

## KÍSÉRLETI ORVOSTUDOMÁNYI KUTATÓINTÉZET

1083 Budapest, Szigony u. 43., 1450 Budapest, Pf. 67.

Telefon: 210-9400, Fax: 210-9423

e-mail: info@koki.hu, honlap: www.koki.hu

### I. A kutatóhely fő feladatai a beszámolási évben

Az Intézet fő feladata az idegtudományok területén végzett alapkutatás, azaz a céllal, hogy feltárva az idegműködés törvényszerűségeit elősegítse az ember egészségnek megővését és az eredményes gyógyítást. Feladata a művelt tudományterületek korszerű kutatómódjának, módszertanának fejlesztése is. Részt vesz a graduális- és posztgraduális képzésben, továbbá a tudományos ismeretterjesztésben. Hazai és külföldi együttműködések keretében kutatási lehetőségeket teremt az idegrendszerrel foglalkozó szakemberek számára. Törekcszenek a legtehetségesebb fiatal kutatók alkalmazására, ennek érdekében csatlakoztak az Európai Idegtudományi Intézetek Hálózatához (ENINET).

A különböző idegtudományi kérdéskörökre szakosodott kutatócsoportok – a legkorszerűbb módszertant és multidiszciplináris megközelítést alkalmazva - elsősorban gyógyszer-tani, ezen belül molekuláris és celluláris farmakológiai kutatásokkal és módszerek fejlesztésével, endokrin neurobiológiai és molekuláris neuroendokrinológiai kutatásokkal, az agykéreg és a thalamusz kutatásával, celluláris neurobiológiai kutatásokkal, molekuláris neurobiológiai és genetikai-továbbá idegi sejtbiológiai kutatásokkal és magatartás neurobiológiai kutatásokkal foglalkoznak.

A főbb területek: a neurotranszmisszió, a sejtprotekción, a hallási, a tanulási és memóriafolyamatok, a stressz, az agresszió, a szorongás, az addikció, az ischaemiás és epilepsziás agykárosodás, a hormonszekréció központi és perifériás szabályozása, a táplálkozás és az elhízás új kísérleti állatmodellek előállítása és genetikailag módosított modellek tárolása. A stresszel, az ösztrogén szintek kóros változásaival, a pajzsmirigyműködés rendellenességeivel, valamint metabolikus betegségekkel szembeni küzdelem jegyében kutatják a neuroendokrin és autonóm szabályozás összefüggéseit. További célkitűzés a stresszhormonok és az agresszivitás közötti összefüggések, a traumatikus stresszorok következményeinek tanulmányozása, a cannabinoid rendszernek a magatartás szabályzásában játszott szerepének vizsgálata, valamint a vazopresszin krónikus stresszben betöltött szerepének tisztázása. Fejlesztő vállalkozásokkal együttműködve mind eredményesebben törekcszenek új vizsgáló eljárások és hatóanyagok kifejlesztésére.

### II. Az év folyamán elért kiemelkedő kutatási és más jellegű eredmények, azok gazdasági-társadalmi haszna

#### *Celluláris és hálózatneurobiológiai kutatások*

##### Agykéreg kutatások

A cannabinoid receptorokkal kapcsolatos kutatások során igazolták, hogy temporális lebeny eredetű epilepsziás betegek hippocampusában változik az endokannabinoid rendszer molekuláris architektúrája. Kimutatták, hogy a CB<sub>1</sub> receptor eltűnik a serkentő szinapszist formáló glutamáterg axon terminálisokból, míg a GABAerg terminálisokon nem változik meg a mennyisége. Ezek az eredmények rendkívül jelentősek, mivel rámutatnak, hogy az endokannabinoid rendszer érintett egy olyan kórélettani folyamatban, amelyben a serkentő szinapszisek egy endogén csillapító mechanizmusa sérül, ezzel hozzájárulva az epilepsziás neuronhálózatok magasabb serkenthetőségéig

szintjéhez.

További kísérleteikben bizonyították, hogy a capsaicin nevű alkaloida a perifériás idegrendszerben ismert hatásmechanizmusaitól eltérően a kérgi hálózatokban nem TRPV1 receptorokon keresztül növelik a serkentő neurotranszmitterek felszabadulását. Ez a felismerés utat nyithat a serkentő szinapszisok egy új típusú szabályozásának megértéséhez.

A 2008 évben kimutatták, hogy a különböző hippocampális gátló szinapszisokban a nitrogén monoxid szignalizációs útvonal fontos elemei megtalálhatóak. E munkák jelentősek lehetnek a fontos gyógyszer-célpontnak tartott GABAerg ingerületáttevődés működésének jobb megértésében.

Bizonyították, hogy a szerotoninerg nucleus raphe medianus és a hippocampus közötti hatékony és gyors kapcsolatban a szerotonin mellett nagyobb részt glutamát a jelátvivő molekula. Farmakológiai és anatómiai módszerekkel kimutatták, hogy a két neurotranszmitter együttesen serkenti a hippocampus egyes sejtjeit. A glutamát jelenléte a szerotoninerg rendszerben felveti a lehetőséget, hogy a szerotoninhez kapcsolt kóros folyamatok hátterében glutamaterg mechanizmusokkal is számolni kell. Ez közelebb vihet korábban megmagyarázhatatlan jelenségek okainak feltárásához (pl. a szerotoninerg sejtekre ható antidepresszánsok hatásmechanizmusa).

Intraoperatív mélyelektrodás elvezetéssel bizonyították, hogy epilepsziás betegek agyában a subiculum és a temporális kéreg egymástól függetlenül is képes aktiválódni, de a hippocampus egyes alrégió szinte mindig szinkron bocsájtanak ki tüskéket. Megállapították, hogy mind a serkentő, mind a gátló transzmisszióhoz kapcsolódó cannabinoid rendszer megváltozik pilocarpine-indukálta epilepsziában, de a változások tranziensek és a rohamok után különböző ideig állnak fenn.

Hasznosíthatóság A rövidtávú változások lehetőséget nyújthatnak új rohamblokkoló szerek előállítására.

### Thalamus kutatások

Elektronmikroszkópos sorozatmetszetek 3D rekonstrukciójával igazolták hogy a parkinsonos tünetek kialakításáért felelős gátló pálya patkányban csakúgy, mint a humán vonatkozásban sokkal fontosabb főemlősök esetében is különleges szerkezettel bír, minden terminális sok szinapszist alkot. Kimutatták, hogy ezek a gátló terminálisok, a többi talamikus gátló terminállal szemben, magas frekvenciás aktivitás esetén is képesek fenntartani a hatékony ingerület átvitelt.

Hasznosíthatóság Egy új típusú gátlópálya a thalamuszban, melynek szerkezete és működése eltér a többitől felveti e gátlás szelektív, terápiás modulálásának lehetőségét. E szinaptikus kapcsolat molekuláris szintű megismerése olyan új drog célpontok azonosításához vezethet, melyek kedvező hatással bírnak számos neurológiai kórképben (pl. Parkinson-kór).

### Celluláris Ideglettani kutatások

A szaglógumó sejtjeinek és szinaptikus kapcsolatrendszerének feltárásában tettek fontos előrelépést 2008-ban. *In vitro* élettani és celluláris neuroanatómiai módszerek kombinálásával megállapították, hogy az úgynevezett mély rövid axonú sejtek három jól definiálható szubpopulációt alkotnak. Ezen felül, a feszültség-függő nátrium és kálium csatornák szubcelluláris eloszlásának alapelveit vizsgálták a szaglógumó, kisagy, agykéreg és hippocampus azonosított idegsejtjeiben. Eddigi széles körben elfogadott nézettel szemben, kimutatták, hogy a különböző idegsejtek axon iniciális szegmentumának (AIS) ioncsatorna összetétele különböző

Hasznosíthatóság Az eredmények rámutatnak az idegsejtek morfológiai és molekuláris heterogenitására és hozzájárulnak ezen idegsejtek ideghálózatokon belüli szerepének megismeréséhez.

Az osztály kutatási projektjeinek megvalósításában 43 fő vett részt, a kutatási témákra fordított pályázati források összege 198,2 millió forint, a költségvetési támogatás összege 76,9 millió forint volt.

### *Farmakológiai kutatások*

#### A dendritek plaztikus működéseinek megfigyelése két-foton képalkotással

##### 1. Az $\alpha_2$ -adrenerg receptorok plaztikus hatásai a dendritekben prefrontális kéregben

Eredményeik azt mutatják, hogy az  $\alpha_2$ -adrenerg receptorok aktivációja a dendritikus akciós potenciálok kiválthatóságát jelentős mértékben fokozza a prefrontális kéreg piramissejtjeiben. Így erőteljes  $\text{Ca}^{2+}$  válaszok alakulnak ki a noradrenalin felszabadulása idején már alacsonyabb frekvenciájú akciós potenciál sorozatok tüzelése esetén is. Ezáltal kisebb ingerek is képesek kiváltani a dendritikus tüskét, aminek szerepe lehet a munkamemória kialakulásakor megfigyelt ún. késleltetett tüzelés fenntartásában. A dendritikus  $\text{Ca}^{2+}$  válaszok szintjén tehát a noradrenalin pozitív hatása a munkamemóriára nézve, és elősegíti a különböző kérgi és kéregalatti bemenet integrációját a dendritekben.

##### 2. Nikotin receptorok hatásai piramissejt és interneuron dendritek $\text{Ca}^{2+}$ dinamikájára a hippocampusban

A nikotin receptorokról ismert hogy erőteljes serkentő hatással bírnak különböző kérgi funkcióra nézve így elősegítik a memória és a tanulás folyamatait különböző agyterületeken. A intracelluláris  $\text{Ca}^{2+}$  szintjén azonban kevés adat áll rendelkezésre arra vonatkozólag, hogy a nikotin milyen mechanizmussal képes ezeket a funkciókat serkenteni a dendritekben. Egyik kísérletsorozatunkban a nikotin alacsony koncentrációban (1  $\mu\text{M}$ ) képes volt az akciós potenciál sorozatokkal előidézett  $\text{Ca}^{2+}$  válaszok serkentésére a hippocampusz piramissejtek dendrittüskéiben. Magasabb koncentrációban adagolva, a nikotin önmagában is képes volt akciós potenciál sorozatokat kiváltani, így ehhez csatlakozó  $\text{Ca}^{2+}$  válaszokat előidézni a dendrittüskékben. Egy másik kísérletsorozat bizonyította, hogy a hippocampusz interneuronjaiban is kiválthatóak ezek a jelenségek, és itt igazolták azt is, hogy lokális plaztikus változásokhoz csatlakoznak a nikotin receptor ingerléssel kiváltott  $\text{Ca}^{2+}$  dendritikus válaszok. Ezeket a kísérletek egy egyedi fejlesztésű, nagy felbontású két-foton mikroszkóp használatával végezték el.

#### Oxigén szabadgyökök felszabadulásának fluorescens megfigyelése a hippocampusban ischémias körülmények között

Az ischemia során fellépő oxigén szabadgyök felszabadulás direkt megfigyelése az agyban egy régi célkitűzést jelent az idegtudományok számára. Az osztály kutatói ebben a kísérletsorozatban specifikus fluorescens indikátorokat használtak, amelyek az oxigén szabadgyökök szintjét időben pontosan mutatják meg hippocampusz agyszeletekben in vitro. Az oxigén-glukóz elvonás (OGD) egy jelentős oxigén szabadgyök képzést váltott ki, amelyet befolyásolni lehetett a szabadgyök rendszer metabolizmusában részt vevő enzimek farmakológiai modulációjával. Külön érdekesség volt az, hogy az OGD a szabadgyök szintet a hipoxiára amúgy legérzékenyebb CA1 régióban fokozta a legnagyobb mértékben, és nem volt hatása az ellenálló régióként ismert gyrus dentatusban. A hatásmechanizmus vizsgálata kimutatta az NMDA receptor aktiváció és a nitrogén monoxid felszabadulás szerepét a szabadgyök képzés folyamatában. Ez a vizsgálat volt az első direkt vizualizálása az oxigén szabadgyökök képzésének és eltüntetésének akut hippocampusz szeletekben, amelyek nagymértékben megerősítették azt az elképzelést hogy a szabadgyökök képzése lehet a CA1 régió irodalomból jól ismert ischémias sérülékenységek.

#### A dopaminerg neurotranszmisszió modulációja a striatumban diclofenac kezelés során

A diclofenac (DCF) egy széles körben használt nem szteroid gyulladáscsökkentő, amely mint mitokondriális toxin is ismert. Korábbi irodalmi munkákból ismert, hogy a szelektív

mitokondriális komplex I gátlás oxidatív stressz mellett a dopaminerg működés romlását okozza a striatumban. Az osztály kutatói ebben a vizsgálatban arra kerestek választ, hogy a DCF befolyásolja-e a striatális dopaminerg funkciót. A patkány agyából származó striatum szeleteket radioaktívan jelölt dopaminnal töltötték fel és *in vivo*, illetve *in vitro* DCF kezelést alkalmaztak. Az *in vitro* DCF kezelés csökkentette a dopamin felvételt és az agyszeletek dopamin tartalmát. A H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> által kiváltott dopamin felszabadulást is fokozta a kezelés. Az oxigén szabadgyökök képzése nem változott DCF kezelés alatt. Az *in vivo* DCF kezelés nem okozott változást a striatum dopamin tartalmában a dopamin felvétele a szeletekbe viszont emelkedett. A H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-kiváltotta dopamin felszabadulás csökkent az *in vivo* kezelés után. Összességében az *in vivo* illetve az *in vitro* DCF kezelés igen eltérő hatást okoz a striatum dopaminerg funkciójára nézve; az *in vitro* kezelés során az anyag mitokondriális toxin tulajdonságai dominálnak (hasonlóan a rotenon hatásához) míg *in vivo* kezelést követően inkább elősegíti a dopaminerg hatások érvényesülését.

#### A dopamin felszabadulás modulációja a belsőfülben

A belsőfülben felszabaduló dopaminról az utóbbi idők kutatásai egyértelműen igazolták, hogy protektív hatású, a halláskárosodások kivédésében fontos szerepet játszik. Az osztály kutatóinak eredményei szerint a dopamin felszabadulás szerotonin 5-HT<sub>6/7</sub> antagonistákkal hatékony módon serkenthető lokálisan. A dopamin szint emelő hatás a gátló GABA bemenetek gátlásával valósul meg, azaz a gátlás gátlása okozza a megfigyelt serkentést. A Dopamin D4 receptorok is segítő szerepet játszanak ebben a hatásban. Ezek az adatok arra utalnak, hogy az 5-HT<sub>6/7</sub> antagonisták alkalmazása egy potenciális új gyógyszer-célpontot kínál a halláskárosodás gyógyszeres terápiájában. Egy másik kísérletsorozatban a SE Fül-Orr-Gége klinikájával együttműködésben felfedezték, hogy az NMDA receptorok izgatása specifikus agonistákkal szintén jelentős dopamin szint emelkedést okoz a belsőfülben. Ebben a hatásban a helyi nitrogén monoxid termelés is szerepet játszik. Az NMDA receptoron keresztül megvalósuló dopamin felszabadulás minden bizonnyal egy endogén védelmi mechanizmusnak tekinthető, amellyel az ischémias körülmények között túlzottan nagy mennyiségben felszabaduló glutamát saját toxikus hatásait képes gátolni a védő hatású dopamin mobilizálásán keresztül.

#### Adenozin A2A receptorok neuroimmun hatásai

Az adenozin egy biológiailag aktív molekula, amely metabolikus stressz során keletkezik a szervezetben különböző traumák vagy gyulladásos folyamatok eredményeképpen. Az A2A receptorok hatásait a citokin termelésre, így az IL-10, IL-6 és MIP elválasztásra már korábban leírtuk. A makrofágok fontos szerepet játszanak a patogének eltávolításában és a citokintermelésben szepszis során. Egy kísérletsorozatban az osztály kutatói azt vizsgálták, hogy a makrofág rendszer szerepet játszik-e a bakteriális-terhelés csökkentésében és a citokin produkcióban olyan egerekben amelyekben az A2A receptor inaktív van. A szepszisben szenvedő, adenozin A2A receptor génkiütött állatokból származó makrofágokban az IL-10 termelés csökkent. Ezzel szemben az IL-6 és a MIP-2 képzése a szeptikus A2A génhiányos állatokban fokozott volt a vad típusú egerrel való összehasonlításban szepszis során. Mindez arra enged következtetni, hogy nem a peritoneális makrofágok felelősek a csökkent bakteriális terhelésért és a csökkent MIP-2 és IL-6 termelésért amely a szeptikus A2A génkiütött állatokban figyelhető meg. Ezek a makrofágok okozzák viszont az A2A receptorok hatását az IL-10 termelésre szepszis alatt. Az adenozin A2A receptorok a T-sejt aktivációt is képesek gátolni. Egy kísérletsorozatban az osztály kutatói megvizsgálták az A2A receptorok szerepét a T-helper Th1 és Th2 sejt fejlődés és funkció szabályozásában. A receptorok aktiválása csökkentette a T-sejtek átalakulását Th1 és Th2 sejtekké T-sejt receptor-által stimulált módon. Az A2A receptor génhiányos állatokon végzett kísérletek rámutattak arra, hogy az A2A receptor aktiváció gátolja a Th1 és a Th2 sejt fejlődést az proliferáció és az IL-2 termelés gátlásával naiv T-sejtekben. Összességében ezek az adatok rávilágítanak arra, hogy az A2A receptorok határozott gátló hatással

rendelkeznek a korai sejtfejlődés során és a Th1 és Th2 sejtek késői funkcionális hatásaiban is fontos szerepet játszanak.

Hasznosíthatóság A korszerű opto-fizikai és molekuláris biológiai módszerek alkalmazásával fontos új gyógyszeres felfedezéseket tettek a nikotin, glutamát és alfa2-adrenerg receptorok kutatása terén. Ezek az ismeretek hosszabb távon új gyógyszer-célpontok felismerését eredményezhetik, illetve már piacon lévő szerek hatékony alkalmazásához vezethetnek új indikációs területeken.

Az osztály kutatási projektjeinek megvalósításában 40 fő vett részt, ebből 36 fő dolgozott az intézetben, 4 külső munkatárs volt. A kutatási témákra fordított pályázati források összege 270,5 millió forint, a költségvetési támogatás összege 89,3 millió forint volt.

### *Endokrin neurobiológiai és molekuláris neuroendokrinológiai kutatások*

#### Endokrin neurobiológiai kutatások

Leírták, hogy a ghrelin táplálkozást serkentő hatása kivédhető az endokannabinoid rendszer gátlásával. A ghrelin ezen hatása részben a hipotalamusz paraventriculáris magjában (PVN) elhelyezkedő parvocelluláris idegsejtek serkentő bemenetének CB1 receptor közvetített gátlásán keresztül alakul ki (12 fő/4 az osztályon dolgozik). Igazolták, hogy a mitogén aktivált protein kináz aktivációja szükséges a hipofiziotróf CRH idegsejtek bakteriális lipopoliszacharid (LPS) által kiváltott aktivációjához (5/1 fő). Leírták, hogy LPS kezelés hatására a PVN-ben fokozódik a CART szintézise, továbbá, hogy a PVN LPS aktivált CART sejtjeinek egy része a nucleus tractus solitariusba vetül (6/2 fő).

Bizonyították, hogy a pajzsmirigyhormonok metabolizmusát katalizáló dehidrogenáz enzimrendszer tagjai homodimereket alkotnak (12/2 fő). Összefoglaló cikket jelentettek meg a pajzsmirigyhormon metabolizmus idegrendszeri és perifériás szabályozásáról (5/2 fő ill. 8/2 fő).

Kimutatták, hogy az immunrendszer egyik részéhez, a komplement rendszerhez tartozó C5a receptora megtalálható a hipotalamusz hormon termelő idegsejtjein, mely eredmény a hormon- és az immunrendszer kölcsönhatását jelzi. Emellett demonstrálták, hogy az ösztrogén hormon emeli ezekben az idegsejtekben a C5aR aktivációjakor kapott válaszreakció nagyságát (7/5 fő).

Microarray technológia alkalmazásával részletesen feltérképezték a GnRH-t termelő GT1-7 sejt vonal ösztrogén által regulált génjeit (5/3 fő). Összefoglaló cikket jelentettek meg az endogén glutamátot tartalmazó neuroendokrin sejt típusok élettanáról és a neuroszekretoros sejtek glutamát tartalmának jelentőségéről (2/2 fő). Leírták kolinerg afferensek szerepét a GnRH-t termelő neuronrendszer afferens szabályozásában (3/3 fő).

Jellemezték az  $\alpha$  és/vagy  $\beta$  ösztrogén receptort expresszáló idegsejtek fenotípusát és e receptor altípusok nemtől függő megoszlását mutatták ki az egér szuprachiasmátikus magban (8/4 fő).

Kimutatták, hogy az agy nemi differenciálódásában az 5-HT<sub>2</sub> receptor aktiválódása szerepet játszhat az androgén receptor expressziójának szabályozása révén (5/1 fő).

Hasznosíthatóság A csoport gyógyszeripari partnerekkel folytat együttműködést hangulati zavarral járó kórképek és neuroprotekciónak témakörökben

#### Molekuláris neuroendokrinológiai kutatások

Molekuláris Neuroendokrinológia Kutatócsoport munkatársai a 2008. év folyamán vizsgálatokat folytattak a stressz és a stresszel kapcsolatos megbetegedések okainak és neurobiológiai mechanizmusainak megismerésére. A kutatásaik középpontjában a stressz és az anyagcsere központi idegrendszeri szabályozó strukturái között fennálló kapcsolat volt. Globális génextpressziós változásokat mikroarray technikával feltérképezték és kimutatták, hogy krónikus

variábilis stressz hatására mintegy 80 gén expressziója változik meg a hipotalamusz paraventricularis területén. Ezekkel a vizsgálatokkal párhuzamosan telemetriával követték, hogyan változik krónikus stressz hatására a laboratóriumi rágcsálók táplálékfelvételi magatartása és ez milyen génextpressziós változásokkal jár ez együtt a hipotalamuszban és az agytörzsben.

Kimutatták a paraszimpatikus tónus fokozódását leptin receptor hiányos Zucker patkányokon, melyek a metabolikus szindróma modell-állatainak tekinthetők.

Azonosítottak egy olyan szabályzó hálózatot patkányok agyában, melynek bemenete a zsírszövet által termelt leptin, mely aktiválja a hipotalamuszban, a középgagyban és az agytörzsben az anorexigen nesfatinerger neuronokat, amelyek pedig a részt vesznek a zsírszövet autonóm beidegzésében.

Azonosítottak egy olyan pozitív visszacsatolási mechanizmust morfium függő patkányok agyában, amelyben a morfium megvonást követő stressz hatására megemelkedő kortikoszteron serkenti a paraventriculáris maghoz az agytörzsből felszálló serkentő katecholaminerg pályát.

Neuro-endokrin-immunológiai vizsgálataik felderítették, hogy a központi idegrendszerben a mikroglia sejtek az eddig uralkodó állásponttal szemben - védő hatást fejtenek ki bizonyos inzultusok pl. stressz vagy ishemias stroke esetén.

Hasznosíthatóság A Molekuláris Neuroendokrinológia Kutatócsoportban megállapították, hogy az addiktív drogok használatához való visszatérés drogmegvonás után legtöbbször annak a stresszhatásnak tudható be, amivel a drog megvonása jár. E folyamat központi idegrendszeri hátterét kutatva felfedeztek egy olyan önerősítő neurobiológiai folyamatot, amelynek gyógyszeres gátlásával csökkenteni lehet a morfium megvonást kísérő stresszhatást és ezzel visszaesés valószínűségét.

Az osztály kutatási projektjeinek megvalósításában 19 fő vett részt, a kutatási témákra fordított pályázati források összege 86,8 millió forint, a költségvetési támogatás összege 79,6 millió forint volt.

### *Géntechnológiai és fejlődésneurobiológiai kutatások*

#### Molekuláris biológiai és genetikai kutatások

A fluoreszcensen jelzett GABAerg idegsejteket tartalmazó transzgenikus egérmodelljeik segítségével széles nemzetközi együttműködésben folytatták ezeknek az idegsejt csoportoknak a funkcionális jellemzését és fejlődésük tanulmányozását. Ennek keretében többek között leírták két különböző kérgi GABAerg hálózatnak a kannabinoid érzékenységet és a szinaptikus tulajdonságait, a GluR1 receptor expresszió transz-szinaptikus szabályozását a szaglógumóban és az NK1/NK3 neurokinin receptorok eltérő expresszióját a „nucleus tractus solitarius“-ban valamint a „vagus“ motoros magban, továbbá kimutatták, hogy felnőtt korban is újonnan képződő neuronok vándorolnak a szubventrikuláris zónából az agykéregbe.

Korábbi eredményeikre alapozva, amely szerint a funkcionális GABA jelátviteli rendszer jelen van a fejlődő szemlencsében is, olyan transzgenikus egereket állítottak elő a glutaminsav dekarboxiláz enzim lencse-specifikus túltermelésével, amelyekben a GABA fejlődésreguláló szerepe in vivo tanulmányozható. Saját modelljeikben a mesterségesen megnövekedett GABA szint, illetve a GAD65- és GAD67 génhiányos egerekben pedig a csökkent GABA szint következményeinek vizsgálatával megállapították, hogy a szemlencse elsődleges rostsejtjeinek elongációját (differenciációját) a GAD65 által szintetizált GABA befolyásolja. Míg perinatális korban a másodlagos rostsejtek proliferációjának szabályozásában az a GABA vesz részt, amit a GAD67 enzim szintetizál.

Olyan genetikailag módosított egérmodellek előállítását is megkezdték, amelyek segítségével az idegrendszer működésének és pszichiátriai betegségeknek az epigenetikus alapjai vizsgálhatók.

A kadherin sejtadhéziós molekulák idegrendszer fejlődésében és működésében betöltött szerepének in vivo vizsgálatához olyan transzgenikus egereket állítottak elő, amelyekben az N-kadherint és annak domináns negatív változatát fejeztették ki a fejlődő idegsejtekben. Ezekben a modellekben az N-kadherin szerepe tanulmányozható a kérgi serkentő idegsejtek radiális vándorlásában.

Meghonosították a Magyarországon még nem alkalmazott szomatikus géntranszfer módszert, az in utero elektroporációt is. Ezzel a technikával tovább vizsgálták az N-kadherin szerepét az interneuronok radiális migrációjában is. Megkezdték a specifikus GPI-horgonnyal membránhoz rögzített kadherin13 tanulmányozását is. Meghatározták ennek az egyik alcsoportba sem sorolható kadherin típusnak az RNS szintű expresszióját a fejlődő idegrendszerben.

#### Idegi sejt és fejlődésbiológiai kutatások

Az embrionális neuroektoderma eredetű NE-4C sejtvonalat és zöld fluoreszcens fehérjét expresszáló GFP-4C al-klónját az American Tissue Types Cell Collection (ATTC) nemzetközi sejtbank katalógusba vette és forgalmazásra elfogadta.

A testtengely szerinti pozíciót jelző/determináló *emx2* gént „over-expresszáló” NE-4C<sup>Emx2+</sup> idegi őssejt-klónokból sikerült katekolaminerg idegsejteket létrehozni, amelyek az NE-4C sejtekből nem fejlődnek.

Szintetikus adhezív peptid-konjugátum (AK-c(RGDfC)) alkalmazásával kidolgozták embrionális radiális glia-sejtek izolálásának módszerét és biológiai additívumoktól mentes környezetben való fenntartását. Létrehoztak radiális glia sejt-klónokat; azok jellemezése folyamatban van.

Különböző adhezív peptidek kombinálásával gradiens adhezív felszíneket hoztak létre, amelyek segítségével sejtek pozícionálhatók mesterséges felületeken.

Mikroelektrofiziológiai vizsgálatokkal leírtak idegi ős/progenitor-sejtekre jellemző bioelektromos sajátosságokat.

Megállapították, hogy az idegszövet fejlődésében fontos morfogenetikus szerepet játszó retinsav (az A-vitamin aktív származéka) jelen van az embrionális, újszülött és felnőtt egéragy neurogén zónáiban. Felnőtt agyban a legfontosabb retinsav-forrást az agyhártyák és az agyi érfonatok biztosítják.

Bizonyították, hogy a retinsav az asztroglia képzést a sejtfejlődés eltérő szakaszaiban eltérő módon szabályozza. Az elkötelezetlen idegi őssejteket elkötelezi egy későbbi, késleltetett glia genesisre, de a szöveti fejlődésre már elkötelezett progenitor sejtek glia irányú fejlődését gátolja.

A sejtbiológiai folyamatok kinetikai vizsgálatára video-mikroszkópos kiértékelő rendszereket dolgoztak ki.

Hasznosíthatóság: A MicroVákuum Kft-vel együttműködve OWLS bioszenzorok fejlesztését végzik (2 benyújtott szabadalom). Az NTP BIO\_SURF projekt keretében – az MTA-ELTE Peptidkémiai Kutatócsoportjával, Metrimed Kft-vel, Creative Cell Kft-vel együttműködve, biokompatibilis implantátum-felszínek, a BIODOT EU Fp6 projektkeretében – külföldi partnerekkel – sejteket befogadó szenzor-felületek kialakításán dolgoznak.

Az osztály kutatási projektjeinek megvalósításában 23 fő vett részt, a kutatási témákra fordított pályázati források összege 95,9 millió forint, a költségvetési támogatás összege 47,6 millió forint volt.

#### *Magatartás neurobiológiai kutatások*

##### A vazopresszin szerepe a stresszválaszban

Leírták a vazopresszin szerepét a perinatális korban. Feltárták az anyai vazopresszin szerepét az utód fejlődésére és stressz-reaktivitására. A krónikus stressz vonatkozásában kizárták a

vazopresszin-hiány hatását a krónikus stresszválaszban, és bizonyították az agytörzsi A1-A2 sejtcsoport prolactin releasing peptid -jének fontos szabályozó szerepét.

#### Az abnormális agresszivitás idegrendszeri hátterének kutatása

Leírták az ún. "hypoarousal" típusú (antiszociális) agresszió egy új idegrendszeri mechanizmusát, amely a farmakológiai kezeléseknek egy új célpontjává válhat.

#### Cannabinoidok magatartási hatásainak vizsgálata

Vizgálták a cannabinoid jelátvitel és nikotikus neurotranszmisszió interakcióját a szorongás és addikció egyes vonatkozásainak szabályozásában.

#### Traumák magatartási hatásainak vizsgálata

Jellemezték a traumáknak való kitettség által kiváltott szociális deficitek idegrendszeri hátterét, különös tekintettel az amygdala egyes alegységeinek interakciójára vonatkozólag. Az elért eredmények alapján kezdeményezték egy gyógyszerfejlesztési program létrehozását, amelynek célja a poszt-traumás stressz zavar tüneteinek csökkentését célzó új gyógyszer kifejlesztése.

#### Növényi szorongásgátló gyógyszer kifejlesztése

A 2008. évben az új, gyógynövény alapú szorongás gátló gyógyszer fejlesztése gyógyszeripari fázisba lépett (a fejlesztés a 2007. évben kezdődött el). A 2008. évben lezárták a laboratóriumi kutatási fejlesztés szakaszát, és előkészítették a 2009. év humán vizsgálatait.

#### Hasznosíthatóság

A Celluláris és Hálózatneurobiológiai Osztállyal együttműködésben fejlesztett új szorongásgátló gyógyszer az ipari és kereskedelmi hasznosításhoz közeli fázisba került. Amennyiben a 2009-re tervezett humán vizsgálatok igazolják a várakozásokat, a gyógynövény alapú gyógyszer 2-3 éven belül kereskedelmi forgalomba kerülhet.

A poszt-traumás stressz zavar új gyógyszer-célpontjának azonosítása - a kialakított gyógyszeripari kapcsolatok révén - a közeljövőben szabadalom bejelentéséhez vezethet, és megkezdődhet a fejlesztés ipari szakasza.

Az abnormális agresszióknak egy új gyógyszer-célpontját azonosították, amely új utat nyithat az ún. "hypoarousal" (antiszociális) agresszió kezelésében.

Az osztály kutatási projektjeinek megvalósításában 12 fő vett részt, a kutatási témákra fordított pályázati források összege 48,8 millió forint, a költségvetési támogatás összege 50,7 millió forint volt.

### **III. Hazai és nemzetközi kapcsolatok bemutatása**

#### *Hazai kapcsolatok*

PhD képzés: Semmelweis Egyetem, ELTE

Graduális képzés: Pázmány Péter Katolikus Egyetem, Információs Technológiai Kar, Szent István Egyetem

Hazai kollaboráció: OITI, Epilepszia Centrum, MTA Pszichológiai Intézet, Magyar Tudományos Akadémia - Semmelweis Egyetem Neuromorfológiai Laboratórium, Semmelweis Egyetem Élettani Intézet, Semmelweis Egyetem Genetikai Sejt és Immunbiológiai Tanszék, Eötvös Loránd Tudományegyetem Természettudományi Kar Élettani Tanszék, Eötvös Loránd Tudományegyetem Proteomikai Laboratórium, Eötvös Loránd Tudományegyetem Biofizikai Tanszék, Szent István Egyetem, Gödöllő, ELTE Élettani és Neurobiológiai Tanszék; ELTE Biológiai Fizika Tanszék;



ELTE-MTA Peptidkémiai Kutatócsoport; MBK; SE Biokémia Intézet; MikroVakuum Kft, MetriMed Kft., SoftFlow Hungary Kft, Creative Cell Kft., Mezőgazdasági Biotechnológiai Központ, Gödöllő

#### *Nemzetközi kapcsolatok*

University College London, UK; Biozentrum University of Basel, Svájc; Rutgers University, Newark NJ, USA; Université Louis Pasteur, Strasbourg, France; Centre de Recherche Université Laval-Robert Giffard, Quebec, Canada; IRIBHN, Belgium; University College London UK; University of California, Irvine, USA; University of Heidelberg, Germany; University of Washington, Seattle, USA; University of California, Los Angeles, USA; Oxford University, UK; NIPS, Okazaki, Japan; MRC ANU, Oxford University, UK; RIKEN Brain Science Institute, Japán; University of Zurich, Switzerland; University of Bonn, Germany; Queen's University, Kingston, Ontario, Canada; University of Heidelberg Germany; École Normale Supérieure, Paris; Unité de Génétique des Déficiences Sensoriels, Institut Pasteur, France; Nathan Kline Institute, Orangeburg, USA; School of Biomedical Sciences and Department of Biochemistry and Molecular Biology, University of Leeds, Leeds, UK; Rudolf-Boehm-Institute of Pharmacology and Toxicology, University of Leipzig, Germany; Center for Neuroscience of Coimbra, Institute of Biochemistry, Faculty of Medicine, University of Coimbra, Portugal; Simon Fraser University, Burnaby, Canada; Tupper Research Institute and Department of Medicine, Division of Endocrinology, Diabetes, Metabolism and Molecular Medicine, New England Medical Center, Boston, MA; Thyroid Section, Division of Endocrinology, Diabetes and Hypertension, Brigham and Women's Hospital, Harvard Medical School, Boston, MA; Miller School of Medicine, University of Miami, Division of Endocrinology, Diabetes and Metabolism; William Harvey Research Institute, Barts and the London Medical School, London; Department of Anatomy, Hokkaido University School of Medicine, Sapporo, Japan; Max Planck Institute of Psychiatry, Munich, Germany; King's College London, UK; Dipartimento di Endocrinologia ed Oncologia Molecolare e Clinica, Facoltà di Medicina e Chirurgia, Università degli Studi di Napoli, Naples, Italy; Department of Translational Neurobiology, NeuroSearch A/S, Denmark School of Medicine, Nagoya City University, Nagoya, Japan; Choju Medical Institute, Fukushima Hospital, Toyohashi, Japan, Salk Institute USA, University of Manchester, UK, University of Bristol, UK, University of Murcia, Spain, University of Lille, France, University of Rome, Italy, University of Nimegen, The Netherlands, University of Leiden, The Netherlands, Groningen Univ., Hollandia; Cranfield Univ., Dept. of Material Sci., U.K.; Inst. of Nanostructures, CNR, Bologna Italy; South-East Univ. Dept. of Material Sci., Nanjing, China; Department of Neurosciences, University Medical Center, University of Geneva Medical School, Geneva, Switzerland; Department of Anatomy and Neurobiology, Program in Neuroscience, University of Maryland School of Medicine, Baltimore, USA; Department of Comparative Medicine, Stanford University School of Medicine, Stanford, California, USA; Laboratoire de Neurophysiologie Cellulaire, Université de la Méditerranée, CNRS, IFR Jean-Roche, Faculté de Médecine Nord, Marseille, France, Department of Zoology and Biotechnology, Dr.H.S.Gour University, Sagar, INDIA; Institut für Medizinische Neurobiologie, Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg, Germany; Laboratory of Experimental Endocrinology, Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russia; Institute of Cytology and Genetics, Siberian Division, Russian Academy of Sciences, Russia; Intramural Research Program, National Institute on Drug Abuse, National Institutes of Health, Department of Health and Human Services, Baltimore, USA.

#### **IV. Fontosabb elnyert hazai és nemzetközi pályázatok rövid értékelése**

A KOKI alap kutatásait és fejlesztő kutatásait költségvetési forráson túlmenően az OTKA, EüM-ETT, Tét támogatás, NKFP, NKTH-RET, Mecénatúra (2 db), GKM-GVOP, illetve EU-s, brit,

izraeli és amerikai pályázati forrásokból végezte. Hat EU FP6 és 1 FP7 szerződésük, továbbá European Young Investigator Award támogatásuk a European Science Foundation-tól. Öt Wellcome Trust támogatási szerződésük működött az év során. Két Fogarty ösztöndíj, 3 NIH (USA) szerződés, egy Howard Hughes Medical Institute grantjük volt az év során. Jelentős a gyógyszergyári szerződésekből származó bevétel is (Richter, EGIS, TEVA International). Az e forrásokból származó összegek a kutatás mellett lehetővé teszik a kutatáshoz szükséges infrastruktúra fejlesztését is. A pályázatok követelményeinek függvényében az intézeti kutatócsoportok belső együttműködések alakítanak ki, ami mindig az aktuális feladathoz rendeződik. Az Intézet részt vesz számos olyan pályázatban is, amelyek különféle tudományterületek, valamint a köz- és magánszféra együttműködésének lehetőségeit kívánják kiaknázni az innovációban. 2008-ban három Jedlik Ányos Pályázat keretében elnyert támogatást vett igénybe az MTA KOKI, kettőben hozzá kapcsolódó „spin-off” cég is támogatást kapott.

### V. Az év folyamán megjelent jelentősebb publikációk

1. Bodor AL, Giber K, Rovó Z, Ulbert I, Acsády L Structural correlates of efficient GABAergic transmission in the basal ganglia-thalamus pathway, *J Neurosci* 28: (12)3090-3102 (2008)
2. Denes A, Ferenczi S, Halasz J, Kornyeyi Z, Kovacs KJ Role of CX3CR1 (fractalkine receptor) in brain damage and inflammation induced by focal cerebral ischemia in mouse *J Cereb Blood Flow Metab* 28: (10)1707-1721 (2008)
3. Fekete A, Vizi ES, Kovacs KJ, Lendvai B, Zelles T Layer-specific differences in reactive oxygen species levels after oxygen-glucose deprivation in acute hippocampal slices *Free Radical Biol Med* 44: (6)1010-1022 (2008)
4. Gereben B, Zavacki AM, Ribich S, Kim BW, Huang SA, Simonides WS, Zeold A, Bianco AC Cellular and Molecular Basis of Deiodinase-Regulated Thyroid Hormone Signaling *Endocr Rev* 29: 898-938 (2008)
5. Haller J, Mikics E, Makara GB The effects of non-genomic glucocorticoid mechanisms on bodily functions and the central neural system. A critica evaluation of findings *Front Neuroendocrinol* 29: 273-291 (2008)
6. Katona I, Freund TF Endocannabinoid signaling as a synaptic circuit breaker in neurological disease *Nat Med* 14: (9)923-930 (2008)
7. Kola B, Farkas I, Christ-Crain M, Wittmann G, Loll F, Amin F, Harvey-White J, Liposits Z, Kunos G, Grossman AB, Fekete C, Korbonits M The orexigenic effect of ghrelin is mediated through central activation of the endogenous cannabinoid system *Plos One* 3: (3)e1797 (2008)
8. Kwakowsky A, Schwirtlich M, Kooy F, Ábrahám I, Máté Z, Katarova Z, Szabó G GABA neurotransmitter signaling in the developing mouse lens: Dynamic regulation of components and functionality *Dev Dynam* 237: (12)3830-3841 (2008)
9. Lendvai B, Vizi ES Nonsynaptic chemical transmission through nicotinic acetylcholine receptors *Physiol Rev* 88: (2)333-349 (2008)
10. Lorincz A, Nusser Z Cell-type-dependent molecular composition of the axon initial segment *J Neurosci* 28: (53)14329-14340 (2008)
11. Ludanyi A, Eross L, Czirjak S, Vajda J, Halasz P, Watanabe M, Palkovits M, Magloczky Z,

- Freund TF, Katona I Downregulation of the CB1 cannabinoid receptor and related molecular elements of the endocannabinoid system in epileptic human hippocampus *J Neurosci* 28: (12)2976-2990 (2008)
12. Marko K, Ligeti M, Mezo G, Mihala N, Kutnyanszky E, Kiss E, Hudecz F, Madarasz E A novel synthetic peptide polymer with cyclic RGD motifs supports serum-free attachment of anchorage-dependent cells *Bioconjugate Chem* 19: (9)1757-1766 (2008)
  13. Mikics E, Toth M, Varju P, Gereben B, Liposits Z, Ashaber M, Halasz J, Barna I, Farkas I, Haller J Lasting changes in social behavior and amygdala function following traumatic experience induced by a single series of foot-shocks *Psychoneuroendocrinology* 33: (9)1198-1210 (2008)
  14. Rozsa B, Katona G, Kaszas A, Szipocs R, Vizi ES Dendritic nicotinic receptors modulate backpropagating action potentials and long-term plasticity of interneurons *Eur J Neurosci* 27: (2)364-377 (2008)
  15. Vida B, Hrabovszky E, Kalamatianos T, Coen CW, Liposits Z, Kallo I Oestrogen receptor alpha and beta immunoreactive cells in the suprachiasmatic nucleus of mice: distribution, sex differences and regulation by gonadal hormones *J Neuroendocrinol* 20: (11) 1270-1277 (2008)
  16. Vizi ES (szerk.)  
Handbook of neurochemistry and molecular neurobiology: Neurotransmitter Systems.  
New York: Springer, 2008.
  17. Zelena D, Domokos A, Barna I, Mergl Z, Haller J, Makara GB Control of the hypothalamo-pituitary-adrenal axis in the neonatal period: adrenocorticotropin and corticosterone stress responses dissociate in vasopressin-deficient brattleboro rats *Endocrinology* 149: (5)2576-2583 (2008)