

Szegedi Tudományegyetem
TTIK Biológia Doktori Iskola

**NEUROPLASZTIKUS VÁLTOZÁSOK A KÖZPONTI
IDEGRENDSZERBEN: A GONADÁLIS HORMONOK
SZEREPE**

PhD értekezés tézisei

Kurunczi Anita

Témavezető: Dr. Párducz Árpád

MTA SzBK, Biofizikai Intézet
Molekuláris Neurobiológiai Csoport

Szeged

2009

BEVEZETÉS

Az utóbbi időszak kutatásainak fényében alapvetően megváltozott szemléletünk a nemi hormonok és elsősorban az ösztrogén szerepét illetően. Kiderült ugyanis, hogy a neuroendokrin szabályozásban játszott szerepe mellett fontos organizáló és morfogenetikai hatással rendelkezik, és ennek alapján inkább számos fehérje expresszióját befolyásoló általános modulátornak tekintik. Az ösztrogén felelős az idegrendszer szerveződésében és működésében megnyilvánuló nemi különbségek kialakulásáért, ugyanakkor a kísérletes adatok azt mutatják, hogy fontos szerepet játszhat a kifejlett idegrendszer plasztikus folyamataiban is. A felnőttkori szinaptikus plaszticitás egyik példjaként irodalmi adatokkal összhangban korábban kimutattuk, hogy 17β -ösztradiol hatására a szinaptikus kapcsolatok jellegzetes átrendeződése történik a központi idegrendszer egyes területein.

Egyre több adat támasztja alá, hogy a nucleus arcuatus-ban az ösztradiol előidézte szinaptikus plaszticitás specifikus, mert csak bizonyos típusú szinapszis reagál a hormon hatására. Elektronmikroszkópos szinten végzett kvantitatív posztembedding immunhisztokémiai vizsgálatok igazolják, hogy ovariektomizált patkányok nucleus arcuatusá-ban az axo-szomatikus végződések többsége GABA immunoreaktív. 17β -ösztradiollal történő egyszeri kezelés a GABA-IR axo-szomatikus szinapszisok számának szignifikáns csökkenését eredményezte. Ezzel szemben, a hormonkezelés nem befolyásolta az immunnegatív axo-szomatikus szinapszisok számát. Ezek az adatok egyértelműen mutatják, hogy az ösztradiol fiziológias koncentrációja megváltoztatja a nucleus arcuatushoz futó gátló hatású GABAerg axo-szomatikus bemenetek mennyiségét. Az utóbbi időkben csoportunk munkatársai kimutatták, hogy az ösztradiol kezelés nem okoz változást az arcuatus axo-dendritikus szinapszisainak számában, bár a serkentő tüskeszinapszisok térfogati sűrűsége szignifikánsan emelkedett a kezelést követően.

Ezek az eredmények jelezték, hogy a 17β -ösztradiolnak a szinaptikus kapcsolatok átrendeződésére gyakorolt hatása specifikus jellegű, nem egyforma

módon érinti a különböző típusú szinapszisokat. A morfológiai szinaptikus plaszticitás ezen különleges formájának sejt- és molekuláris szintű hátterét vizsgálva lényeges kérdés annak tisztázása, hogy a posztszinaptikus neuronok, azaz a célsejtek milyen szerepet játszanak a folyamatban. Erre vonatkozó első vizsgálataink egyértelműen arra utaltak, hogy a hormon hatása a posztszinaptikus sejtektől is függ. A nucleus arcuatus-ban van egy nagyon jól definiálható sejtpopuláció, az ún. "hypophyseotrop" neuronok, melyek projekcióikat az eminencia mediana-ba küldik, ezek – adataink szerint - kevesebb axo-szomatikus bemenetet kapnak, mint a nem jelölt neuronok. A magon belül a 17β -ösztadiol indukált szinaptikus átrendeződés a neuronok ezen (az eminencia mediana-ba vetülő) alpopulációját érinti, ahogy azt az axo-szomatikus szinapszisok számának csökkenése bizonyítja.

CÉLKITŰZÉSEK:

Ezen előzmények alapján az értekezésben összefoglalt kísérleteink célja az volt, hogy további adatokat szerezzünk a hormon specifikus hatásáról, annak szexuálisan dimorf jellegéről és sejt szintű hátteréről, az ösztrogén hatás intracelluláris szignalizációjáról.

1. Van-e összefüggés a különböző típusú ösztrogén receptorok ($ER\alpha$ és $ER\beta$) jelenléte és az ösztadiol által kiváltott plasztikus szinaptikus válaszok között? Milyen típusú ösztrogén receptor közvetítheti a hormon szinaptikus plaszticitást befolyásoló hatását?
2. Van-e szerepe a hormonálisan indukált szinaptikus átrendeződésben a posztszinaptikus neuronoknak? Különbözik-e a nucleus arcuatus dopaminerg neuron populációjának (TIDA rendszer) beidegzése és szinaptikus kapcsolatainak plasztikus változása a mag többi neuronjától?

3. Van-e nemi különbség az intracelluláris szignalizáció szempontjából fontos c-Fos expressziójában a szexuális viselkedésformák szabályozásában kiemelt szerepet játszó és nagyfokú plaszticitást mutató járulékos szaglógumóban?

ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

Kísérleti állatok és kezelések

A vizsgálatokhoz Sprague Dawley, CFY és Wistar patkányokat használtunk, melyeket standard laboratóriumi körülmények között tartottunk (12:12 órás megvilágítási ciklus, szabadon hozzáférhető normál patkánytáp és víz).

Az ösztrogén hatásának tanulmányozásához két hónapos patkányok gonádjait nembutal érzéstelenítés alatt eltávolítottuk, majd egy hónapos túlélést követően az állatokat szezám olajban oldott 17 β -ösztradiollal (45-100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ testsúly) vagy oldószerrel kezeltük.

Ösztrogén receptor immunhisztokémia

A nembutállal altatott állatokat 0,1 M foszfát-pufferben (pH=7,4) oldott 1-1%-os paraformaldehid-glutáraldehid oldattal szíven keresztül perfundáltuk. A glutáraldehid mentes fixálóban történő utófixálás majd mosás után 50 μm vastag metszeteket készítettünk vibratómmal.

A metszeteket 1:1000 (ER-alfa, Santa Cruz Biotechnology), ill. 1:500 (ER-béta, Zymed Laboratories Inc.) arányban hígított poliklonális antitesttel 48 órán át 4°C-on inkubáltuk. Másodlagos antitestként biotinnal konjugált anti nyúl IgG 1:500 hígítását alkalmaztuk, majd avidin-biotin-komplex-szel (VECTASTAIN ABC) kezeltük és 3,3',5,5'-tetrametilbenzidin dihidrokorriddal (TMB) hívtuk elő. Ezt követően a metszeteket az elektronmikroszkópos vizsgálat céljából a később leírt eljárásoknak megfelelően (beágyazás, ultravékony metszet készítés, GABA immunfestés) dolgoztuk fel.

Tirozin hidroxiláz immunhisztokémia

A rögzítés és a minta előkészítése a fent leírt módszerrel történt, a metszeteket 1:1000-es hígítású nyúl poliklonális anti-TH antitestet tartalmazó oldattal reagáltattuk egy éjszakán keresztül szobahőmérsékleten. A mosás után a mintákat két órán keresztül inkubáltuk 1:1000-es hígítású kecske-anti-nyúl IgG oldatban. Ezt követően 1:1000-es hígítású peroxidáz-antiperoxidáz komplex (PAP) oldatban inkubáltuk őket két óráig, majd a rutin módon 3,3'-diamino benzidinnel (DAB) és hidrogén peroxiddal hívtuk elő.

c-Fos immunhisztokémia

Az állatokat nembutalos altatás alatt transzkardiálisan perfundáltuk 0,1 M foszfát pufferben oldott 4%-os paraformaldehid oldattal (pH=7,4) fixáltuk. A Vibratómmal készített 50 µm vastag szabadon úszó metszeteket hidrogénperoxidos oldattal kezeltük 30 percen keresztül, majd 1:20 000 arányban hígított poliklonális nyúl anti-patkány c-Fos antitesttel 48 órán át 4 °C-on inkubáltuk. Másodlagos antitestként biotinnal konjugált anti nyúl IgG 1:500 hígítását alkalmaztuk, majd avidin-biotin-komplex-szel (VECTASTAIN ABC) kezeltük. Az előhívást DAB, nikkel kloridot és hidrogén peroxidot tartalmazó oldattal végeztük el.

Posztembedding immuncitokémia (immunogold GABA festés)

Az elektronmikroszkópos vizsgálatokhoz az előzetesen immunfestett metszeteket (TH, ER α , ER β) 1%-os OsO₄ oldattal kezeltük 30 percen keresztül. A mintákat dehidratáltuk, Araldite gyantába ágyasztuk és Liquid-release-zel bevont tárgylemezek közé téve termosztátba helyeztük. A gyanta polimerizálása után ultravékony sorozatmetszeteket készítettünk, melyeket Formvarral bevont egylyukú arany gridekre vettünk fel.

A posztembedding GABA immunhisztokémiát a Somogyi és Hodgson-féle (Somogyi és Hodgson 1985) módszer módosított változata (Parducz és mtsai.

1993) alapján végeztük. A primer antitestet (anti-GABA) 1:500 arányban hígítottuk és szobahőmérsékleten 2 órán át alkalmaztuk, majd a mosás után újabb két órás inkubálás következett a másodlagos antitesttel (15 nm-es arany szemcsékkel jelölt kecskében termelt anti nyúl IgG, 1:20). A metszeteket uranil-acetáttal és ólom-citráttal kontrasztoltuk, majd Zeiss EM 902 elektronmikroszkóppal analizáltuk.

Morfometriai analízis

Fénymikroszkópos metszetek

A metszeteket Zeiss-Jenalumar fénymikroszkóppal tanulmányoztuk és a számolást digitális képanalízissel végeztük el (Image-Pro-Plus software). A c-Fos immunoreaktív sejteket az optikai diszektor módszer segítségével határoztuk meg. Állatonként öt metszettel dolgoztunk, és a járulékos szaglógumó három különböző területén végeztük el a sejtszámlálást.

A szinapszisok számának meghatározása

Az elektronmikroszkópos metszeteken a szinapszisok sűrűségét a diszektor módszerrel (Sterio 1984) határoztuk meg. Egymástól kb. 270 nm távolságra lévő párhuzamos metszeteken 12-15 perikarion szinapszisait számoltuk meg. Szinapszisként azt a struktúrát tekintettük, amely posztzinaptikus megvastagodást és legalább három szinaptikus vezikulát tartalmazott. A szinapszisok számát a

$$N_v = \Sigma Q_{-} / V_{dis}$$

képlet alapján számoltuk ki, ahol

ΣQ_{-} jelenti azon szinapszisok számát, melyek az egyik metszeten megtalálhatóak, ugyanakkor a vele párhuzamos metszeten már nem.

V_{dis} a diszektor térfogata, mely az analizált perikarion területe és a két párhuzamos metszet közti távolság (diszektor magassága) szorzata.

Az eredmények statisztikai értékelése

Az egyes kísérleti csoportok hat állatból álltak és minden állatból három-három blokkot dolgoztunk fel. A normál eloszlást a Kolmogorov próba segítségével ellenőriztük. Az átlagok összehasonlításához a Student-féle t próbát alkalmaztuk és $p < 0,05$ értéket tekintettük szignifikáns eltérésnek.

EREDMÉNYEK

17 β -ösztradiol hatása az anteroventrális periventriculáris nucleus (AvPv) ösztrogén receptort expresszáló neuronjainak szinapszisaira

Korábbi vizsgálatok már igazolták az ösztrogén receptort expresszáló neuronok jelenlétét az AvPv-ben, mi ezen túlmenően megállapítottuk, hogy a magban az ER α mellett az ER β is jelen van. Az alfa és béta típusú ösztrogén receptorok eloszlása nem homogén: míg az ER α immunpozitív sejtek a mag minden részén kimutathatóak, addig az ER β -pozitív sejtek csak az AvPv középső zónájában detektálhatóak. A sejtek elhelyezkedésének másik érdekessége az, hogy ER β -t expresszáló neuronok csaknem kizárólag az agykamra közelében találhatóak. Ennek megfelelően elektronmikroszkópos tanulmányainkhoz az AvPv rostrális részéről származó metszeteket használtunk, ahol a béta-típusú ösztrogén receptort expresszáló sejtek jól körülhatárolható módon helyezkednek el a kamrát határoló ependimális rétegtől 50 μ m-es sávban, míg ettől laterálisan csak ER α immunoreaktív sejtek fordulnak elő.

Kettős immunfestés utáni morfometriai mérésekkel igazoltuk, hogy az anteroventrális periventriculáris nucleus-ban az ösztrogén receptort expresszáló neuronok szinaptikus mintázata (serkentő és gátló axo-szomatikus szinapszisaik aránya) eltér a mag többi neuronjától. Az ER-immunoreaktív sejteken végződő GABAerg axo-szomatikus, gátló szinapszisek száma magasabb, mint a nem jelölt sejtek esetében, míg a nem-jelölt sejtek populációjában az axo-szomatikus

szinapszisok zöme nem GABAerg. A hormonszint változását az AvPv-ben is szinapszis átrendeződés kíséri, de a nucleus arcuatus-szal ellentétben ebben a magban a 17β -ösztradiol a GABAerg szinapszisok számának növekedését indukálja. A hatás specifikus: szinapszis átrendeződés csak a béta típusú ösztrogén receptort tartalmazó neuronokban mutatható ki.

Ösztradiol indukált szinaptikus átrendeződés a nucleus arcuatus dopaminerg neuronjain

Az irodalmi adatokkal megegyezően mi is megfigyeltük a TH-IR neuronok szexuálisan dimorf mintázatát a nucleus arcuatus-ban; hímekben a mag ventrolaterális régiója jóval több jelölt sejtet tartalmaz. Morfometriai méréseinket a nucleus arcuatus dorsomedialis területén végeztük el (2,3 - 3,6 mm közti régió a bregmától kaudálisan), ahol a dopaminerg sejtek számát illetően a nemek között nincs különbség.

A tubero-infundibuláris rendszerhez tartozó dopaminerg neuronok szinapszisait tanulmányozva arra a következtetésre jutottunk, hogy az axo-szomatikus végződések száma és azok hormon indukálta változásai nemileg különböznek. A hím állatok neuronjai szignifikánsan kevesebb szinaptikus bemenetet kapnak, ugyanakkor a TH immunoreaktív populáció esetében az ingerő/gátló végződések aránya mindkét nemben azonos, gátló túlsúlyt mutat. Igazoltuk, hogy ovariectomizált nőstényekben és orchidectomizált hímekben a hormon különböző módon hat és a hatás specifikus jellegét a posztszinaptikus sejt is befolyásolja. Nőstény patkányokban a 17β -ösztradiol a TH-IR neuronokon végződő GABAerg axo-szomatikus szinapszisok számát csökkenti. Hímekben ilyen körülmények között a TH-IR neuronok szinapszissai nem változnak, ugyanakkor megnő a nem jelölődő sejtek gátló bemeneteinek száma.

Korfüggő és nemi különbséget mutató változások a járulékos szaglógumó c-Fos expressziójában

Fiziológiai körülmények között a c-fos mRNS és fehérje szintje nagyon alacsony, de akut hatásokra néhány percen belül indukálódik és 30-60 perc múlva eléri expressziója csúcsát. A c-Fos fehérje maximális szintjét a kezelést követő egy-három órán belül éri el, majd négy-hat óra elteltével rohamosan eltűnik a sejtmagból. Így általánosságban elmondható, hogy a c-Fos indukciója tükrözi a neuronok működési aktivitását, ezért alkalmas az idegsejteket érő igen sokféle hatás és elsősorban az intracelluláris szignalizáció követésére.

A központi idegrendszer egyik legplasztikusabb területét, a járulékos szaglógumót vizsgálva megállapítottuk, hogy a c-Fos expresszió szexuálisan dimorf és erős korfüggést mutat. Fiatal patkányokban nincs nemi különbség a c-Fos aktivitásban, felnőtt nőstényekben szignifikánsan magasabb a jelölt sejtek száma, míg idős állatokban, a nemtől függetlenül, gyakorlatilag nincs c-Fos expresszió. 17β -ösztadiol kezelés átmenetileg megnöveli a jelölt sejtek számát. Ezek az adatok arra utalnak, hogy a járulékos szaglógumóban létezik egy ösztrogénre érzékeny sejtpopuláció, amelyben a c-Fos fontos szerepet játszik a sejt szintű események szabályozásában. Ennek a kérdésnek további vizsgálata azért lényeges, mert a molekuláris mechanizmusok felderítését segítheti, hiszen a hormon a közvetlen korai gének aktiválásán keresztül képes a transzkripciós folyamatokat és az intracelluláris szignalizációs útvonalakat befolyásolni.

AZ EREDMÉNYEK MEGBESZÉLÉSE

Az értekezésben összefoglalt eredményeink azt mutatják, hogy a 17β -ösztadiol indukált axo-szomatikus szinapszisok átrendeződése az AvPv-ben sajátos módon történik, mivel a hormon különböző módon hat a mag egyes sejtpopulációira. Kettős immunfestést alkalmazva sikerült bizonyítanunk, hogy ezekben a folyamatokban az ER β jelenléte a meghatározó. 17β -ösztadiollal kezelt

ovarietomizált nőstény patkányokban a GABAerg axo-szomatikus szinapszisok számának szignifikáns növekedését tapasztaltuk, azonban csak a béta ösztrogén receptort expresszáló neuronokban.

Ezek az adatok megerősítik Langub és munkatársainak észrevételeit, melyek az ösztrogén receptor immunoreaktív sejtek axo-szomatikus szinapszisainak denzitásbeli növekedését írták le. A preembedding ösztrogén receptor ($ER\alpha$ és $ER\beta$), valamint a posztembedding GABA immunfestődés kombinálásával ezeket a megfigyeléseket specifikusabbá tettük, mivel pre- és posztszinaptikus szinten egyaránt igazolni tudtuk az ösztrogén hatás specifitását. Adataink szerint a hormon csak a GABAerg szinapszisokra hat, de ezzel együtt a posztszinaptikus sejtek tekintetében is különbséget találtunk. Az alfa és béta ösztrogén receptorok expressziója alapján a neuronok három populációját tudtuk elkülöníteni egymástól, melyek eltérő módon reagálnak a hormonális környezet változására. Az ösztrogén receptort nem tartalmazó, vagy csak az alfa ösztrogén receptort expresszáló neuronok szinaptikus kapcsolataira nem volt hatással a 17β -ösztradiol kezelés, míg az ER-alfát és ER-bétát tartalmazó sejtek csoportjában a szinapszisok száma megemelkedett a kezelést követően.

Az a tény, hogy a 17β -ösztradiol csak az AvPv GABAerg axo-szomatikus végződéseiben indukált szinaptikus átrendeződést, alátámasztja a GABAerg rendszer fontosságát a gonadotropin felszabadulás hormonális szabályozásában. Korábbi kísérleteink során változást észleltünk a nucleus arcuatus GABAerg axo-szomatikus szinapszisaiban mind ovariektomizált + 17β -ösztradiol kezelt, mind ciklizáló állatokban. Itt érdemes megjegyezni, hogy a szinapszisok számának változása ellentétes irányú a két agyterületben; a nucleus arcuatus-ban a hormon a GABAerg axo-szomatikus szinapszisok csökkenését okozta, míg az anteroventrális periventriculáris magban ezzel ellentétes irányú változás, vagyis a szinapszisok számának emelkedése volt megfigyelhető. Elmondható, hogy a nemi hormonok fokozzák bizonyos agyterületek szinaptikus plaszticitását, de hatásuk nem egyféle módon valósul meg.

Fontos megjegyezni, hogy nőstény patkányok AvPv-jében a TH immunoreaktív sejtek előfordulása átfed az ER β -immunpozitív sejtekkel, vagyis a dopaminerg neuronok részt vesznek a hormonálisan indukált szinaptikus átrendeződésben. Korábbi kísérleteinkben kimutattuk, hogy a nucleus arcuatus-ban a TH-immunoreaktív sejtek szinaptikus kapcsolatait szintén érinti a hormonhatás. Ez a hasonlóság segíthet magyarázatot adni megfigyeléseink fiziológias jelentőségére, feltételezve, hogy a dopaminerg neuronok ösztadiol-indukálta szinaptikus változása hatással lehet a luteinizáló hormon és a prolaktin szekréciójára.

A preembedding TH immunhisztokémia és a posztembedding immunogold módszer kombinálásával sikerült a nucleus arcuatus-ban két, egymástól eltérő idegsejt populációt azonosítani, és a GABAerg valamint nem GABAerg axo-szomatikus szinapszisok mennyiségét meghatározni ovariektomizált, valamint ovariektomizált és ösztrogén kezelt nőstény patkányokban, továbbá orchidektomizált és orchidektomizált + ösztrogén kezelt hímekben.

A 17 β -ösztradiollal kezelt állatokból származó adatok világosan mutatják, hogy az ösztadiol a nőstényekhez hasonlóan a hímekben is képes volt szinaptikus átrendeződést indukálni, és mindkét nem esetében a GABAerg szinapszisokat érintette a változás. Ugyanakkor, a hormon által előidézett szinaptikus plaszticitás szexuálisan dimorfnak mondható, mégpedig abban az értelemben, hogy a nőstények esetében a TH immunoreaktív neuronok, míg hímeknél a nem jelölt sejtek vettek részt a plasztikus folyamatokban. Ovariektomizált nőstényekben a 17 β -ösztadiol a TIDA neuronok szinaptikus átrendeződését indukálta: a GABAerg axo-szomatikus szinapszisok száma szignifikánsan csökkent 24 órával a kezelést követően. A nem jelölt arcuatus neuronokra a hormonkezelés hatástalannak bizonyult, mivel azok szinaptikus kapcsolatai változatlanok maradtak. Ez a megfigyelés jó egyezést mutat korábbi eredményünkkel, amikor a retrográd jelölő molekula, a Fluorogold alkalmazásával jelöltük a nucleus arcuatus eminencia

mediana-hoz projektáló sejtjeit. Ezen kísérleteink során azt tapasztaltuk, hogy az ún. "hypophyseotrop" idegsejtek szinaptikus kapcsolatai eltérnek a nem jelölt sejtek esetében tapasztalttól, és a sejtek ezen populációja reagál a 17 β -ösztradiol kezelésre. Jelenlegi adataink alátámasztják azt a feltételezésünket, hogy a Fluorogolddal jelölt sejtek valóban a TIDA neuronoknak felelnek meg.

Az AOB szexuálisan dimorf struktúra, és lényeges szerepet tölt be a szaporodással kapcsolatos viselkedésben. Eredményeink alapján elmondható, hogy az AOB-ben létezik egy ösztrogénre érzékeny sejtpopuláció, amelyben a c-Fos fontos szerepet játszik a sejt szintű események szabályozásában. Továbbá, igen valószínű hogy az AOB neuronális aktivációjának szabályozása az ER β -án, nem pedig az alfa típusú ösztrogén receptoron keresztül valósul meg, mivel eddig csak az ER β jelenlétét sikerült kimutatni az AOB-ban (Shughrue és mtsai. 1997).

Kísérleteink eredményei elsőként adnak információt arról, hogy a járulékos szaglógumóban a c-Fos expresszió mértéke csökken az életkor előrehaladtával. A c-Fos expresszió visszaesése maga után vonja a sejtek génaktivitást koordináló képességének hanyatlását, ami a plasztikus képességek gyengüléséhez vezet. Továbbá, az ösztrogén kezelés pozitívan hatott az AOB c-Fos expressziójára, ami összefüggésben lehet az AOB korábban említett szexuális dimorfizmusával.

Jelen tanulmányunk további morfológiai adatokkal szolgál a fiziológias körülmények között mérhető és a 17 β -ösztradiol indukált c-Fos expresszió regionális és időbeli eloszlására patkányok járulékos szaglógumójában. Eredményeink szerint mind az életkor, mind a hormonális környezet jelentősen befolyásolja a sejtek génaktivitást szabályozó képességét. Megfigyeléseink révén bepillantást nyerhetünk az agy plasztikus képességeinek életkorfüggő csökkenésébe, és kiterjeszthetjük értelmezéseinket a hormonálisan szabályozott plaszticitásról.

PUBLIKÁCIÓK LISTÁJA

Az értekezéshez kapcsolódó közlemények:

Balog J. A, **Kurunczi A**, Parducz A (2001)

17beta-Estradiol increases, aging decreases, c-Fos expression in the rat accessory olfactory bulb.

Neuroreport. 12(17):3787-90.,

Csakvari E *, **Kurunczi* A**, Hoyk Zs, Gyenes A, Naftolin F, Parducz A (2008)

Estradiol-induced synaptic remodeling of tyrosine hydroxylase immunopositive neurons in the rat arcuate nucleus.

Endocrinology. 149(8):4137-41.

*E.Cs. and A.K. contributed equally to this article.

Kurunczi A, Hoyk Z, Czakvari E., Gyenes A, Parducz A (2008)

17β-Estradiol-induced remodeling of GABAergic axo-somatic synapses on estrogen receptor expressing neurons in the anteroventral periventricular nucleus of adult female rats.

Neuroscience. Nov 1. [Epub ahead of print]

Az értekezéshez szorosan nem kapcsolódó közlemények:

Vezér T, Papp A, **Kurunczi A**, Párducz A, Nárway M, Nagymajtényi L (2005)

Behavioral and neurotoxic effects seen during and after subchronic exposure of rats to organic mercury.

Environmental Toxicology and Pharmacology. 19 785-796

Parducz A, Hajszan T, Maclusky NJ, Hoyk Z, Csakvari E, **Kurunczi A**, Prange-Kiel J, Leranth C (2006)

Synaptic remodeling induced by gonadal hormones: Neuronal plasticity as a mediator of neuroendocrine and behavioral responses to steroids.
Neuroscience. 138(3):977-85.

Vezér T, **Kurunczi A**, Náráy M, Papp A, Nagymajtényi L (2007)

Behavioral effects of subchronic inorganic manganese exposure in rats.
American Journal of Industrial Medicine. 50(11) 841-52

Sipos E, **Kurunczi A**, Kasza A., Horvath J, Felszeghy K, Laroche S, Toldi J, Párducz A, Penke B, Penke Z (2007)

β -Amyloid pathology in the entorhinal cortex of rats induces memory deficits: implications for Alzheimer's disease.
Neuroscience. 147(1):28-36.

Horvát S, Fehér A, Wolburg H, Veszelka S, Tóth A, **Kurunczi A**, Balogh G, Kürti L, Erős I, Szabó-Révész P, Deli A. M (2008)

Sodium hyaluronate as a mucoadhesive component in nasal formulation enhances delivery of molecules to brain tissue.
Eur J Pharm Biopharm. Oct 26. [Epub ahead of print]

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Értekezésem az MTA Szegedi Biológiai Központ Biofizikai Intézetének Molekuláris Neurobiológiai Laboratóriumában készült. Munkám során sok ember támogató segítségét élvezhettem, melyet ezúton köszönök.

Elsősorban témavezetőmnek, dr. Párducz Árpádnak tartozom köszönettel. Végtelen türelme nagyban hozzájárult a dolgozat elkészültéhez. Diák és doktorandusz éveim során nagy hatással voltak rám a munkával és tudománnyal kapcsolatos gondolatai. Gondos vezetése mellett tanultam meg a felhasznált kísérleti módszereket. A kutatási tervek és eredmények megvitatása bővítette ismereteimet és könnyebbé tette munkámat.

Köszönetemet fejezem ki dr. Siklós Lászlónak, aki a csoport jelenlegi vezetőjeként lehetővé tette dolgozatom elkészítését, továbbá köszönöm munkámat segítő hasznos tanácsait és azt, hogy az ajtaja mindig nyitva állt előttem.

Köszönet a csoport minden tagjának segítségükért, barátságukért és végtelen türelmükért, valamint a vidám légkörért, amiben dolgozhattam. Különösen hálás vagyok dr. Hoyk Zsófiának és dr. Csákvári Eszternek, akik tanácsaikkal segítették értekezésem összeállítását.

Hálával tartozom jelenlegi témavezetőmnek, dr. Nagy Tündének támogatásáért.

Külön köszönettel tartozom családomnak, barátaimnak szeretetükért és biztatásukért, azért, hogy mindig hittek bennem.

TÉMAVEZETŐI NYILATKOZAT

Alulírott, Dr. Párducz Árpád, Kurunczi Anita (jelölt) Ph.D. munkájának témavezetőjeként igazolom, hogy a jelölt tézisei az általa végzett tudományos kutatómunka eredményeit hűen tükrözik. Igazolom továbbá, hogy a jelölt elsőszerzős cikke mellett a következő közlemények létrehozásához is jelentős mértékben hozzájárult:

Balog JA, Kurunczi A, Párducz A.
17 β -estradiol increases, aging decreases c-Fos expression in the rat accessory olfactory bulb
NeuroReport, 12 (17) 1-4. (2001)

Csakvari E*, Kurunczi A*, Hoyk Z, Gyenes A, Naftolin F, Párducz A.
Estradiol-induced synaptic remodeling of tyrosine hydroxylase immunopositive neurons in the rat arcuate nucleus
Endocrinology. 149(8):4137-41. (2008)

*E.Cs. and A.K. contributed equally to this article.

Szeged, 2008. december 10.

Párducz Árpád
MTA SzBK
Biofizikai Intézet

