 $\mu$ M	Sigma, US	[40, 41]
<b>AMG9810</b>	Tranziens receptor potenciál vanilloid 1 antagonistá	10 $\mu$ M	Sigma, US	[42-44]
<b>LY294002</b>	phosphoinositol-3-kináz gátló	50 $\mu$ M	Sigma, US	[45]

## **Eredmények I.**

### **1. Tézis: A szekretin befolyásolja a GnRH neuronokon elektrofiziológiai tulajdonságait**

A szekretin 100 nM-os koncentrációban szignifikánsan növelte a GnRH neuronok tüzelési rátáját, valamint a spontán és miniatűr posztszinaptikus áramok frekvenciáját felnőtt hím egerekben. A bemutatott hatás dózis függő volt. A GnRH neuronok membránpotenciálja pozitívabb lett szekretin adása után. Eredményeink bizonyítják, hogy a szekretin serkentő hatással bír a GnRH neuronokra.

### **2. Tézis: A szekretin moduláló hatása szekretin receptoron keresztül történik**

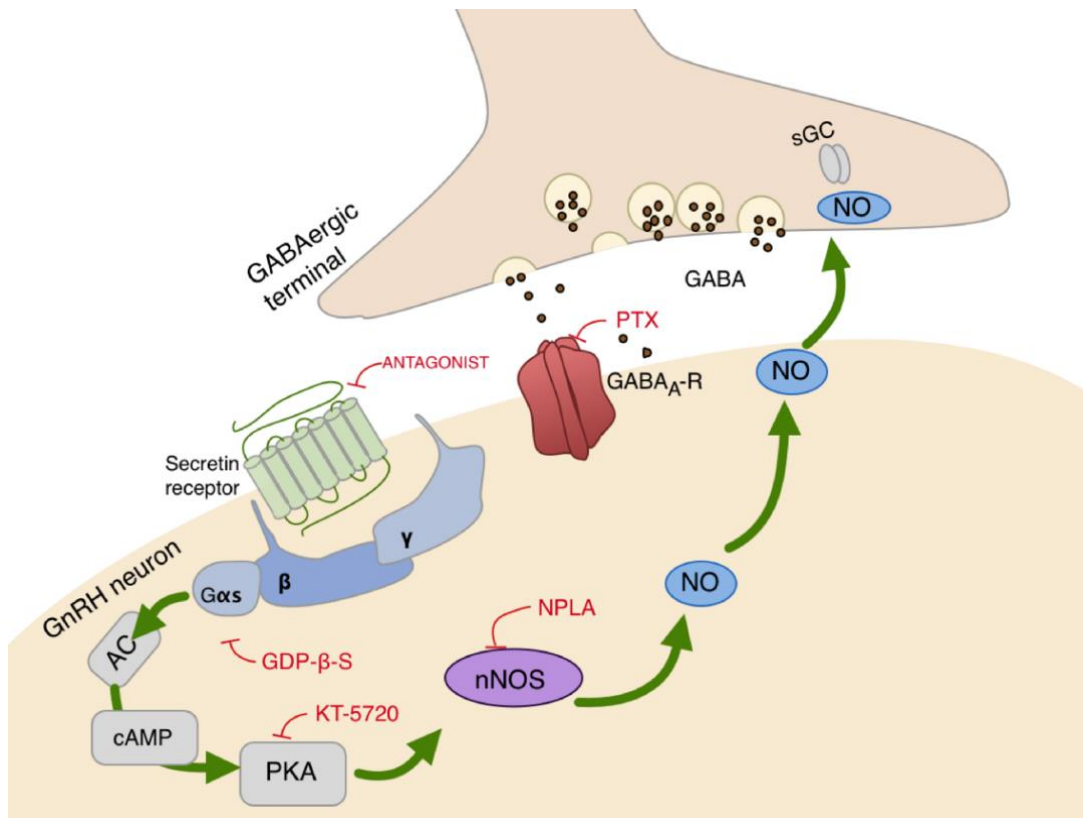
Elektrofiziológiai kísérletekkel kimutattam, hogy a szekretin receptor szükséges a szekretin által kiváltott hatáshoz, mivel specifikus szekretin receptor antagonistá jelenlétében a szekretin nem növelte meg a miniatűr posztszinaptikus áramok frekvenciáját. Intracellulárisan alkalmazott G-fehérje blokkoló jelenlétében szintén elmaradt a frekvencia növekedés. Mivel a szekretin receptor a G-fehérje kapcsolt receptorok közé tartozik, ezek a kísérletek alátámasztották, hogy a szekretin receptor funkcionális a GnRH sejtekben.

### **3. Tézis: A szekretin aktiválja a retrográd nitrogén monoxid útvonalat**

Elektrofiziológiai méréseim bizonyították a retrográd NO szerepét a szekretin hatásának kialakulásában. A szelektív nitrogén monoxid szintáz blokkoló, NPLA jelenlétében a szekretin nem változtatta meg a miniatűr posztszinaptikus áramok frekvenciáját.

### **4. Tézis: A retrográd nitrogén monoxid útvonal GnRH sejtekben aktiválható foszfokináz A-n (PKA) keresztül.**

Szelektív PKA blokkoló (KT5720) intracelluláris jelenlétében a szekretin nem növelte meg az mPSC-k frekvenciáját a GnRH neuronokban. Ezek a mérések igazolták, hogy a szekretin által aktivált jelátviteli útvonal PKA függő.



**Sematikus illusztráció a szekretin receptor által aktivált jelátviteli útvonalról, GnRH neuronban.** A szekretin aktiválja a cAMP/PKA/nNOS jelátviteli útvonalat, amely NO felszabaduláshoz vezet. A NO hozzáköt a preszinaptikus idegvégződésben található sGC receptorhoz, mely megtalálható a GnRH-val kapcsolatban álló GABAerg terminálisokban. Ez a jelátviteli folyamat serkenti a GABA elválasztását a preszinaptikus idegvégződésekből és serkenti a szinaptikus kapcsolatot GABA<sub>A</sub>-receptoron keresztül. AC, adenilát cikláz; cAMP, ciklikus adenzin monofoszfát; G $\alpha$ s, G $\beta$ , G $\gamma$ , G-protein alegységek; GABA<sub>A</sub>-R, GABA<sub>A</sub>-receptor; PTX, picrotoxin, szelektív GABA<sub>A</sub>-receptor blokkoló; PKA, protein kináz A; KT5720, protein kináz A blokkoló; nNOS, neuronális nitrogén monoxid szintáz; NPLA, nNOS blokkoló; GDP- $\beta$ -S, G-protein blokkoló; sGC, szolubilis guanilil cikláz, NO receptor. A piros vonalak gátlást mutatnak, a zöld nyilak pedig a feltételezett jelátviteli útvonalat, mely az NO képződést fokozza.

## Eredmények II.:

**5. Tézis: Az IGF-1 modulálja a GnRH neuronokat prepubertás és pubertás korú állatokban.**

13 nM IGF-1 szignifikánsan megnövelte a spontán posztzinaptikus áramok, akciós potenciálok és miniatűr posztzinaptikus áramok frekvenciáját a vizsgált sejtek felében, hím prepubertás korú egér GnRH neuronjaiban. Ez a serkentő hatás dóziszfüggő volt. Pubertás korú állatokban a 13 nM koncentráció a prepubertás korú állatokban találtakhoz hasonlóan növelte a frekvenciát a neuronok mintegy felében.

**6. Tézis: Az IGF-1 közvetlenül hat a GnRH neuronokon és az IGF-1 receptort aktiválja**

Szelektív IGF-1 receptor antagonistá (JB1) jelenlétében az IGF-1 nem növelte meg az mPSC-k frekvenciáját. Ez bizonyítja, hogy a hatás IGF-1 receptoron keresztül történik.

**7. Tézis: A retrográd endokannabinoid jelátviteli útvonal részt vesz az IGF-1 által aktivált szignalizációban.**

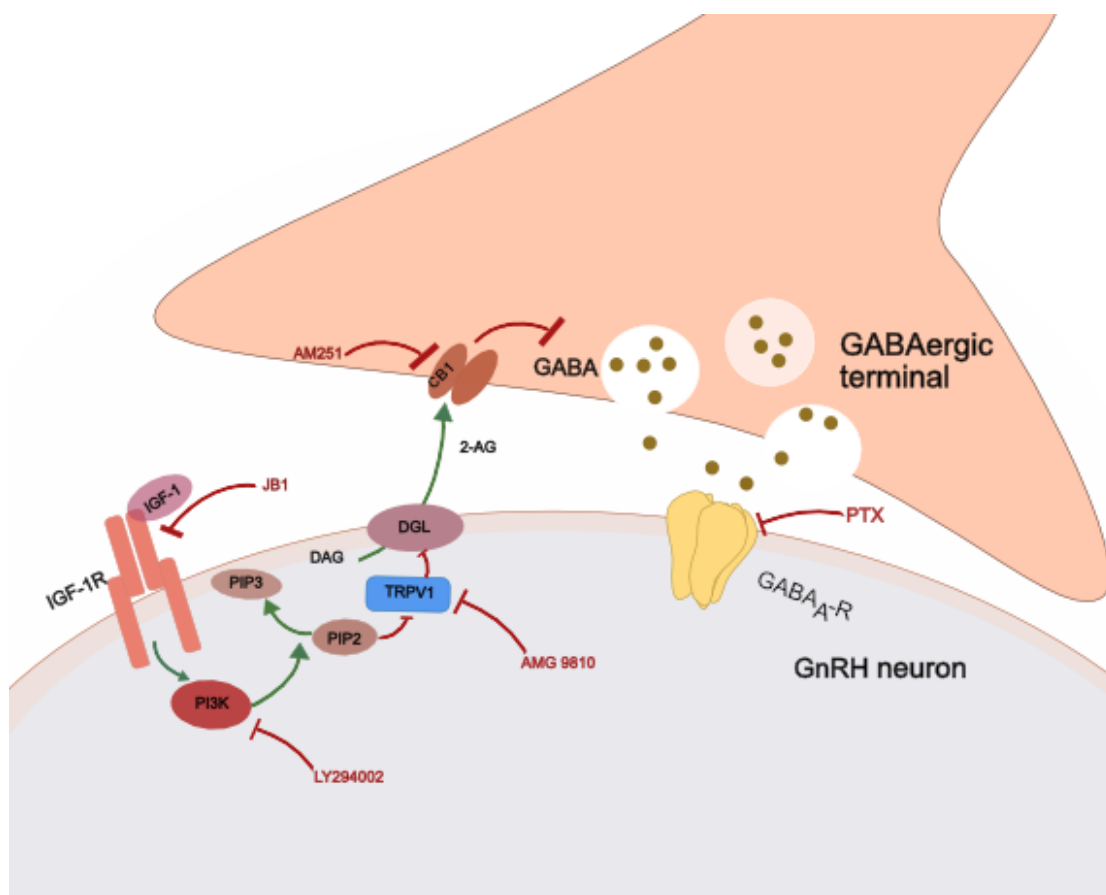
Az IGF-1 és az endocannabinoid rendszer közti kapcsolatot bizonyítottam CB1 receptor blokkolásával. A specifikus antagonistá jelenlétében az IGF-1 adása nem idézett elő változást az mPSC-k frekvenciájában. A tranziens receptor potenciál vanilloid 1 (TRPV1) kationcsatorna szerepét szintén kimutattam, intracellulárisan alkalmazott TRPV1 gátlóval, melynek jelenlétében szintén elmaradt a frekvencia emelkedése.

A CB1 és a TRPV1 blokkolásával további bizonyítékot nyújtottam arra vonatkozóan, hogy a GnRH idegsejtek 2-arachidonoylglycerol (2-AG)-t termelnek, mely szerepet játszik a GnRH neuronok aktivitásának szabályozásában.

**8. Tézis: A retrográd endocannabinoid jelátviteli útvonal serkentésének egy fontos lépése a PI3K aktiváció IGF-1 hatása esetén.**

Az IGF-1 receptor aktiválásával az egyik beindítható jelátviteli útvonal fő eleme a PI3K. A PI3K intracelluláris blokkolásával bizonyítottuk, hogy a PI3K szerepet játszik a retrográd endokannabinoid jelátviteli útvonal aktiválásban IGF-1 adását követően.





**Sematikus illusztráció az IGF-1 receptorhoz köthető jelátviteli útvonalról GnRH neuronokban.** Az IGF-1 aktiválja a PI3K-t, amely foszforilálja a PIP<sub>2</sub>-t PIP<sub>3</sub>-á. A sejtben a TRPV1-t deaktívált állapotban tartja a PIP<sub>2</sub>. A PI3K aktiválásával a PIP<sub>2</sub> -PIP<sub>3</sub> arány eltolódik és a TRPV1 felszabadul a gátlás alól. A TRPV1 aktiválódása gátolja DGL-t és csökkenti a 2-AG termelődését, mely megszünteti a preszinaptikus tónusos gátlást, amelyet a retrográd endokannabinoid rendszer okoz. Így a preszinaptikus oldalról érkező serkentő hatású GABA ürülése felszabadul a gátlás alól.

**Rövidítések:** IGF-1R: Inzulin-szerű növekedési faktor 1 receptor; JB1: IGF-1R antagonist; PI3K: Foszfoinozitol-3-kináz; LY294002: PI3K blokkoló; PIP<sub>2</sub>: Foszfatidilinozitol 4,5-biszfoszfát; PIP<sub>3</sub>: foszfatidilinozitol 3,4,5 triszfoszfát; DAG: Diacilglicerol; DGL: Diacilglicerol lipáz; TRPV1: tranziens receptor potenciál vanilloid 1, kation csatorna; AMG9810: TRPV1 antagonist; 2-AG: 2-Arachidonoylglycerol; CB1: Cannabinoid receptor 1-es típus; AM251: CB1 receptor antagonist; GABA<sub>A</sub>-R: GABA-A receptor; PTX: picrotoxin. A zöld nyilak serkentő kapcsolatot feltételeznek, a piros vonalak pedig gátlást.

## Az eredmények lehetséges felhasználása

A reprodukció energiaigényes folyamat. A krónikus energiahiány, melyet csökkent táplálékbevitel vagy fokozott, tartós fizikai igénybevétel képes megzavarni a hipotalamusz-hipofízis-gonád tengelyt. A nem megfelelő metabolikus hormon szintek az ovuláció elmaradását eredményezhetik. Ez nem csak súlyos energiahiány esetén történhet meg, az étrendünk megváltoztatása, diétázás is okozhat hasonló problémákat.

Emiatt fontos megértenünk a reprodukció centrális szabályozását, új lehetséges terápiák kifejlesztéséhez az anyagcserezavar okozott meddőség kezelésére és a helyes táplálkozás tudományos tényeken alapuló népszerűsítéséhez.

A metabolikus hormonok szintjének ingadozása képes megzavarni a HPG tengelyt, melynek egyik legsúlyosabb formája humán vonatkozásban az anorexia nervosa esetén következhet be. Ezenkívül diabetes és túlzott elhízás esetén is bekövetkezhet a petefészek ciklus zavara. A tézisben leírt új szabályozási mechanizmusok, amelyek révén a szekretin és az IGF-1 hat a GnRH neuronokra, felhívják a figyelmet arra a kockázatra, hogy az elhízás és a cukorbetegség terápiájaként kifejlesztett új gyógyszerek kettős élű karddá válhatnak, mivel metabolikus hatásuk mellett befolyásolják a termékenységet is. A kezelés a pubertás korai vagy késői megjelenését és a ciklus károsodását eredményezheti. Ezenkívül az IGF-1 magas szérumkoncentrációjáról feltételezik, hogy szerepet játszik a policisztás petefészek szindróma (PCOS) kórfolyamatában. Ez a szindróma az egyik leggyakoribb meddőséget okozó rendellenesség, amely a nők 5-10% -át érinti. Ezeknek a betegeknek a gyógyszeres kezelése óriási energiát igényel, hatalmas költségráfordításával. Az IGF-1R-rel kapcsolatos jelátviteli utak feltárása a GnRH neuronokban új lehetőségeket nyújt az ilyen típusú meddőségi problémák esetleges kezelésére.

A tézisekben tárgyalt eredményeim bemutatták két metabolikus szignálmolekula, a szekretin és az IGF-1 közvetlen szabályozó hatását a GnRH neuronokra, valamint az ezzel összefüggő molekuláris mechanizmusokat. Eredményeim továbbá alátámasztják az étrendbeli változások relevanciáját olyan reproduktív rendellenességekben, mint a PCOS, elhízás és a cukorbetegség. Az anyagcsere és a reproduktív rendszerek közötti kölcsönhatás jelentős klinikai jelentőséggel bír. Az energiaegyensúlyt és a szaporodás központi szabályozását összekapcsoló sejtes és molekuláris mechanizmusok még mindig nem pontosan ismertek. A szekretin és az IGF-1 hatásának tisztázásával a szaporodás központi szabályozásában hozzájárultunk ahhoz, hogy jobban megértsük a tápláltsági állapot és az ivarszervek kapcsolatát.

## Köszönetnyilvánítás

Mindenekelőtt mélységesen hálás vagyok *Dr. Farkas Imrének*, aki az oktatóm volt az egyetemi és Ph.D. tanulmányaim ideje alatt. Rengeteg türelmet és figyelmet kaptam, miközben megpróbálta megtanítani a tudományos gondolkodás és az elektrofiziológia alapjait. Nagyon sok jó tanácsot kaptam, amelyek elvezetnek az életemben.

Nagyon hálás vagyok *Prof. Liposits Zsoltnak* a támogatásáért, és azért, hogy lehetőséget adott a csoportjához való tartozásra. Sokat tanultam ebben a csoportban.

Szeretném kifejezni köszönetemet a *Doktori Iskolának*, különösképpen *Prof. Szederkényi Gábornak*, *Prof. Szolgay Péternek* és *Prof. Pongor Sándornak* a doktori programban való részvétel lehetőségéért, valamint *Dr. Vida Tivadarnénak* a doktori tanulmányaim során nyújtott türelméért és kedves segítségéért.

Köszönet volt és jelenlegi kollégáimnak: *Dr. Bálint Flóra*, *Dr. Péterfi Zoltán*, *Dr. Bardóczi Zsuzsanna*, *Beliczai Zsuzsanna*, *Göcz Balázs*, *Dr. Hakkel Erzsébet*, *Dr. Hrabovszky Erik*, *Juhász Andrea*, *Dr. Kalló Imre*, *Dr. Kádár Andrea*, *Kovács Balázs*, *Kővári Dóra*, *Dr. Molnár Csilla*, *Dr. Mohácsik Petra*, *Nagy Krisztina*, *Ruska Yvette*, *Dr. Sárvári Miklós*, *Dr. Skrapits Katalin*, *Dr. Stiftné Szilvássy Szabó Anett*, *Dr. Takács Szabolcs*, *Thrin Sarolta*, *Turek Márta*, *Váczi Viktória*, *Dr. Varga Edina*, *Dr. Vastagh Csaba*, *Wilheim Tamás*

Hálás vagyok segítségükért és a barátságos laboratóriumi hangulatért. Sok jó emléket őrzök.

Külön köszönetet mondanék még az elektrofiziológiai *Journal Club* tagjainak, akiktől sokat tanultam.

Végül, de nem utolsósorban örökké hálás leszek a *családomnak*, akik egész életemben támogattak. Nem hiszem, hogy valaha is viszonzni tudom akár egy kis részét is a támogatásnak, amit kaptam.

Különösen hálás vagyok *férjemnek*, *Varga Benedeknek*, aki szeretetével, türelmével támaszom volt az elmúlt években, egészen attól a pillanattól kezdve, amikor megismertem.

# PUBLIKÁCIÓK

## A tézis alapját képező publikációk

V. Csillag, C. Vastagh, Z. Liposits, and I. Farkas, "**Secretin Regulates Excitatory GABAergic Neurotransmission to GnRH Neurons via Retrograde NO Signaling Pathway in Mice**," (in eng), *Frontiers in Cellular Neuroscience*, Original Research vol. 13, no. 371, 2019. August 23. 2019, doi: 10.3389/fncel.2019.00371.

F. Balint, V. Csillag, C. Vastagh, Z. Liposits, and I. Farkas, "**Insulin-like growth factor 1 (IGF-1) increases GABAergic neurotransmission to GnRH neurons via suppressing the retrograde tonic endocannabinoid signaling pathway in mice**," (in eng), *Neuroendocrinology*, Dec 24 2020, doi: 10.1159/000514043.

## Egyéb a témához kapcsolódó publikáció:

C. Vastagh, V. Csillag, N. Solymosi, I. Farkas, and Z. Liposits, "**Gonadal Cycle-Dependent Expression of Genes Encoding Peptide-, Growth Factor-, and Orphan G-Protein-Coupled Receptors in Gonadotropin- Releasing Hormone Neurons of Mice**," (in eng), *Frontiers in Molecular Neuroscience*, vol. 13, p. 594119, 2020, doi: 10.3389/fnmol.2020.594119.

## Egyéb publikáció:

Biborka Bruzsik, Laszlo Biro, Dora Zelena, Eszter Sipos, Huba Szebik, Klara Rebeka Sarosdi, Orsolya Horvath, Imre Farkas, Veronika Csillag, Cintia Klaudia Finszter, Eva Mikics and Mate Toth "**Somatostatin neurons of the bed nucleus of stria terminalis enhance associative fear memory consolidation in mice**," (in eng), *The Journal of neuroscience*, Jan 14 2021, doi: 10.1523/jneurosci.1944-20.2020.

## References

- [1] H. R. Berthoud, "Vagal and hormonal gut-brain communication: from satiation to satisfaction," *Neurogastroenterology and Motility*, vol. 20 Suppl 1, pp. 64-72, May 2008, doi: 10.1111/j.1365-2982.2008.01104.x.
- [2] M. C. Evans and G. M. Anderson, "Integration of Circadian and Metabolic Control of Reproductive Function," (in eng), *Endocrinology*, vol. 159, no. 11, pp. 3661-3673, Nov 1 2018, doi: 10.1210/en.2018-00691.
- [3] M. Thiriet, *Vasculopathies : behavioral, chemical, environmental, and genetic factors*. Springer International Publishing AG (in English), 2019.
- [4] W. M. Bayliss and E. H. Starling, "The mechanism of pancreatic secretion," (in eng), *The Journal of Physiology*, vol. 28, no. 5, pp. 325-53, Sep 12 1902.
- [5] W. A. Banks, M. Goulet, J. R. Rusche, M. L. Niehoff, and R. Boismenu, "Differential transport of a secretin analog across the blood-brain and blood-cerebrospinal fluid barriers of the mouse," (in eng), *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, vol. 302, no. 3, pp. 1062-9, Sep 2002, doi: 10.1124/jpet.102.036129.
- [6] D. Dogrukol-Ak, F. Tore, and N. Tuncel, "Passage of VIP/PACAP/secretin family across the blood-brain barrier: therapeutic effects," (in eng), *Current Pharmaceutical Design*, vol. 10, no. 12, pp. 1325-40, 2004.
- [7] R. Wang, B. K. C. Chow, and L. Zhang, "Distribution and Functional Implication of Secretin in Multiple Brain Regions," (in eng), *Journal of Molecular Neuroscience : MN*, Jun 7 2018, doi: 10.1007/s12031-018-1089-z10.1007/s12031-018-1089-z.
- [8] F. Kimura, N. Mitsugi, J. Arita, T. Akema, and K. Yoshida, "Effects of preoptic injections of gastrin, cholecystokinin, secretin, vasoactive intestinal peptide and PHI on the secretion of luteinizing hormone and prolactin in ovariectomized estrogen-primed rats," (in eng), *Brain Research*, vol. 410, no. 2, pp. 315-22, May 5 1987.
- [9] J. Costales and A. Kolevzon, "The therapeutic potential of insulin-like growth factor-1 in central nervous system disorders," *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, vol. 63, pp. 207-222, Jan 15 2016, doi: 10.1016/j.neubiorev.2016.01.001.
- [10] S. Yakar *et al.*, "Normal growth and development in the absence of hepatic insulin-like growth factor I," *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 96, no. 13, pp. 7324-9, Jun 22 1999. [Online]. Available: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10377413>.
- [11] D. R. Clemmons *et al.*, "Reduction of plasma immunoreactive somatomedin C during fasting in humans," (in eng), *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, vol. 53, no. 6, pp. 1247-50, Dec 1981, doi: 10.1210/jcem-53-6-1247.
- [12] J. Frystyk, P. J. Delhanty, C. Skjaerbaek, and R. C. Baxter, "Changes in the circulating IGF system during short-term fasting and refeeding in rats," (in eng), *American Journal of Physiology*, vol. 277, no. 2, pp. E245-52, Aug 1999, doi: 10.1152/ajpendo.1999.277.2.E245.
- [13] A. A. Powolny, S. Wang, P. S. Carlton, D. R. Hoot, and S. K. Clinton, "Interrelationships between dietary restriction, the IGF-I axis, and expression of vascular endothelial growth factor by prostate adenocarcinoma in rats," (in eng), *Molecular Carcinogenesis*, vol. 47, no. 6, pp. 458-65, Jun 2008, doi: 10.1002/mc.20403.

- [14] A. Christoforidis, I. Maniadaki, and R. Stanhope, "Growth hormone / insulin-like growth factor-1 axis during puberty," (in eng), *Pediatric Endocrinology Reviews*, vol. 3, no. 1, pp. 5-10, Sep 2005.
- [15] S. S. Daftary and A. C. Gore, "IGF-1 in the brain as a regulator of reproductive neuroendocrine function," (in eng), *Experimental Biology and Medicine*, vol. 230, no. 5, pp. 292-306, May 2005, doi: 10.1177/153537020523000503.
- [16] A. Wolfe, S. Divall, and S. Wu, "The regulation of reproductive neuroendocrine function by insulin and insulin-like growth factor-1 (IGF-1)," *Frontiers in Neuroendocrinology*, vol. 35, no. 4, pp. 558-72, Oct 2014, doi: 10.1016/j.yfrne.2014.05.007.
- [17] T. Hashizume, K. Ohtsuki, and N. Matsumoto, "Plasma insulin-like growth factor-I concentrations increase during the estrous phase in goats," *Domestic Animal Endocrinology*, vol. 18, no. 2, pp. 253-63, Feb 2000. [Online]. Available: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10764980>.
- [18] K. Mense *et al.*, "The somatotrophic axis during the physiological estrus cycle in dairy heifers--Effect on hepatic expression of GHR and SOCS2," *Journal of Dairy Science*, vol. 98, no. 4, pp. 2409-18, Apr 2015, doi: 10.3168/jds.2014-8734.
- [19] S. S. Daftary and A. C. Gore, "The hypothalamic insulin-like growth factor-1 receptor and its relationship to gonadotropin-releasing hormones neurones during postnatal development," *Journal of Neuroendocrinology*, vol. 16, no. 2, pp. 160-9, Feb 2004. [Online]. Available: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14764003>.
- [20] J. K. Hiney, V. Srivastava, C. L. Nyberg, S. R. Ojeda, and W. L. Dees, "Insulin-like growth factor I of peripheral origin acts centrally to accelerate the initiation of female puberty," (in eng), *Endocrinology*, vol. 137, no. 9, pp. 3717-28, Sep 1996, doi: 10.1210/endo.137.9.8756538. *Endocrinology*.
- [21] M. J. Walenkamp *et al.*, "Homozygous and heterozygous expression of a novel insulin-like growth factor-I mutation," *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, vol. 90, no. 5, pp. 2855-64, May 2005, doi: 10.1210/jc.2004-1254.
- [22] S. A. Divall *et al.*, "Divergent roles of growth factors in the GnRH regulation of puberty in mice," (in eng), *Journal of Clinical Investigation*, vol. 120, no. 8, pp. 2900-9, Aug 2010, doi: 10.1172/jci41069.
- [23] S. Zhen, M. Zakaria, A. Wolfe, and S. Radovick, "Regulation of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) gene expression by insulin-like growth factor I in a cultured GnRH-expressing neuronal cell line," (in eng), *Molecular Endocrinology*, vol. 11, no. 8, pp. 1145-55, Jul 1997, doi: 10.1210/mend.11.8.9956.
- [24] R. A. Anderson, I. H. Zwain, A. Arroyo, P. L. Mellon, and S. S. Yen, "The insulin-like growth factor system in the GT1-7 GnRH neuronal cell line," (in eng), *Neuroendocrinology*, vol. 70, no. 5, pp. 353-9, Nov 1999, doi: 10.1159/000054496.
- [25] F. Bálint, Z. Liposits, and I. Farkas, "Estrogen Receptor Beta and 2-arachidonoylglycerol Mediate the Suppressive Effects of Estradiol on Frequency of Postsynaptic Currents in Gonadotropin-Releasing Hormone Neurons of Metestrous Mice: An Acute Slice Electrophysiological Study," (in eng), *Frontiers in Cellular Neuroscience*, vol. 10, p. 77, 2016, doi: 10.3389/fncel.2016.00077.

- [26] I. Farkas *et al.*, "Glucagon-Like Peptide-1 Excites Firing and Increases GABAergic Miniature Postsynaptic Currents (mPSCs) in Gonadotropin-Releasing Hormone (GnRH) Neurons of the Male Mice via Activation of Nitric Oxide (NO) and Suppression of Endocannabinoid Signaling Pathways," (in eng), *Frontiers in Cellular Neuroscience*, vol. 10, p. 214, 2016, doi: 10.3389/fncel.2016.00214.
- [27] I. Farkas *et al.*, "Retrograde endocannabinoid signaling reduces GABAergic synaptic transmission to gonadotropin-releasing hormone neurons," *Endocrinology*, vol. 151, no. 12, pp. 5818-29, Dec 2010, doi: 10.1210/en.2010-0638.
- [28] K. J. Suter *et al.*, "Genetic targeting of green fluorescent protein to gonadotropin-releasing hormone neurons: characterization of whole-cell electrophysiological properties and morphology," *Endocrinology*, vol. 141, no. 1, pp. 412-9, Jan 2000, doi: 10.1210/endo.141.1.7279.
- [29] M. R. Williams, J. R. Fuchs, J. T. Green, and A. D. Morielli, "Cellular mechanisms and behavioral consequences of Kv1.2 regulation in the rat cerebellum," (in eng), *The Journal of Neuroscience*, vol. 32, no. 27, pp. 9228-37, Jul 4 2012, doi: 10.1523/jneurosci.6504-11.2012.
- [30] S. Keshavarzi, J. M. Power, E. H. Albers, R. K. Sullivan, and P. Sah, "Dendritic Organization of Olfactory Inputs to Medial Amygdala Neurons," (in eng), *The Journal of Neuroscience*, vol. 35, no. 38, pp. 13020-8, Sep 23 2015, doi: 10.1523/jneurosci.0627-15.2015.
- [31] A. H. Seidl, E. W. Rubel, and A. Barria, "Differential conduction velocity regulation in ipsilateral and contralateral collaterals innervating brainstem coincidence detector neurons," (in eng), *The Journal of Neuroscience* vol. 34, no. 14, pp. 4914-9, Apr 2 2014, doi: 10.1523/jneurosci.5460-13.2014.
- [32] T. Kleppisch, F. J. Klinz, and J. Hescheler, "Insulin-like growth factor I modulates voltage-dependent Ca<sup>2+</sup> channels in neuronal cells," (in eng), *Brain Research*, vol. 591, no. 2, pp. 283-8, Sep 25 1992, doi: 10.1016/0006-8993(92)91709-n.
- [33] I. Farkas, C. Vastagh, M. Sarvari, and Z. Liposits, "Ghrelin decreases firing activity of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) neurons in an estrous cycle and endocannabinoid signaling dependent manner," *PloS one*, vol. 8, no. 10, p. e78178, 2013, doi: 10.1371/journal.pone.0078178.
- [34] C. M. McDermott and L. A. Schrader, "Activation of kappa opioid receptors increases intrinsic excitability of dentate gyrus granule cells," *Journal of Physiology*, vol. 589, no. Pt 14, pp. 3517-32, Jul 15 2011, doi: 10.1113/jphysiol.2011.211623.
- [35] T. A. Ponzio and G. I. Hatton, "Adenosine postsynaptically modulates supraoptic neuronal excitability," *Journal of Neurophysiology*, vol. 93, no. 1, pp. 535-47, Jan 2005, doi: 10.1152/jn.01185.2003.
- [36] S. Meis, T. Munsch, and H. C. Pape, "Antioscillatory effects of nociceptin/orphanin FQ in synaptic networks of the rat thalamus," *The Journal of Neuroscience*, vol. 22, no. 3, pp. 718-27, Feb 1 2002. [Online]. Available: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11826101>.
- [37] V. Filpa *et al.*, "Interaction between NMDA glutamatergic and nitrergic enteric pathways during in vitro ischemia and reperfusion," *European Journal of Pharmacology*, vol. 750, pp. 123-31, Mar 5 2015, doi: 10.1016/j.ejphar.2015.01.021.

- [38] B. S. Chow, E. G. Chew, C. Zhao, R. A. Bathgate, T. D. Hewitson, and C. S. Samuel, "Relaxin signals through a RXFP1-pERK-nNOS-NO-cGMP-dependent pathway to up-regulate matrix metalloproteinases: the additional involvement of iNOS," *PloS one*, vol. 7, no. 8, p. e42714, 2012, doi: 10.1371/journal.pone.0042714.
- [39] L. Gong *et al.*, "Oxytocin-induced membrane hyperpolarization in pain-sensitive dorsal root ganglia neurons mediated by Ca(2+)/nNOS/NO/KATP pathway," *Neuroscience*, vol. 289, pp. 417-28, Mar 19 2015, doi: 10.1016/j.neuroscience.2014.12.058.
- [40] I. Glovaci, D. A. Caruana, and C. A. Chapman, "Dopaminergic enhancement of excitatory synaptic transmission in layer II entorhinal neurons is dependent on D(1)-like receptor-mediated signaling," (in eng), *Neuroscience*, vol. 258, pp. 74-83, Jan 31 2014, doi: 10.1016/j.neuroscience.2013.10.076.
- [41] T. Kaneko *et al.*, "Activation of adenylate cyclase-cyclic AMP-protein kinase A signaling by corticotropin-releasing factor within the dorsolateral bed nucleus of the stria terminalis is involved in pain-induced aversion," (in eng), *The European Journal of Neuroscience*, vol. 44, no. 11, pp. 2914-2924, Dec 2016, doi: 10.1111/ejn.13419.
- [42] T. Jian *et al.*, "TRPV1 and PLC Participate in Histamine H4 Receptor-Induced Itch," *Neural Plast*, vol. 2016, p. 1682972, 2016, doi: 10.1155/2016/1682972.
- [43] M. G. Liu and M. Zhuo, "No requirement of TRPV1 in long-term potentiation or long-term depression in the anterior cingulate cortex," *Molecular Brain*, vol. 7, p. 27, Apr 5 2014, doi: 10.1186/1756-6606-7-27.
- [44] J. Vriens *et al.*, "TRPM3 is a nociceptor channel involved in the detection of noxious heat," *Neuron*, vol. 70, no. 3, pp. 482-94, May 12 2011, doi: 10.1016/j.neuron.2011.02.051.
- [45] L. Zhang, M. Kolaj, and L. P. Renaud, "Endocannabinoid 2-AG and intracellular cannabinoid receptors modulate a low-threshold calcium spike-induced slow depolarizing afterpotential in rat thalamic paraventricular nucleus neurons," *Neuroscience*, vol. 322, pp. 308-19, May 13 2016, doi: 10.1016/j.neuroscience.2016.02.047.