

37. OTDK Biológia szekció

A HIPONATRÉMIA HATÁSAI EGÉSZSÉGES ÉS TRANSZFORMÁLT ADENOHIPOFÍZIS ESETÉBEN

Cseszkó Edina

Osztatlan biológia- természetismeret-környezettan tanár MA szakos hallgató

Küldő intézmény: Szegedi Tudományegyetem, Juhász Gyula Pedagógusképző Kar

Témavezetők:

Dr. Molnár Zsolt, Ph.D., *főiskolai docens*

Dr. habil. Gálfi Márta, Ph.D., *habilitált főiskolai tanár*

TARTALOMJEGYZÉK

TARTALMI ÖSSZEFOGLALÓ	4
I. BEVEZETÉS	5
I.1. A rendszer: rész és egész kapcsolata	5
I.2. A hipofízis anatómiája és kapcsolata a központi idegrendszerrel és a perifériás rendszerrel	9
I.3. Az adenohipofízis hormonjai, különös tekintettel a prolaktin és az adrenokortikotrop hormon függvényében	11
I.3.1. A prolaktin hormon biokémiájáról és élettani jelentőségéről	11
I.3.2. Az adrenokortikotrop hormon biokémiája és élettani jelentősége	13
I.4. A nátrium homeosztázis	15
I.5. A prolaktinoma, laktotróp adenomák	17
I.5.1. A prolaktinómák megjelenései nőkben	18
I.5.2. A prolaktinómák megjelenései férfiakban	19
III. MÓDSZEREK	22
III.1. A kísérleti állatok	22
III.2. Indukált prolaktinóma és <i>in vitro</i> kísérletek	22
III.3. Statisztikai elemzés	23
III.4. Bibliográfiai feltárás	23
IV. EREDMÉNYEK	24
IV.1. A kontrollrendszer beállítása	24
IV.2. A hiponatrémia hatása az ACTH elválasztásra egészséges adenohipofízisben és prolaktinómás adenohipofízisben	25
IV.3. A hiponatrémia hatása a PRL elválasztásra egészséges adenohipofízisben és prolaktinómás adenohipofízisben	27
V. MEGBESZÉLÉS, KÖVETKEZTETÉS	29
VI. FELHASZNÁLT SZAKIRODALOM	32
VII. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	35

VIII. PLÁGIUMNYILATKOZAT**36****IX. TÉTELES SZERZŐI NYILATKOZAT****37**

Tartalmi összefoglaló

Az összetett rendszereket logikai kapcsolatok mentén szerveződő elemek fűzik egységgé. Az elemek kapcsolatai alrendszereket hoznak létre, ilyen logikai rendezőelvek mentén képezhetők le biológiai rendszerek is, így pl. az endokrin rendszer. Az agyalapi mirigy elülső lebenye számos hormont szekretál. A laktotróf sejtek morfológiája és eloszlása jól leírt, amelyek a prolaktint (PRL) termelő sejtekként az elülső lebeny lateroventrális részében ritkán oszlanak el, és a közbülső lebeny melletti sávban dominánsabban vannak jelen. A külső és belső környezetből származó ingerek széles spektruma felelős a PRL felszabadulásáért. A prolaktinómák a leggyakoribb adenomák, amelyek az agyalapi mirigy elülső lebenyének laktotróf sejtjeiből származnak, jellemző rájuk a fokozott PRL kiválasztás. Különösen érdekes, hogy a Na^+ koncentráció változása az extracelluláris környezetben milyen szerepet játszhat a hiperprolaktinémiában, mivel a Na^+ egy generikus szignáltranszducer. Jelen munkában vizsgálni kívántuk az extracelluláris Na^+ koncentrációváltozás, hiponatrémia PRL és adrenokortikotrop (ACTH) hormon elválasztásra gyakorolt hatását.

Vizsgálatainkban ♀ Wistar patkányokat ($n=5$) ösztön-actetáttal kezeltünk ($150 \mu\text{g/kg}$ tt.kg./hét) 6 hónapon keresztül, szubkután, hogy prolaktinómát idézzünk elő. A kísérlet végpontjában primer, monolayer sejtenyészeteket készítettünk enzimatis (tripszin: $0,2 \%$; kollagenáz: $30 \mu\text{g/ml}$; diszpáz: $50 \mu\text{g/ml}$) és mechanikus disszociáltatás útján (nylon blutex háló: $\emptyset$: 83 és $48 \mu\text{m}$). A sejtdenzitást $2 \times 10^5/\text{cm}^3$ -re állítottuk be. A viabilitás kontrollt tripán-kék tesztel végeztük (viabilitás: $> 95\%$). A hormon release változásait hiponatrémiás körülmények között követtük ($[\text{Na}^+]$: $0, 30, 60, 90$ és 120 mM ; $n=10$). A PRL tartalmat radioimmunoassay módszerrel, az ACTH tartalmat immuno-chemiluminescence assay módszerrel mértük. A teljes protein tartalom meghatározása módosított Lowry-módszerével történt. A statisztikai elemzést ANOVA-val végeztük.

Megvizsgáltuk a hiponatrémia hatásait egészséges adenohipofízis és transzformált, prolaktinómás adenohipofízis PRL és ACTH hormonelválasztására. Szignifikáns eltéréseket tapasztaltunk minden kezelési időpontban ($p < 0,05$; $n=5$) a kontroll csoporthoz viszonyítva. A prolaktinómás adenohipofízis karakteresebb változást mutatott mind az ACTH, mind a PRL elválasztás tükrében. Megállapítható, hogy egyes bifoizikai paraméterek, mint az extracelluláris Na^+ milieu és a hormonvezikulák exocitózisa között szoros összefüggés lehet.

Kulcsszavak: hiponatrémia, prolaktin, prolaktinoma

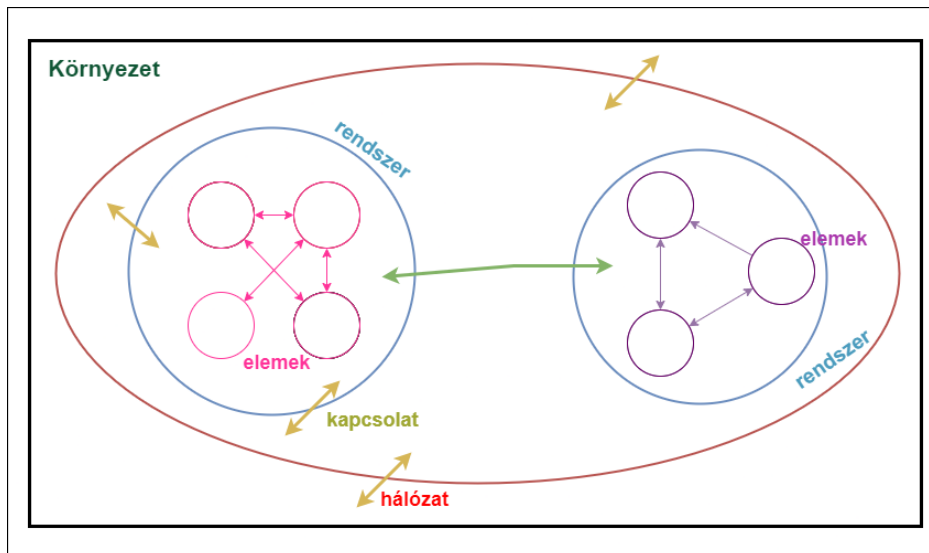
I. Bevezetés

I.1. A rendszer: rész és egész kapcsolata

Ahhoz, hogy munkám komplex egységben interpretáljam szükséges az, hogy értelmezni tudjam a rendszer és környezet közötti kapcsolatot, ugyanis a dolgozat tárgyát képező problémakör a rendszerszemlélet segítségével érthető meg teljes egészében. Amikor egy rendszert definiálunk, akkor a vizsgálat tárgyát képező rendszerekben a következő komponenseket kell megkülönböztetni: a rendszer szükségleteit előállító *motivátorokat*, az információkat *érzékelő* és *a rendszer működését előállító receptorokat* és effektusokat, végül pedig a *törvényeket, vagy stratégiákat*, mint a receptorok és effektorok működési szabályainak halmazát. [1] A biológiai szerveződés olyan kapcsolathálózatokat alakított ki, amelyek kardinálisan kölcsönösen összefüggő elemek totális halmazaként manifesztálódnak. A homeosztázis fogalma az, amely az élő szervezetek egyensúlyi potenciálját reprezentálja. A szervezet, illetve a sejtek fennmaradásának állandósága valójában folytonos változások mellett létrejövő egyensúlyi állapotot jelent, melyben az izovolémia, izoionia, izoozmózis, izohidria és izotermia kardinális jelentőséggel bírnak. [2] Munkámban, későbbiekben rendszerműködés szerint igyekszem feltérképezni egy biológiai objektumban lejátszódó folyamatokat. A humán homeosztázis pszicho-, immuno-, endokrino-rendszerek karbantartásával is igyekszik az állandóságot biztosítani, mely munkámban szintén kardinális jelentőségű lesz, hiszen az endokrin rendszert kívánom vizsgálni a prolaktin és adrenokortikotrop hormon szekrécióján keresztül egészséges és prolaktinómás adenohipofízis esetében, hiponatrémia tükrében.

A következőkben a rendszerek, hálózatok szerkezetét és működését fogom összefoglalóan bemutatni. Azok a rendszerek, amelyek teljesen véletlenszerűen változnak kevésbé komplexek, ezeket mind a szabályozás vonatkozásában, mind a jövőbeni viselkedésük alapján egyszerűen is leírhatjuk. A teljesen szabályos rendszereket pedig három paraméterrel (frekvencia, amplitúdó és fázisátmenet) tudjuk jellemezni. A komplex rendszerekben a véletlenszerű és valós tulajdonságok keverednek egymással. A komplex rendszerekben szervesen kapcsolódó részek, azaz elemek vannak, melyek valamilyen logikai kapcsoló egységtől válnak szerves egésszé. Az alkotóelemek, alrendszerek sokaságából épülnek fel, amelyek egymással alá vagy mellérendelt viszonyban állhatnak. Az alrendszer több kölcsönhatásban lévő elem együttese, melyekből az adott vizsgálati rendszer felépül. Az elem a rendszeren belül egy olyan egység, amely önálló művelet végzésére képes, környezettől kapott bemenetei és kimenetei vannak, tehát a környezetével egyensúlytartásra képes. [1]

Egy-egy komplex alhálózat az egy szinttel feljebb található főhálózatba ágyazottan jelenik meg. [1] A mindennapi életünkben elkerülhetetlen az, hogy a bonyolult hálózatokat egyszerűbb elemekké redukáljuk, valamint a bonyolult hálózatokat újraértelmezzük, új kapcsolati háló felderítése által. Azonban elérkezhet egy olyan állapot, amikor az elemek száma akkorára nő, hogy a közöttük kialakult kapcsolatok fenntartása már gazdaságtalanná válik, ez akkor következik be, ha a főhálózat eléri azt a bonyolultsági szintet, hogy már nem lesz képes egységként működni. [1] Ilyenkor a főhálózat strukturálódni kezd, és benne modulok, alhálózatok alakulhatnak ki. [3] A főhálózaton belül ezek a modulok különböző feladatokat láthatnak el, ezáltal olyan előnyökre tesz a rendszer, amely az alhálózatok számára is előnyös potenciállal bírhat. [3] Ezt a folyamatot modularizáció vezérelt egymásbaágyazottságnak nevezik, mely egyértelmű lesz a biológiai rendszerekre is, így az általam vizsgált neuroendokrin szabályozási rendszerre is, a minta prezentálását az 1. ábra szemlélteti. Egyes modulok csomópontjai csak egy, vagy több elemen át tudnak érintkezni egymással. [3] Fontos az a megállapítás is, hogy az egyes modulok között valamilyen hierarchia alakul ki, ez a hierarchia jellemző a sejtjeinkben található anyagcsere hálózatokra többek között, illetve magasabb szerveződési szinten a neuroendokrin kommunikációs szinten is igaz ez a megállapítás. Azáltal tudjuk elhatárolni a modulok és az elemként viselkedő alhálók kettősét, hogy ha figyelembe vesszük a modulok, vagy alhálók számát, méretét az őket alkotó elemek méretéhez képest, valamint a strukturáltságát. [1] Meg kell vizsgálnunk a kapcsolatok számát is, illetve azt, hogy hogyan aránylik az őket a többi modulhoz/alhálóhoz kötő kapcsolatok számához, a modulok/alhálók mennyire különböznek egymástól, mennyire tudnak önfenntartóan működni, kapcsolódásuk mennyire állandó. Tehát kijelenthetjük, hogy a modularizáció a hálózatfejlődés velejárója. [1]

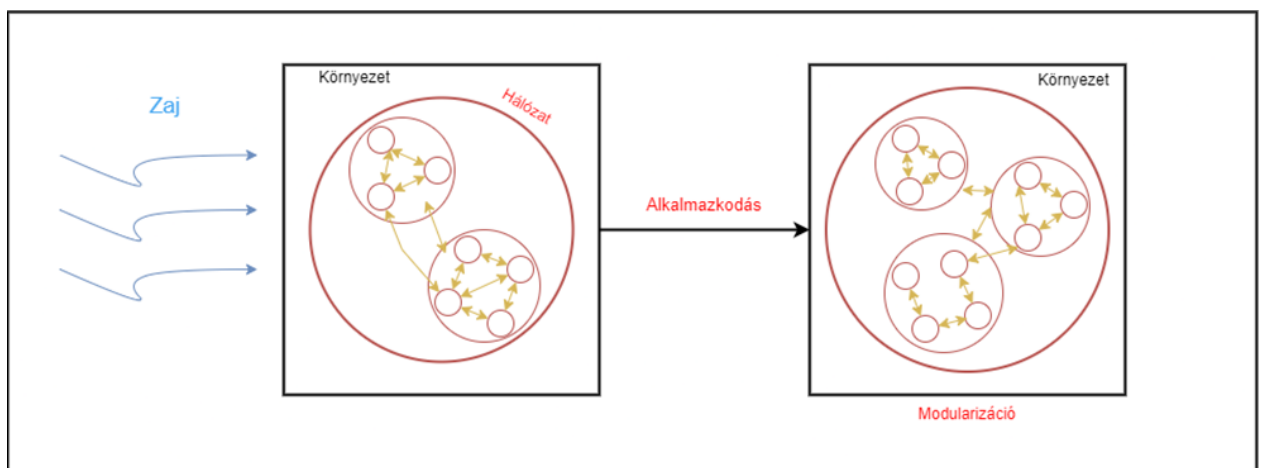


1. Ábra: Rendszer-elem, hálózat-alhálózat komplexitás

A rendszer károsodását előidéző zavarokat a modulok lokalizálhatják is, tehát a modulok határoló, lezáró funkcióval is rendelkeznek. [1] A modulok egymástól való független fejlődése akkor jár különösen nagy előnnyel, ha a környezeti feltételek időről időre megváltoznak. A különböző hálózati funkciók szétválását is okozhatják a modulok, ez kedvez a diverzitás kialakulásának, valamint növeli a rendszer stabilitását és fejlődőképességét. A modulok közötti kapcsolatokat a hálózat sajátos területe, az úgynevezett peremterülete is képes megteremteni, azonban ez segítheti, de akár gátolhatja is a modulok kapcsolódását. [1] Az egymásbaágyazottság a bennünket körülvevő világ egyik alaptulajdonsága, lehetővé teszi a világ komplexitásának az emberi tudat általi megragadhatóságát. A valós hálózatokban a hálózat elemei nem egyformák, ezáltal gyenge és erős kapcsolatok alakulhatnak ki. [3] A legtöbb hálózatban sokkal több gyenge kapcsolatot találunk, mint erőset. Ha csak szoros kapcsolatokat találunk, abban az esetben a hálózat megmerevedik és fejlődésképtelen lesz, a hálózat túlságosan rigiddé válik a változásokkal szemben (túlvezérlés). A gyenge kapcsolatoknak azonban fontos szerepük is van: összekötnék annyira, amennyire a magasabb hálózat kialakulásához szükséges, ugyanakkor a szétválást is lehetővé teszik szükség esetén. [1] A gyenge kapcsolatok hozzáadása vagy elvétele nem befolyásolja statisztikailag kimutatható mértékben a hálózat külső paramétereinek átlagértékét. [1]

Bekövetkezhetnek hálózatzavarok, amelyek sorozatát zajnak is nevezzük. Ezek olyan hatások, amelyek a hálózat eredeti állapotát megváltoztatják, kibillentik az önfenntartó mechanizmusából, és egy másik állapotciklusba lökik azt. [1] A hálózatzavarok azonban jelek is lehetnek. A hálózatok specifikus válaszát kényszeríthetik ki azok a hálózatzavarok, amelyeknek azonos formái elég gyakran érik a hálózatot, és elég nagyok ahhoz, hogy

megzavarják a hálózat működését. [1] Zaj fontos tényező is egyben, hiányában nincs kölcsönhatás a hálózat és környezete között (lásd 2. ábra), emiatt a zárt hálózatok fejlődésképtelenek lesznek és egy idő után széteshetnek. [1] A jó zaj hasznos példája a jel/zaj-rezonancia esete. Az észrevehetetlenül kicsiny jelek észlelését ebben az esetben a zaj lehetővé teszi. A jelnek egy meghatározott küszöbértéket el kell érnie ahhoz, hogy a hálózat a megszokott választ adja. [1] Az ioncsatornák működésében például elengedhetetlen szerepe jut a jel/zaj rezonanciának, amikor a csatorna nyitódása, refrakter periódusa, majd záródása következik be. Az optimális zaj nemcsak a jel/zaj rezonanciát segíti, hanem a hálózatok diverzitását, stabilitását is növeli. [1] A hálózat kölcsönhatásrendszere átalakul mikor önszerveződő kritikus állapotba kerül, ilyenkor a gyenge kapcsolatok szakadnak fel legelőször ebben a lavinaszerű átrendeződésben. Ezek a gyenge kapcsolatok majd újra képződnek és segítik a hálózat fokozatos stabilizálódását, melyet hálózatrengésnek nevezünk. [1]



2. Ábra: Rendszerműködés és zaj nexusa

Ha a hálózatok eredeti állapotát kismértékű zavarás éri, és ezt követően a paramétereik újra közelítenek az eredeti állapotban mért paraméterek felé, akkor a hálózatot stabilnak tekinthetjük. [1] A főhálózatot alkotó alhálózatok tükrében rendkívül fontos, hogy stabilak legyenek, máskülönben nem tudnak egymással erős kölcsönhatásokat kialakítani, és ennek következtében nem is lesznek alkalmasak arra, hogy a főhálózatot kiépíthessék. [1] Tehát szükséges, hogy a főhálózatok kialakítsanak olyan mechanizmusokat, amelyek az instabil alhálózatokat stabilizálják, elkülönítik vagy szétbontják. Azonban a hálózatok nem csak az alhálózataikat, hanem a környezetüket is stabilizálják, hiszen túlélési előnyt biztosítanak a környezet bármilyen paraméterének stabilizálásával. [1]

I.2. A hipofízis anatómiája és kapcsolata a központi idegrendszerrel és a perifériás rendszerrel

Először a komplexitás értelmezésével hipofízis-hipotalamusz kapcsolati hálóval szeretnék foglalkozni. A hipotalamusz és a hipofízis, valamint az őket összekötő neurovaszkuláris pályák vizsgálata elengedhetetlen az endokrin és egyéb funkciók, diszfunkciók megértéséhez. [4]. Munkám következő egységében élettani szempontú megközelítéssel kívánom bemutatni az endokrinium felépítését.

A hipotalamusz a köztiagy (diencephalon) része, a talamusz alatt, a harmadik agykamra mellett helyezkedik el. [4] Anterior, medialis és poszterior régiókra oszthatjuk. A régiókon belül magcsoportokat találhatunk, ezek sejtjeit méretük alapján is csoportosíthatjuk. Vannak kis méretű sejteket tartalmazó parvocelluláris és nagy méretű sejteket tartalmazó magnocelluláris sejtcsoportok. [4]

A szervezet homeosztázisát a hipotalamusz három különböző úton szabályozza. Az autonóm idegrendszer központjaként közvetlenül, az innen kiinduló pályákon keresztül szabályozza a nyúltvelőben, valamint a gerincvelőben lévő preganglionális motoneuronokat. A neuroendokrin szabályozás központjaként humorális kimenetei révén szabályozza az adenohipofízis hormontermelő sejtjeit. A limbikus kapcsolatain keresztül pedig a motiváció, akarati, tudati szabályozásának elengedhetetlen kelléke. [5]

A hipotalamusz anterior régióját a preopticus magok és a *nucleus suprachiasmaticus* (a *chiasma opticum* felett) alkotja. A *nucleus suprachiasmaticus* fontos a vérnyomás, testhőmérséklet, a napi ciklus, a szaporodás és a hormonrendszer szabályozásában. [6]

A hipofízis-nyél fölött helyezkedik el a hipotalamusz középső régiója. Lokális, hipotalamuszon belüli kapcsolatokban fontos magok a *nucleus dorsomedialis* és *nucleus ventromedialis*. [7] Nagy méretű neuroszekréciós sejteket találhatunk a *nucleus paraventricularis*, *nucleus supraopticus* és a *nucleus arcuata* magjaiban. A magnocelluláris sejtek oxitocint és vazopresszint termelnek és ezeket axonális transzporttal jutattják a neurohipofízisbe. A *nucleus arcuatus* és *nucleus periventricularis* magokban helyezkednek el a kis méretű neuroszekréciós sejtek. Ezek a parvocelluláris sejtek serkentő és gátló hatású neurohormonokat termelnek. A hormonok az eminentia mediana területén kerülnek a keringésbe, majd az adenohipofízisbe jutnak a portális keringéssel. [8]

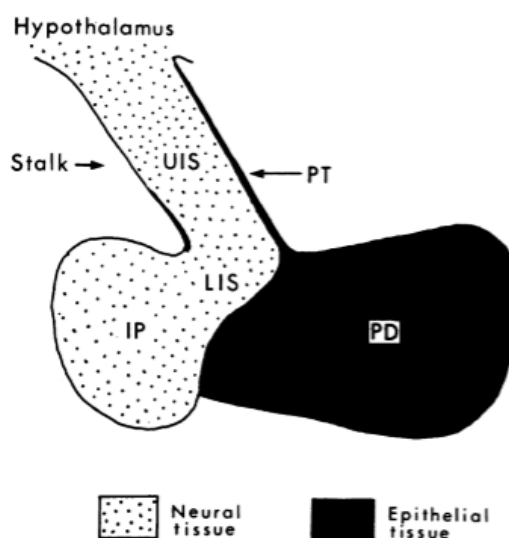
A poszterior régiót a *corpora mammillaria* és a *posterior* hipotalamikus area alkotja. A *corpora mammillaria* a limbikus kimenetek szabályozásában fontos. [9]

A hipotalamusz a hipofízis mindkét lebenyével szoros anatómiai és funkcionális egységet képez. Ezáltal biztosítja az endokrin működések felett az idegrendszer ellenőrző szerepét, valamint a humorális faktorok központi idegrendszer működésére gyakorolt hatását. [8]

A hipotalamusz a hipofízishez a hipofízisnyéllel (*infundibulum*) kapcsolódik. Az *infundibulum* területén található az *eminentia mediana*, amely egy erősen vaszkularizált rész, fenesztrált endotélsejtek alkotják a kapilláris hálózatának falát. [6] A hipotalamusz kis méretű neuroszekréciós sejtjeinek axonjai az *eminentia mediana* területéig nyúlnak és a neurohormonokat itt ürítik a keringési rendszerbe. A nagy méretű neuroszekréciós sejtek axonjai azonban egészen eljutnak a neurohipofízisig, a hipofízis hátulsó lebenyéig. Az itt felszabaduló neurohormonok (oxitocin és vazopresszin) a neurohipofízisben a neurofizin fehérjéhez kötődnek és itt raktározódnak, majd idegi vagy humorális jelek hatására képesek felszabadulni és aktiválódni. [8]

A hipofízis (*glandula pituitaria*) egy borsó nagyságú mirigy a koponya alapján, az ékcsont mélyedésében, a töröknyeregben. Anatómiailag adenohipofízisre (elülső lebeny) és neurohipofízisre (hátulsó lebeny) osztjuk. Részei a *pars distalis*, *pars tuberalis* és a *pars intermedia*. Az agyalapi mirigy elülső lebenye (*pars distalis*) az embrionális szájüreg kitüremkedéséből, a primitív garatból (Rathke-tasak) származó hámszövet növekedéseként fejlődik ki, ezáltal ektodermális eredetű. A mirigy elülső lebenyét alkotó hámsejtek, vagyis a *pars distalis* hormonjaikat közvetlenül a sejtek között futó szinuszoidokon keresztül áramló vérbe választják ki. Az ezekben a sejtekben lévő szemcsék azonosítják a különböző típusú sejteket. Ezeket a szemcséket azonban nehéz emberi mirigyekben tanulmányozni, mivel nem könnyű friss mintákat szerezni.

A neurohipofízis és az *infundibulum* a *diencephalon* hólyagból fejlődik ki, vagyis ez a rész neuroektodermális eredetű. Nincs saját hormontermelése, csak hormonok raktározására szolgál (vazopresszin, oxitocin). Részei az *infundibulum* és a *pars nervosa*. [4]



3. Ábra: Az emberi agyalapi mirigy ábrája a szagittális szakaszban. Az idegszövet a neurohipofízist jelöli, hámszövet az adenohipofízist.

Ábramagyarázat: IP = hátsó lebeny, LIS = alsó infundibularis szár, PD = pars distalis (elülső lebeny), PT = pars tuberalis, UIS = felső infundibuláris szár. [4]

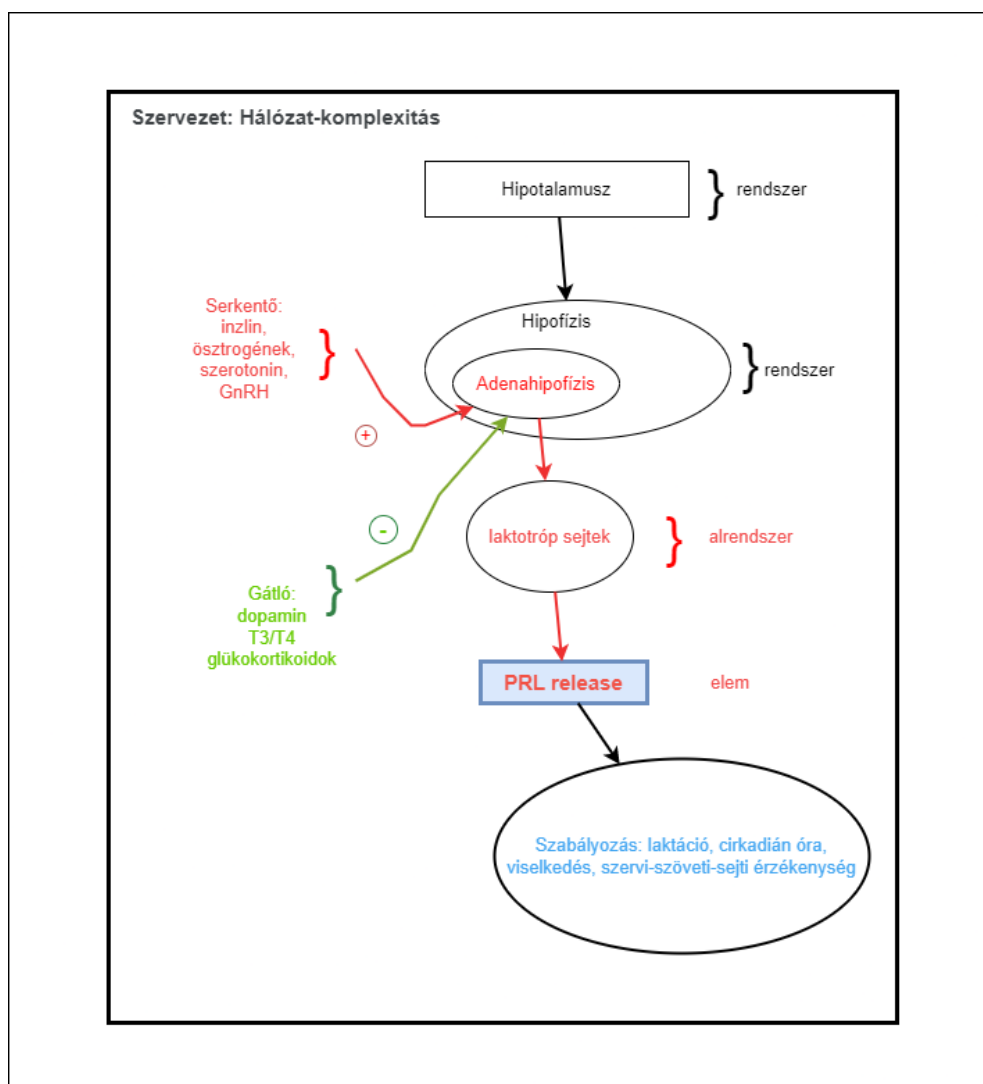
I.3. Az adenohipofízis hormonjai, különös tekintettel a prolaktin és az adrenokortikotrop hormon függvényében

A hipofízis hormonjait több szempont szerint is csoportosíthatjuk, jelen munkában a közvetlenül a szövetekre ható, valamint közvetlenül a periférián érvényesülő hormonok kategóriájára. Közvetlen a szövetekre ható hormonok közé tartozik az adenohipofízis szomatotróp sejtjei által termelt szomatotróp/növekedési hormon (GH/STH), a laktotróp sejtek által termelt prolaktin/laktotróp hormon (PRL/LTH), valamint a melanocita stimuláló hormon (MSH), melyet a melanotróp sejtek termelnek. A perifériás endokrin mirigyekre ható, glandulotróp-hormonok közé soroljuk a kortikotróp sejtekben keletkező adrenokortikotrop hormont (ACTH), a tireotróp sejtekben képződő tireotróp hormont (TSH), valamint a gonadotróp sejtek által termelt follikulus stimuláló hormont (FSH) és a luteinizáló hormont (LH). [8] Jelen dolgozat szempontjából a PRL, valamint az ACTH lesznek a dominánsak, melyek karakteres jellemzését a következőkben kívánom prezentálni.

I.3.1. A prolaktin hormon biokémiájáról és élettani jelentőségéről

A PRL az agyalapi mirigy elülső részének peptidhormonja. 198, illetve strukturális heterogenitás folytán 199 aminosavból álló polipeptid. Egy nagymolekulájú prekursorból származik. [8] Genetikai, szerkezeti, kötődési és funkcionális tulajdonságai alapján a PRL a

prolaktin/növekedési hormon/placenta laktogén családjába tartozik. A PRL-t, növekedési hormont és placenta laktogént kódoló gének egy közös ősi génből fejlődtek ki génduplikáció útján. A PRL és a GH vonalak eltérése mintegy 400 millió évvel ezelőtt következett be. A PRL-t a 6. kromoszómán található gének kódolják. A PRL gén 10 kb nagyságú, és 5 exonból és 4 intronból áll. A PRL gén transzkripcióját két független promoter-régió szabályozza. [10] A proximális 5000 bp régió irányítja az agyalapi mirigy-specifikus expressziót, míg egy upstream promoter régió az extrapituitaris expresszióért felelős. [10] Hatását a PRL-receptorok izgatása révén fejti ki, melyek működése tirozin-kináz aktivitáshoz kötött. A PRL legfőbb élettani hatása az emlőmirigyek normális kifejlődésének segítése, az ösztrogén és a progeszteron mellett. A placentális laktogén, a GH, az inzulin, a kortizol, valamint a pajzsmirigyhormonok hatásai is jelentősen hozzájárulnak mindehhez a terhesség folyamán. [8] PRL szerepe, hogy kiváltja és fenntartja a laktációt. A PRL laktációs hatása a szülés után tud igazán érvényesülni, mivel ekkor az ösztrogén- és progeszteron-szint leesik. A szülés során emelkedő cortizolszintnek is szerepe van a laktáció beindításában. [8] A PRL serkenti a tej-kazein, laktalbumin és a β -laktoglobulin szintéziséért felelős mRNS transzkripcióját, valamint a laktóz termelődését serkentő egyéb enzimek aktivitását is. A laktáció megszüntetésére dopamin-agonistákat használnak, azonban az ösztradiol gátló hatása is érvényesülhet. [8] Ma már tudjuk, hogy a PRL nem olyan egyszerű struktúrát mutat, mint ahogyan korábban leírták. Valójában kémiaiilag a PRL számos poszttranszlációs módosításon megy végig, így a méretváltozatoktól a kémiai módosításokig (például foszforiláció vagy glikoziláció). [10] Nemcsak az agyalapi mirigyben szintetizálódik, hanem a központi idegrendszerben, az immunrendszerben, a méhben és a hozzá kapcsolódó fogantatási szövetekben, sőt magában az emlőmirigyben is. Sőt, biológiai hatásai nem korlátozódnak kizárólag a szaporodásra, mert kimutatták, hogy számos viselkedést szabályoz, és még a homeosztázisban is szerepet játszik. [10] A PRL-felszabadító ingerek közé nemcsak a szoptatási inger tartozik, hanem a fény, a hallás, a szaglás és a stressz is serkentő szerepet tölthet be. Ismert, hogy a hipotalamusz eredetű dopamin gátolja a prolaktin szekrécióját. Az agyban, az agyalapi mirigyben és a perifériás szervekben lévő egyéb tényezőkről kimutatták, hogy gátolják vagy stimulálják a prolaktin szekrécióját. [10]



4. Ábra: PRL-szekréció szabályozása: rendszer-komplexitás tükrében

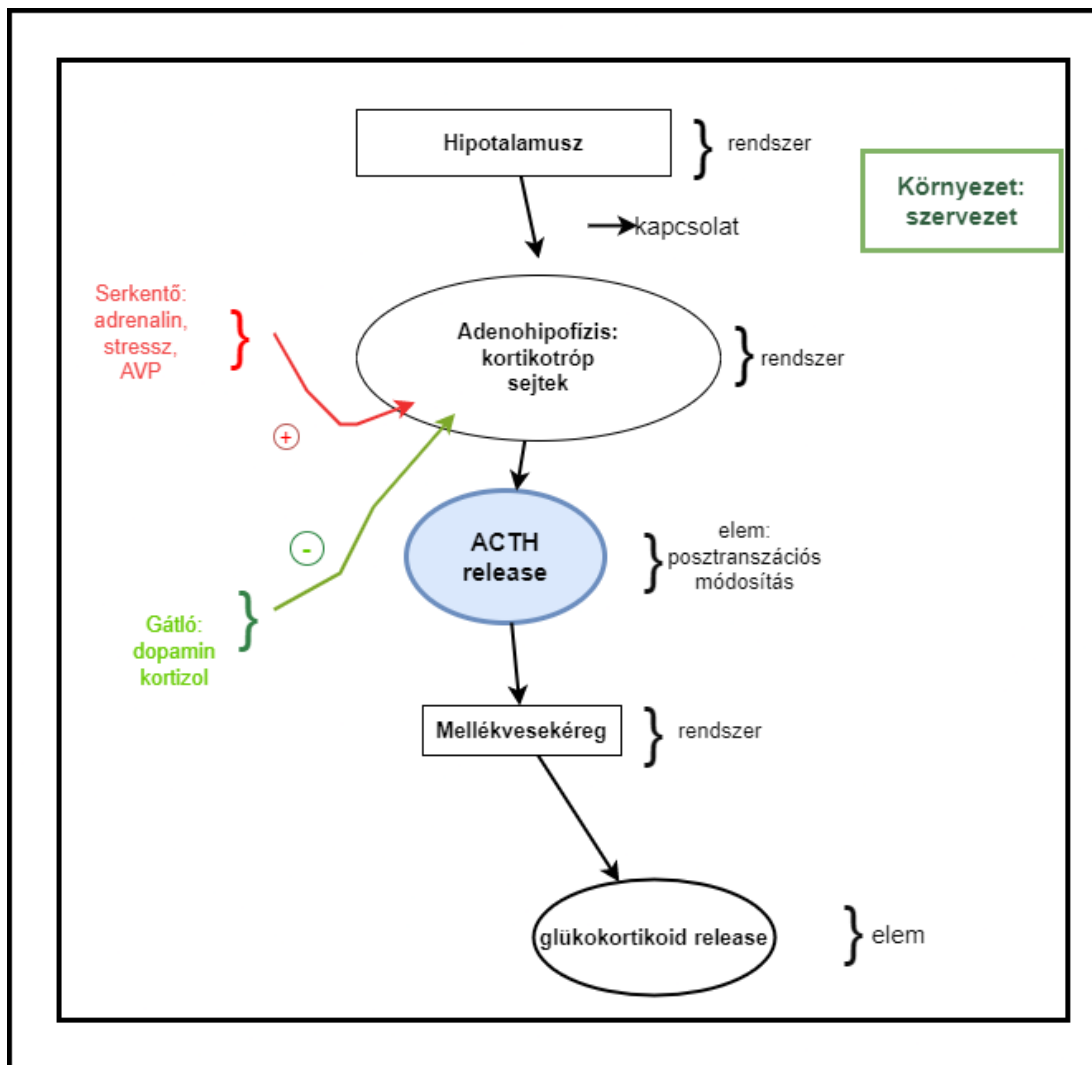
Hiperprolaktinémia esetén csökken a GnRH szekréciója, a gonadotrop sejtek érzékenysége a GnRH iránt, ezáltal a gonadotropinok elválasztása is. Azonban a petefészek LH iránti érzékenysége is csökken. [8] Tartósan fennálló hiperprolaktinémia esetén gátolt a preovulációs ösztrogén-csúcs létrejötte, ez miatt a ciklus megnyúlik, anovuláció jön létre, valamint bradioligomenorrhoea vagy amenorrhoea lép fel. Nőknél az ovuláció elmaradása sterilitást eredményez. Férfiak esetében is sterilitás illetve impotencia alakulhat ki. [8]

I.3.2. Az adrenokortikotrop hormon biokémiája és élettani jelentősége

Az ACTH 39 aminosavból álló polipeptid. Az agyalapi mirigy elülső lebenyében képződik egy hosszú prekursor fehérje, a proopiomelanokortin (POMC) feldarabolása révén. [8] Termelését a hipotalamusz kortikotropin-releasing hormonja fokozza. ACTH a melanokortin receptor öt altípusának valamelyikéhez kötődik, és a melanocortin peptidcsalád egyetlen tagja, amely a melanocortin-receptor 2-hez kötődik. [11] Az ACTH elsődleges szerepe a

mellékvesekéreg szteroidogenezisének fokozása: a glükokortikoid- és az androgénszekréciót, de a mineralokortikoid-szintézisnek csak az első lépését serkenti. [8] Emellett szerepet játszik az acetilkolin felszabadulásában, az agresszív viselkedés mintázatokban kimutatott a szerepe, a vérnyomás szabályozásában, a csontfenntartásban, a hiperalgéziában, a lipolízisben, a tanulásban, a memóriában, az idegsérülések helyreállításában, a neuroprotekcióban, a szexuális viselkedésben, az alvásban, a szociális viselkedésben és a szövetek növekedésében is fontos szerepet tölt be. Az ACTH hatása meghatározó az Addison-kórban, az alkoholizmusban, a rákban, a Cushing-kórban, a dermatitisben, az agyvelőgyulladásban, az epilepsziában, a Graves-kórban, a Guillain-Barré-szindrómában, a sclerosis multiplexben, a podocitopátiákban és a stresszben. [11]

A CRH hipotalamikus faktor a fő meghatározója az ACTH serkentésének különböző idegi beavatkozások által. A cAMP szignalizáció útján jön létre az ACTH-sejtekre kifejtett hatása. [8] A vazopresszin a CRH mellett szintén serkenti az ACTH-elválasztását. A kortizol-emelkedés okozta negatív feedback elsősorban a hypophysis szintjén és részben a hypothalamuson keresztül valósul meg. Szekréciója cirkadián ritmushoz kötött, maximális reggel 6-8, minimális éjjel 0-4 óra között. Stressz hatására, depresszióban, valamint mellékvesekéreg-, ACTH-vagy CRH-termelő daganat esetén, vagy glükokortikoidok hatására felborulhat a napi bioritmus. [8]



5. Ábra: ACTH szekréció szabályozása: rendszer-komplexitás tükrében

I.4. A nátrium homeosztázis

A homeosztázis egyik elengedhetetlen összetevője az izoionia. Az izoionia a teljes szervezet vonatkozásában jelenti az ionegyensúly meglétét az intracelluláris (IC) és az extracelluláris (EC) tér között. Az intracelluláris teret a sejtek belső környezete, a sejtmag és a citoplazma folyékony állománya képezi. A sejten belüli tér egy többfázisú, azaz poli-diszperz rendszer. Az intracelluláris tér pH-ja a magasabb rendű gerincesek esetében gyengén savas (6-8 pH érték körüli), amit az anyagcsere folyamatok eredményeznek a sejten belül. Az intracelluláris tér legfőbb kationja a K^+ , ez mellett H^+ ionok, valamint a foszfát és fehérje molekulák vannak túlsúlyban a sejten kívüli térhez képest. Az extracelluláris tér, a sejteken kívüli folyadéktér, mint amilyen a vérplazma, a szövetközi folyadék, a nyirok vagy a liquor. A sejtek megfelelő működéséhez elengedhetetlen, hiszen tápanyagokat, szabályozó vegyületeket szállít, majd a bomlástermékeket is elszállítja. Az extracelluláris tér fő kationja a Na^+ . Az ozmolaritás 90%-át a nátrium, és a hozzá kapcsolódó anionok adják. Abban az esetben, ha a Na^+ koncentráció

emelkedik hiperozmózis következik be, csökkenésekor, viszont hipo-ozmózt eredményez. Anionok közül az extracelluláris térben döntően Cl^- található, valamint az intracelluláris térhez képest, magas a Ca^{2+} koncentrációja. Látható, hogy annak ellenére, hogy az intracelluláris és az extracelluláris folyadéktér ionkoncentrációja viszonylag állandó, a két tér között jelentős különbség van. [12]

Ion	Intracelluláris koncentráció	Extracelluláris koncentráció
kálium (K^+)	150 mM	4 mM
nátrium (Na^+)	15 mM	142 mM
klór (Cl^-)	5 mM	106 mM
kalcium (Ca^{2+})	0,0001 mM	1,25 mM

1. Táblázat: Az ionok megoszlása intra-, és extracelluláris viszonyok között

A sejthártya egyfajta válaszfalat képez az intra-és az extracelluláris tér között, mely szabadon csak a vizet engedi át. Az ionok áramlásának irányát a membrán két oldala közötti potenciálkülönbség (E_m) és a koncentrációkülönbségből számítható egyensúlyi potenciál (E_{ion}) különbsége ($E_m - E_{\text{ion}}$) szabja meg. Az ionáram arányos az ionokra ható mozgatóerővel ($E_m - E_{\text{ion}}$) és a csatornák ionkonduktanciájával (g_{ion}). A nyugalmi potenciál kialakulásának feltétele, hogy a plazmamembránnak jelentős legyen a K^+ -permeabilitása és alacsony a Na^+ -permeabilitása, ez mellett meghatározó a K^+ -ok koncentrációkülönbsége az intracelluláris és az extracelluláris környezet között, továbbá az a tény, hogy a plazma anionjainak nagy részére a membrán impermeábilis. A K^+ -ok koncentrációgradiensük irányában történő kifelé áramlását nem képesek követni intracelluláris anionok többsége, a Na^+ pedig nem jut be, ezért a membrán belső felszíne negatív a külső felszínhez képest. [6] Akciós potenciál következtében a zárt Na^+ -csatornák megnyílnak, és a koncentrációkülönbség következtében a Na^+ -ok beáramlanak a sejtbe. Ezáltal a membrán depolarizálódik, a belső oldal pozitívvá válik. A folyamat végén a Na^+ -csatornák bezáródnak, fokozatosan megnyílnak a K^+ -csatornák. A kiáramló K^+ csökkenti a belső oldal pozitív töltéstöbbletét, ezt a hatást fokozza még a Na^+ - K^+ -pumpa is. A repolarizáció során visszaáll a nyugalmi állapot. [6]

A Na^+ fő funkciója a szervezet só-víz háztartás egyensúlyának fenntartásában nyilvánul meg. A homeosztázis fenntartásához már kis mennyiségű Na^+ is elegendő a szervezet megfelelő működése érdekében, azonban az átlagos napi Na^+ -bevitel (3,95 g/nap világszerte) jóval meghaladja az Amerikai Szív Szövetség (American Heart Association; 1,5 g/nap) és az Egészségügyi Világszervezet (World Health Organization – WHO; 2,0 g/nap) által ajánlott határértékeket. A gyors ütemben fokozódó sófogyasztás összefügg a sószenzitiv

hipertóniában és kardiovaszkuláris betegségekben szenvedők növekvő számával. Az ok a Na^+ -homeosztázis és az extracelluláris térfogat közötti összefüggésben keresendő. Bizonyos szövetek a Na^+ -ot képesek tárolni, ilyen például a bőr és az izom. A bőrben a többlet nátrium glükózaminoglikán (GAG)-molekulához kötődve raktározódik, ez aktív folyamat eredménye, melynek során sómegvonáskor csökken, sóterheléskor viszont növekszik a GAG-mennyisége. Mérések alátámasztották, hogy sóterheléskor a plazma Na^+ -koncentrációja rövid ideig és kismértékben emelkedik az átlagos 142 mmol/l fölé, azonban a bőr interstitiumában akár 180 mmol/l-es koncentrációt is mértek. Ezáltal megállapíthatjuk, hogy a bőr interstitiuma önálló kompartmentként jellemezhető, hiszen a szervezetben felhalmozódó Na^+ -többlet nem egyenlítődik ki az EC folyadékterek között. Bizonyos fiziológias állapotok is befolyásolhatják a szöveti Na^+ -raktárak növekedését. Hipertóniában, akut és végstádiumú veseelégtelenségben szenvedő betegek bőrén és izmaiban ugyancsak magasabb Na^+ -tartalom mérhető. Kiemelhetjük a Na^+ immunrendszere gyakorolt hatását is, mely először a magas vérnyomás kapcsán merült fel. Sóterhelést követően a Na^+ -raktárként szolgáló bőr interstitiumát makrofágok infiltrálják. Hipertóniás környezetben megemelkedik a nukleáris T-sejt 5 transzkripció faktor (NFAT5) mennyisége, amely az ozmotikus stresszhez való alkalmazkodáshoz szükséges. A sóbevitel mértéke és a vérben lévő monociták száma között pozitív korrelációt állapítottak meg. A Na^+ ozmotikus hatásából eredően befolyásolja a sejten kívüli tér folyadéktartalmát, ezáltal hatással van az intravasculáris térfogatra is. Ezért egyes kórállapotokban, mint a magas vérnyomás, a vesebetegség, a szívbetegség, illetve a májcirrhosis meglétekor sómegvonást javasolnak kiegészítő terápiaként, mivel a sómentes diéta hozzájárul a volumenterhelés csökkentéséhez. [13]

I.5. A prolaktinoma, laktotróp adenomák

A prolaktinoma (PRLoma) az agyalapi mirigy daganatok leggyakoribb típusa, úgynevezett laktotróp adenoma, amely az összes agyalapi mirigydaganat mintegy 40 %-át teszi ki a humán populációban. [14] Ezen jóindulatú daganatok előfordulása kortól és nemtől függően változik, leggyakrabban 20 és 40 év közötti, fertilis nőket érintik. A PRLoma-k a PRL hiperszekrécióját okozzák, így a hiperprolaktinémia nőknél hipogonadizmust, menstruációs rendellenességeket vagy *amenorrhoeát* okozhat. Férfiaknál jellemzően alacsony szérumszint lép fel. Következésképpen meddőség és szexuális diszfunkció jelentkezhet férfiaknál és nőknél egyaránt. A makroprolaktinómák fejfájást, látászavart és a hipofízis alaulműködését is okozhatják, a visszacsatoló mechanizmusok révén. [15] Megállapították, hogy, ha a teljes populációt vizsgáljuk, akkor nőknél nagyobb valószínűséggel alakul ki PRLoma, mint a férfiaknál. Ezek a daganatok gyermek-, és serdülőkorban ritkán fordulnak

elő. Gyermekeknél a PRLoma-k megakadályozhatják vagy blokkolhatják a pubertás előrehaladását. A legtöbb esetben a prolaktinómák és a kapcsolódó egészségügyi problémák gyógyszerekkel sikeresen kezelhetők. [14]

I.5.1. A prolaktinómák megjelenései nőkben

A PRLoma-ban szenvedő nők többségének azonban sokszor nincsenek tünetei. A mikroadenoma kifejezés a 10 mm-nél kisebb átmérőjű daganatokra, a makroadenoma kifejezés pedig a 10 mm-nél nagyobb átmérőjű daganatokra használatos. A makroadenómák lehetnek intracellárisak vagy extracelluláris kiterjedésűek. [16]

Ha az *amenorrhoea* vagy *oligoamenorrhoea galactorrhoea*val társul, az általában a hiperprolaktinémia megnyilvánulását is maga után vonja. A galactorrhea a nem fiziológiai laktáció eredményeként fellépő anyatejtermelést jelenti. [16] Az emlőmirigy fejlődési folyamataiban szerepet játszanak a komplex ösztrogének, a növekedési hormon, a progeszteron, glükokortikoidok és PRL is. A terhesség alatt jelen lévő magas ösztrogénszintek gátolják a PRL kötődését a mellszöveti sejtreceptorokhoz, ezáltal megakadályozza a laktációt. [16] Azonban az ösztrogénszint csökkenése, amely pl. a méhlepény kilökődésének következménye is lehet a szülés folyamata során, lehetővé teszi a laktációt. [16] Az egyik vagy mindkét emlőből kismértékben lefejtethető tej jelenléte indokolja a galactorrhea diagnózisát. A normális szülés és a szoptatás leállítása után több, mint egy évig fennálló vagy a terhesség hiányában történő előfordulása általában a nem megfelelő laktáció definíciója. [16] A vér PRL-szintjének normálra szintre csökkentése szinte mindig a laktáció jelentős csökkenéséhez vagy megszűnéséhez vezet. [16] A galactorrhoea a normálisan menstruáló nők körülbelül 5-10 %-ánál fordulhat elő, és a PRL-szint ezen nők több, mint 90 %-nál normális. [16] A hiperprolaktinémiában szenvedő nők másik következménye lehet a meddőség is. [16] Vizsgálatok alapján bromokriptinnel történő kezelése helyreállítja a termékenységet. Ez a megfigyelés elengedhetlenné teszi a PRL szekréciónak állapotának értékelését minden meddő nők esetében. A PRL szintje a policisztás ovárium szindrómánál (PCOS) is magas, főleg a ciklus második felében. [17] Gyakran ez a típusú hormonzavar a PCOS első jeleként lép fel. Mindemellett csökkent libidó és orgazmuszavar figyelhető meg a legtöbb hiperprolaktinémiás amenorrhoeás nőben. [16] A PRL-szintek normálra csökkentése műtéttel vagy bromokriptinnel helyreállítja a normális libidót és a szexuális funkciót a legtöbb ilyen nőnél. Számos egyéb pszichológiai vonatkozású tanulmányban [16] azt találták, hogy a hiperprolaktinémiás nők fokozott depressziót, szorongást és ingerlékenységet mutatnak. [16] Az intracerebroventricularisan injektált PRL patkánykísérletekben a szexuális fogékonyság jelentős csökkenését okozta, mindez alátámasztja a PRL-nak a szexuális funkcióban betöltött

további szerepét. [16] A magas PRL szint következményei között szerepelhet még a csontsűrűség csökkenése is. [16]

I.5.2. A prolaktinómák megjelenései férfiakban

A PRL-t kiválasztó daganatok a férfiak meddőségének jelentős okozói. A férfiaknál a PRLoma diagnózisát azonban gyakran figyelmen kívül hagyják egészen a klinikai lefolyás késői szakaszáig. A hiperprolaktinémia, a hipotalamusz-hipofízis tengelyére gyakorolt hatása révén okoz meddőséget, következményesen azért, mert az ivarmirigyeket is befolyásolja a hiperszekretált PRL. [18] Egyes vizsgálatok szerint a férfiaknál előforduló agyalapi mirigydaganatok 65 %-a PRLoma, bár más kutatásokban az előfordulási gyakoriság 16-52 % között változik. [18] A férfiaknál a PRLoma-k klinikai megjelenése több szempontból is eltér a nőkéétől. Bár a hiperprolaktinémia impotenciát és meddőséget okoz, a PRLoma-t nem ismerik fel, amíg a látómező defektusai vagy panhypopituitarismia nem alakul ki. [18] Ez a különbség részben azzal a ténnyel magyarázható, hogy a nőknél az amenorrhoeát könnyebben észlelik klinikai problémaként, mint a férfiaknál az ivarmirigy-elégtelenséget. [18] A férfiaknál tapasztalható daganatok nagy mérete miatt a tömeges hatásokhoz kapcsolódó tünetek meglehetősen gyakoriak. A fejfájás az esetek 25-40 %-ban jelent panaszt. [18] Gyakoriak a látási panaszok is. Az esetek 40-80 %-ban fordul elő látóideg-kompresszió, amely látótér-hibákhoz vezet. [18] A csökkent élesség és a látóideg sápadtsága szintén gyakori megnyilvánulása a látóidegek daganatos összenyomódásának. Az agyideg-bénulás, ami diplopiát eredményez, masszív daganatnövekedés esetén fordul elő. Kezdeti panaszként írták le a cerebrospinális folyadék (CSF) rhinorrhoeát és a CSF otorrhoeát is. Nagy prolaktinómák esetén agyalapi mirigy apoplexia is előfordulhat. [18]

Feltételezzük, hogy minden makroadenóma mikroadenómaként kezdődik, de nem ismert, hogy az összes mikroadenóma makroadenómává válik-e vagy sem. [18] Retrospektív vizsgálatok kimutatták, hogy a makroadenómás férfiak általában hosszabb ideig impotensek, mint a mikroadenómás férfiak. [18] Egyes tanulmányok azt sugallják, hogy a hiperprolaktinémia korai felismerése és kezelése férfiaknál megelőzheti a macroadenomák kialakulását. [18] Bár az átlagos életkor tekintetében általában a férfiakat érinti idősebb korban, mint a nőket, azonban tizenéveseknél is leírtak már macroadenomákat. Nem minden PRLoma nő azonos ütemben, és egyes betegeknél nem ismertek azok a tényezők, amelyek hozzájárulnak a PRLoma gyors növekedéséhez. Az impotencia rendkívül gyakori a hiperprolaktinémiában szenvedő férfiaknál, és jellemzően régóta fennálló panaszként jelentkezhet. [18] A galaktorrhoea és a gynecomastia sem ritka klinikai lelet férfiaknál, bár a galaktorrhoea ritkábban fordul elő férfiaknál, mint nőknél. Thorner és Besseri arról számolt be,

hogy a galaktorrhéa a hiperprolaktinémiás férfiak 28 %-nál fordult elő. [18] Bár a gynecomastia gyakran előfordul normál szérumszintű egyéneknél, számos tanulmány a gynecomastia megnövekedett előfordulására utal PRLoma-s betegekénél. A férfiak galaktorrhéája nem feltétlenül jelent hipogonádalis állapotot. [18]

Az agyi kémiai dopamin (DA) segít blokkolni a PRL termelését a szervezetben. Bármely gyógyszer, amely befolyásolja a DA termelését vagy felhasználását, növelheti a PRL-szintet. [18] A hiperprolaktinémia kezelésében az alap-, és klinikai kutatások nagy része szilárd alapot biztosít a bromokriptin használatához. Az idiopátiás hiperprolaktinémia esetén ez a gyógyszer túlnyomó többségében normalizálja a szérumszintjét, és több mint 60 %-ban ovulációs ciklusokat eredményez. [19] Hasonló endokrinológiai előnyökről számoltak be MIC-betegekénél. Mindkét csoport esetében a PRL-szint és a petefészek-funkció normalizálása közvetett előnyökkel járhat az anyagcserére és a pszichológiai funkciókra, a közvetlen javuláson vagy a termékenységen túl. Ezen okok miatt ezeknél a betegekénél a bromokriptin-terápia javasolt. [19] Makroadenomában szenvedő betegekénél a bromokriptinnek kell az elsődleges terápiának lennie a betegek többségénél, beleértve azokat is, akiknél látótérkiesés és neurológiai tünetek jelentkeznek. A bromokriptin vizsgálatát követően sebészeti dekompresszió és/vagy sugárterápia hozzáadása javasolt olyan betegekénél, akik 6 hetes orvosi kezelés után nem reagálnak. [19]

II. Célkitűzés

A homeosztázis a szervezet belső egyensúlyi állapotát jelenti, melyben számos komponens, mint rendszer működik együtt, szoros kapcsolati hálót alkotva. A homeosztázis egyik fontos pontja tehát az iziointegritás. A hiponatrémia a feltételként értelmezett környezet eleme is, és így a környezet-rendszer komplementaritása révén befolyásolja a rendszer és alrendszerek működését. [3] Jelen munkában a következő célkitűzési pontokat határoztuk meg:

- (1) Munkámban hiteles szakirodalmi feltárással kívántam megismerni az endokrin- és pszichés rendszert, mint komplex rendszert, és elemeinek egymással szorosan összekapcsolódó szerves egységét.
- (2) Vizsgálni kívántam, hogy a normál adenohipofízisre és PRLoma-s adenohipofízisre gyakorolt különböző Na^+ koncentráció kezelések hatásai, milyen következményeket generálnak az ACTH és PRL hormon release-ben.
- (3) PRLoma modellrendszerben történő módosított neuroendokrin rendszer tanulmányozása szintén kiemelt fókuszpontja volt dolgozatomnak.
- (4) Extracelluláris Na^+ koncentráció és a hormonvezikuláris exocitózis közötti összefüggés vizsgálatát is el kívántam végezni dolgozatomban.

III. Módszerek

III.1. A kísérleti állatok

Jelen kísérleteinkben leletezett nőstény (a kísérletek kezdetén 200-250 g súlyú, 4-6 hetes), Wistar törzsű patkányokat használtunk (Charles River, Isaszeg, Magyarország). A kísérleti periódus alatt az állatokat kontrollált diurnális körülmények mellett (55-65 %-os relatív páratartalom, 22 ± 2 °C léghőmérséklet), automatizált környezetben (12 h nappali, 12 h éjszakai megvilágítási ciklusok) 32x40x18 cm méretű ketrecekben tartottuk (ketrecenként 5 állat). A kísérleti állatok számára szükséges táplálék (CRLT/N, Charles River, Magyarország) és ivóvíz *ad libitum* állt rendelkezésre. A standardizált kísérleti protokoll alapján végzett vizsgálatokba bevont állatokat a laboratóriumi állatokra, valamint a kísérleti eljárásokra vonatkozó, 40/2013. (II. 14.) Korm. rendelet az állatkísérletekről, a 2010/63 EU irányelv, valamint a 1998. évi XXVIII. törvény tiszteletben tartása mellett végeztük, a vonatkozó állatkísérleti etikai engedélyszám: IX./1999.

III.2. Indukált prolaktinóma és *in vitro* kísérletek

A megváltozott neuroendokrin rendszer tanulmányozását prolaktinóma modellrendszeren kívántuk megvalósítani. Adenohipofizeális prolaktinóma indukcióhoz nőstény Wistar patkányokat (n=6) 6 hónapon keresztül subcutan kezeltünk öszttron-acetáttal (CAS regisztrációs szám: 901-93-9, Sigma, Németország; 150 µg/tt. kg/hét). [20]

Pentobarbital (4,5 mg/tt. kg, Nembutal, Abott, USA) anesztéziát követően a kezelt és kezeletlen kísérleti állatokat dekapitáltuk, majd az adenohipofízis (AdH) és neurohipofízis szöveteket preparáló mikroszkóp alatt szeparáltuk. Az AdH szövetekből enzimatis (tripszin: 0.2 % /Sigma, Németország/ 30 percig; kollagenáz /Sigma, Németország/: 30 µg/ml 40 percig; diszpáz /Sigma, Németország/: 50 µg/ml 40 percig, az oldatok elkészítéséhez foszfát-puffert használtunk /PBS-A/; hőmérséklet: 37°C) és mechanikus (83 és 48 µm pórusátmérőjű neylon-blutex filtert használva) disszociáltatás után primér, monolayer sejt kultúrákat készítettünk.

A sejtek viabilitás (≥ 95 %, tripán-kék festés alapján) kontrollja után a sejtdenzitást 2×10^5 /ml-re állítottuk be, majd a szuszpendált sejteket mosás után Dulbecco's Modified Essential Medium (DMEM, Sigma, Németország) + 20% Fetal Calf Serum (FCS, Sigma, Németország) + 1.0 µg/ml Penicillin+Streptomycin (Sigma, Németország) tápoldatba, majd 5 % kollagénnel felületkezelt 24 lyukú plasztik tenyésztőedényekbe (Nunc., Németország), és termosztátba helyeztük (T= 37°C, pCO₂: 5%). A sejt kultúrákat a letapadást követően 3 naponként friss tápoldattal mostuk, amíg azok konfluenssé váltak. Ezt követően a primér sejt kultúrákat PRL és ACTH tartalomra immunhisztokémiai módszerekkel standardizáltuk.

A funkcionális standardizálást és a bazális ACTH és PRL hormonszint meghatározást Tyrode mediumban (Sigma, Németország) is elvégeztük. Az állandó ionerősségű mediumban a $[Na^+]$ -ot változtattuk a többi esszenciális anion és kation homeosztatikus (izoionikus) koncentrációban volt jelen. A primér, monolayer sejtkultúrák hormon elválasztását 0, 30, 60, 90 és 120 mM $[Na^+]$ környezetet reprezentáló hiponatrémias közegben vizsgáltuk, ahogyan látható az extracelluláris tér $[Na^+]$ -ja jelentősen eltért a homeosztatikustól (142 mM). A kezelések 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80 és 90 perces időpontjaiban mintákat vettünk a felülúszó mediumból, melyeket $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on a mérésig tároltuk. Az összegyűjtött mintákból a PRL-t radioimmunoassay (RIA), az ACTH-t immuno-chemiluminescence assay (LIA) módszerekkel határoztunk meg.

A mintákból a PRL meghatározást dolgozat alapjául szolgáló közleményben leírtak szerint végeztük. [20] A PRL RIA érzékenysége 0,07 ng/assay cső volt. Az intra- és interassay variáció $0,92 \pm 0,03$ ng volt, az adatokat ng PRL/ mg protein-ben adtuk meg.

Az ACTH meghatározása az SZTE ÁOK I. sz. Belgyógyászati Klinika Endokrinológiai Osztály mérőberendezésével (Immulite 2000, Siemens Healthcare Diagnostic, Deerfield, IL, USA, és DPC kit /L2KAC-02, Euro DPC Ltd., Glyn Rhonwy, Egyesült Királyság/) történt. Az adatokat pg ACTH/ mg protein dimenziókban adtuk meg.

A minták fehérjetartalmát módosított Lowry-módszerrel [20] és Pierce BCA Protein Assay Kit (Thermo Fisher Scientific Inc., Rockford, USA) segítségével határoztuk meg.

III.3. Statisztikai elemzés

A különböző $[Na^+]$ kezelések normál adenohipofízisre és prolaktinómás adenohipofízisre gyakorolt hatásainak matematikai elemzéséhez ismételt méréses ANOVA módszert használtunk: normál AdH és PRLoma ACTH szekréció, valamint normál AdH és PRLoma PRL release vonatkozásában. A statisztikai próbák eredményeként a szignifikáns különbséget $p < 0,05$ esetében fogadtuk el.

III.4. Bibliográfiai feltárás

A hiteles és referált szakirodalmak adatbázisai a PubMed, Web of Science, Google Scholar voltak, amelyekben kulcsszavak mentén válogattuk ki a megfelelő szakirodalmakat. A kulcsszavak: rendszer, környezet, endokrin rendszer, izoionia, PRL, ACTH, PRLoma, hiponatrémia voltak.

IV. Eredmények

IV.1. A kontrollrendszer beállítása

Célkitűzéseink szerint az extracelluláris ionmilieu változásával követhető hormon-release karakterisztikákat mutatjuk be. A sejt kultúrák standardizálásával megállapítottuk, hogy az ACTH pozitív sejtek aránya AdH sejt kultúrák esetében 15,81 %, az *in vivo* ösztrolon-acetáttal előkezelt patkányok adenohipofíziséből készített primér, monolayer sejt kultúrákban 18,43 % volt. A PRL pozitív sejtek aránya AdH-ban 24,0 %, PRLoma-ban 52,2 % volt.

Az *in vitro* kísérleti protokoll rendszer vizsgálatával nyert eredményeket, illetve a statisztikai különbségeket a kezeletlen normál AdH és a kezeletlen PRLma kontrollokhoz viszonyítva adtuk meg. A kontroll csoport adatait a következő táblázatokban tüntettük fel (2.-3. táblázat), majd a hiponatrémias kezelések hormonkinetikáit, a különböző időintervallumokban, és kezelési dózisokban a 6.-9. ábrákon tüntettük fel. A szignifikancia szintet a kontroll csoporthoz viszonyítva állapítottuk meg, ahol „a” értéke: $p < 0,05$ volt. Ha önkontrollos rendszerben vizsgáljuk a hormonelválasztást, akkor a mértéke szignifikáns különbségeket mutat, igazolva azt, hogy a modellrendszer működőképes, „b”: szignifikancia és $p < 0,05$ (2.-3. táblázat).

Egészséges AdH ACTH release (pg ACTH/mg protein)									
t (min)	10 min	20 min	30 min	40 min	50 min	60 min	70 min	80 min	90 min
release	997±22 ^b	979±3 ^b	1012±19 ^b	1267±18 ^b	1410±26 ^b	1712±21 ^b	1747±31 ^b	1751±29 ^b	1749±27 ^b
PRLoma ACTH release (pg ACTH/mg protein)									
t (min)	10 min	20 min	30 min	40 min	50 min	60 min	70 min	80 min	90 min
release	429±17 ^b	527±22 ^b	719±30 ^b	1127±32 ^b	1650±35 ^b	1892±40 ^b	2009±32 ^b	2076±41 ^b	2082±40 ^b

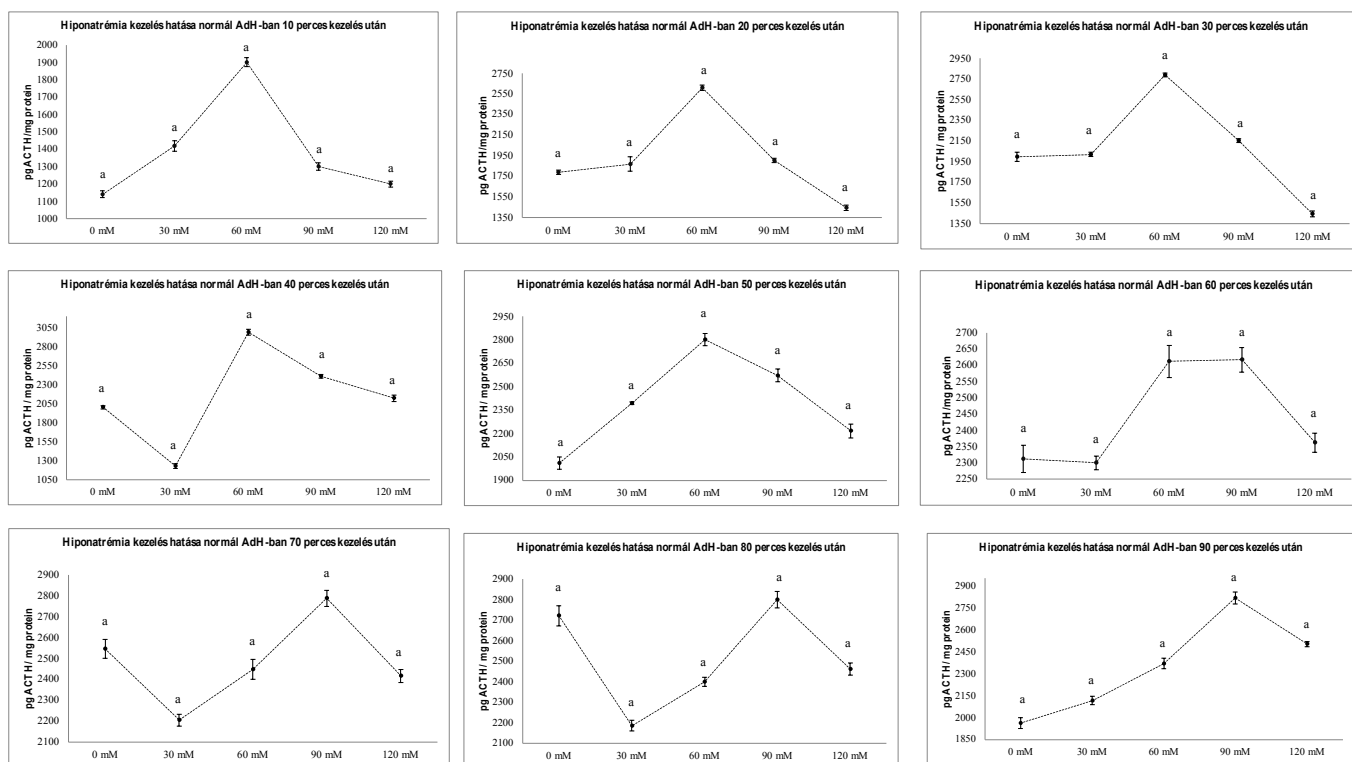
2. Táblázat: A kezeletlen AdH, PRLoma kontroll csoport ACTH elválasztása (pg ACTH/mg protein, átlag±szórás, n=5, b: $p < 0,05$)

Egészséges AdH PRL release (ng PRL/mg protein)									
t (min)	10 min	20 min	30 min	40 min	50 min	60 min	70 min	80 min	90 min
release	7,21±0,12 ^b	10,13±0,07 ^b	13,21±0,12 ^b	15,61±0,21 ^b	17,42±0,28 ^b	17,88±0,23 ^b	18,01±0,19 ^b	18,21±0,16 ^b	19,92±0,13 ^b
PRLoma PRL release (ng PRL/mg protein)									
t (min)	10 min	20 min	30 min	40 min	50 min	60 min	70 min	80 min	90 min
release	3,79±0,05 ^b	6,96±0,07 ^b	11,44±0,15 ^b	18,86±0,16 ^b	20,16±0,21 ^b	29,62±0,22 ^b	31,24±0,34 ^b	38,51±0,44 ^b	49,67±0,41 ^b

3. Táblázat: A kezeletlen AdH, PRLoma kontroll csoport PRL elválasztása (ng PRL/mg protein, átlag±szórás, n=5, b: $p < 0,05$)

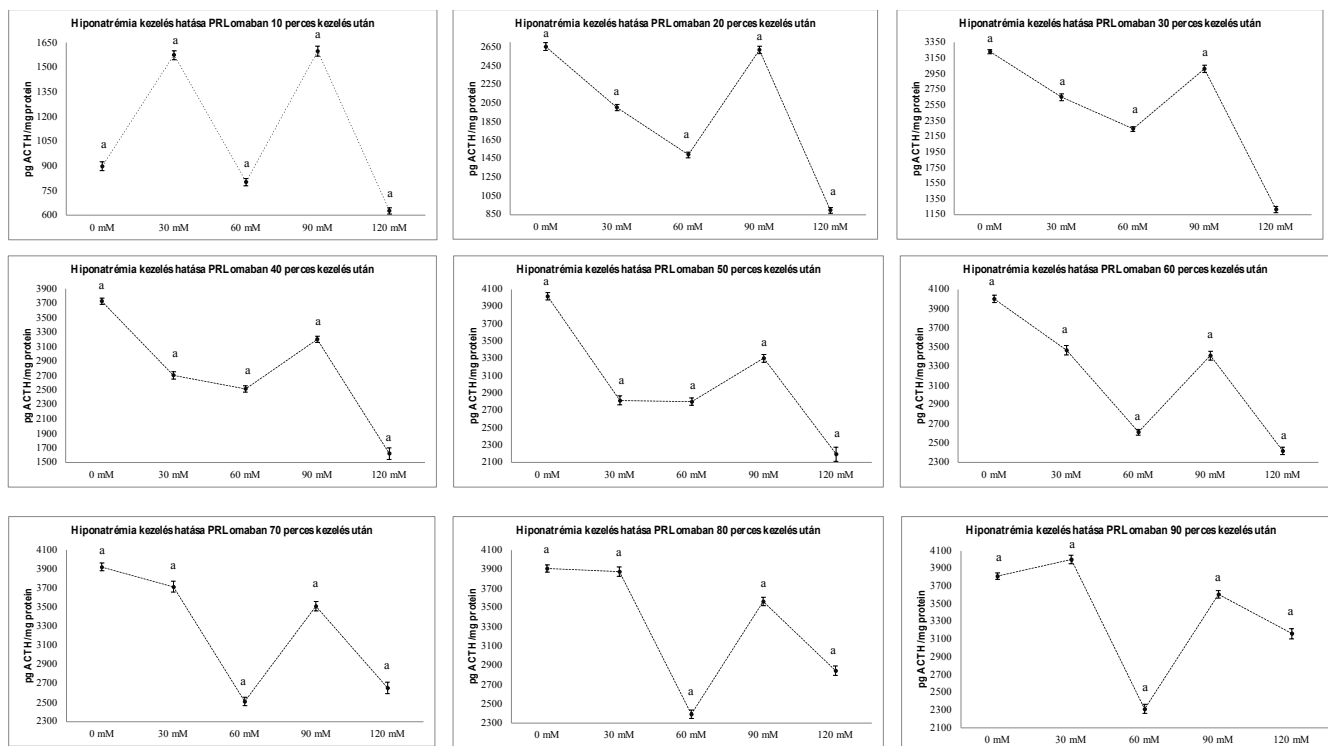
IV.2. A hiponatrémia hatása az ACTH elválasztásra egészséges adenohipofízisben és prolaktinómás adenohipofízisben

A következő eredményábrákon a hiponatrémia hatásait ábrázoltuk a különböző modellrendszereken. A szignifikancia szintet a kontroll csoportok hormonelválasztásához viszonyítva (2.-3. táblázat) adtuk meg.



6. Ábra: Hiponatrémia hatása ACTH release-re normál AdH sejtkultúrákban (n=5, átlag±szórás, a: p<0,05)

Az egészséges AdH hormonelválasztásához képest, az ACTH hormonelválasztása minden vizsgálati időmomentumban szignifikánsan emelkedett, a különböző hiponatrémiás kezelések eredményeképpen. Ha az időkinetikát vizsgáljuk, és a kezelések hatásait, akkor a sejtek aktivitási állapotától függő, hullámzó kinetikát tapasztalunk. Az idő függvényében 0 mM-os és 30 mM-os kezelések eredményeztek jelentős hormoncsökkenést. A legmagasabb mértékű hormonelválasztási dinamika a 60 mM-os és 90 mM-os kezelések után volt észlelhető. 120 mM-os Na⁺ kezelés az ACTH hormonrelease értéke a kezelések alatt, az idő függvényében jelentősen csökkent.

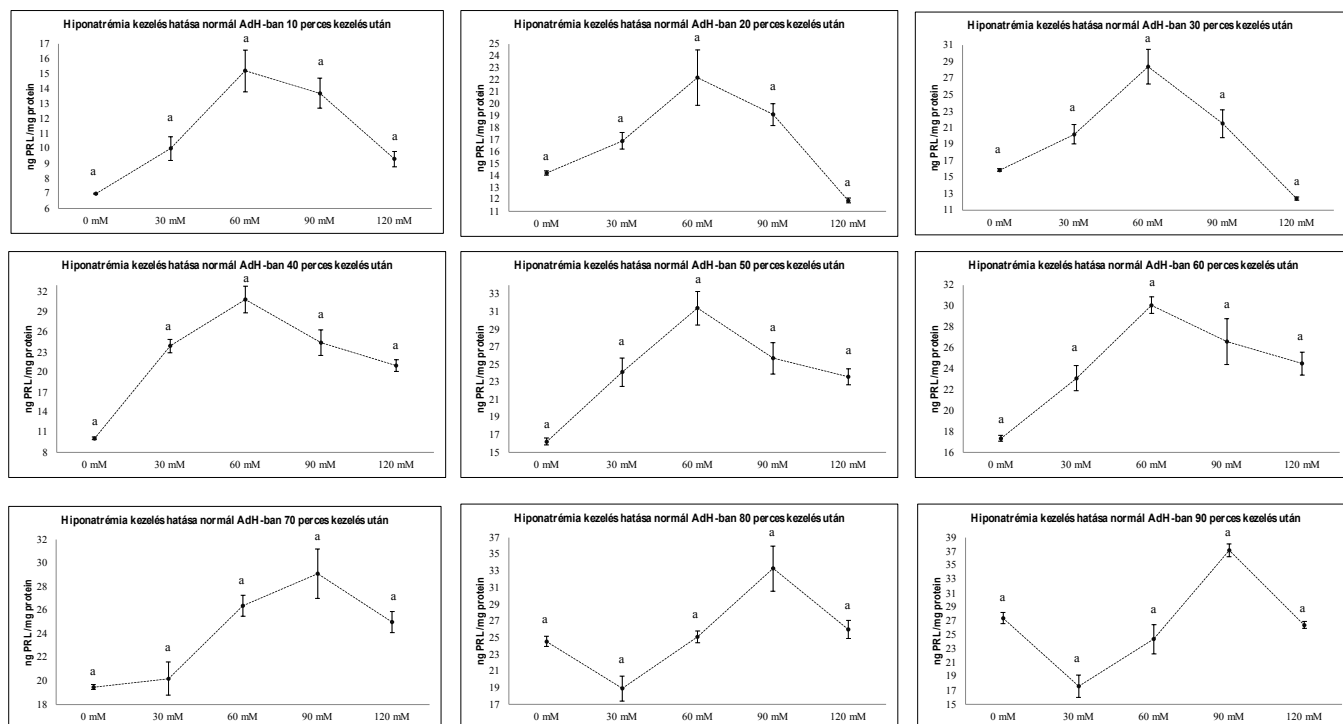


7. Ábra: Hiponatrémia hatása ACTH release-re PRLoma sejtkultúrákban (n=5, átlag±szórás, a: p<0,05)

A 7. ábra az ACTH hormonkinetikát jeleníti meg különböző Na⁺-koncentrációk esetében PRLoma sejtkultúrákon. A transzformált sejtpopuláció karakteresebb hormonkinetikát mutat. Jól észlelhető, hogy a kontroll csoport értékeivel összevetve is, hogy már a 0 mM-os kezelés is dominánsan megemelte a PRL release-t, az érték az idő függvényében is emelkedő értékeket mutat. 10 min eltelté után a 30 mM-os kezelés megemelte, majd a 60 mM-os kezelés csökkentette, majd a 90 mM-os kezelés ismét megemelte, 120 mM-os Na⁺ kezelés pedig csökkentette a PRLoma kultúrák PRL elválasztását (10 min-es kezelés). Ez a karakterisztika megbomlik a mintavételi időpontokban, ugyanis 60 mM-os kezelés eredményképpen csökkenő, majd 90 mM-os kezelés eredményképpen növekvő kinetikát tapasztalunk (20, 30, 40, 60, 70, 80, 90 min eltelté után). A 120 mM-os Na⁺ kezelés a vizsgálati időpontokban csökkentette a hormonelválasztást.

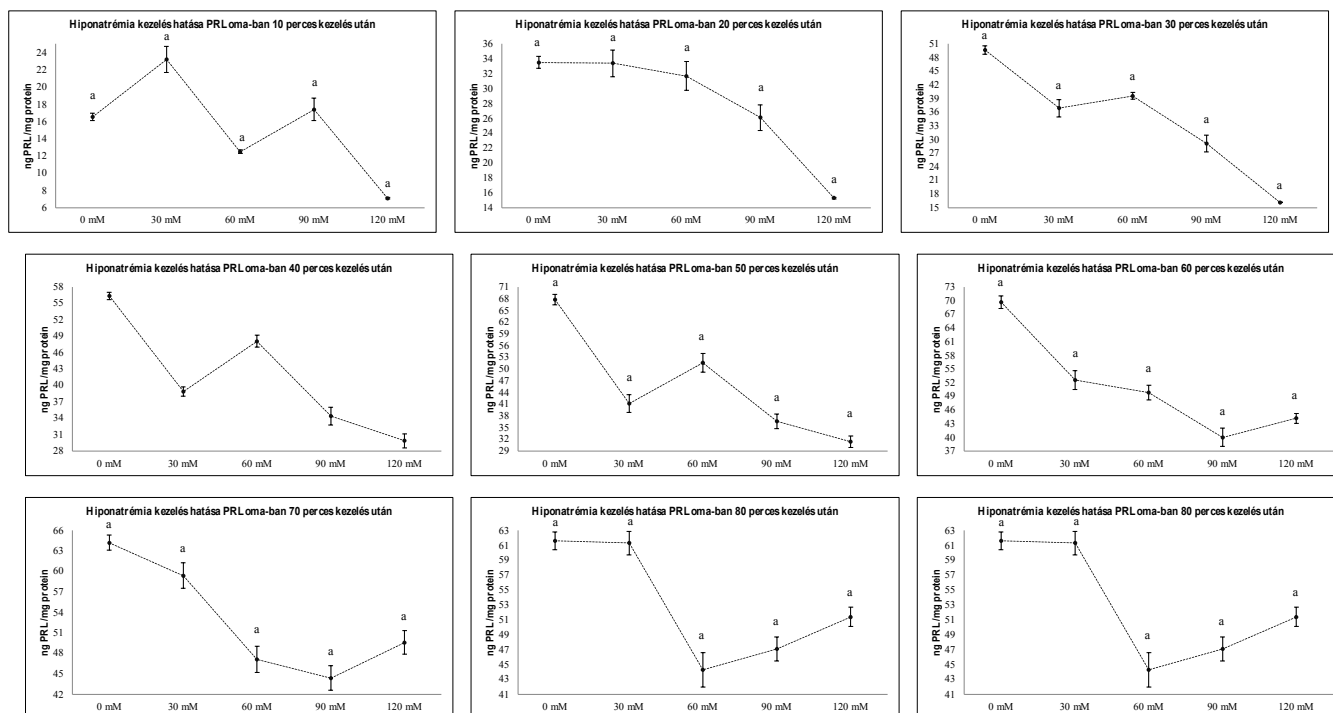
IV.3. A hiponatrémia hatása a PRL elválasztásra egészséges adenohipofízisben és prolaktinómás adenohipofízisben

A következőkben a hiponatrémia PRL release-re gyakorolt hatását prezentáltuk normál és PRLoma modellrendszerekben. A szignifikanciaszintet szintén a kontroll (kezeletlen csoport) vonatkozásában állapítottuk meg.



8. Ábra: Hiponatrémia hatása PRL release-re AdH sejtkultúrákban (n=5, átlag±szórás, a: p<0,05)

A 8. ábra adataiból jól észlelhető, hogy a kontroll csoport eredményeihez képest a PRL elválasztás az AdH rendszerekben szignifikánsan változott. 10 perces kezelés eredményeképpen a 0 mM-os rendszerben volt a legalacsonyabb a PRL elválasztás. A 60. percig a 60 mM-os kezelés fokozta a PRL hormon elválasztását, majd a 70. percben a PRL elválasztás fokozódott, majd időkinetikusan csökkent értéket detektáltunk a minden vizsgálati végpontban a 120 mM-os kezelés eredményeképpen.



9. Ábra: Hiponatrémia hatása PRL release-re PRLoma sejt kultúrákban (n=5, átlag±szórás, a: p<0,05)

A 9. ábra demontsrálja a hiponatrémia hatásait a PRLoma sejt kultúrák vonatkozásában. A hormonkinetikai változások karakteresebb mintázatot rajzolnak ki. 0 mM-os kezelés minden vizsgálati végpontban karakteresen fokozta a PRL elválasztását a sejt kultúrákban. 10 min elteltével a 30 mM-os kezelés hatására fokozott hormonrelease volt detektálható, majd, ahogyan az eredményábra mutatja is a különböző Na⁺ koncentrációk az idő függvényében csökkenő PRL elválasztást indukáltak, azonban a kontroll csoporthoz viszonyítva még így is szignifikáns emelkedés volt észlelhető.

V. Megbeszélés, következtetés

Jelen munka a rendszerszemlélet tükrében igyekezett összefüggéseket bemutatni a környezet és a rendszer, valamint az azok közötti kapcsolatok vonatkozásában. Komplex rendszer alatt olyan rendszereket értünk, amelyekben szervesen kapcsolódó elemeket találunk, közöttük ok-okozati függvények valósítják meg a rendszer alkalmazkodását. [21] Az elemek logikai kapcsolatok révén alrendszereket hoznak létre, így a komplexitás meghatározói lesznek. [22] Az alkotóelemeknek környezettől kapott bemenetei és kimenetei vannak, ezáltal egyensúlytartásra lesz képes a környezetével. A biológiai rendszerek, így pl. az endokrin rendszer is olyan kapcsolathálózatokat alakított ki, amelyek egymással kölcsönösen összefüggő elemek totális halmazaként jelenik meg. [23] Ebben a rendszerben különböző endokrin mirigyeket találunk, amelyek hormonokat termelnek és a véráramba juttatják azokat. Ezek a hormonok távoli szervekre vagy szövetekre hatnak, és szabályozzák a test különböző funkcióit és folyamatait, illetve a visszacsatolás révén önmaguk szabályozását is koordinálják. [24] A szervezet belső egyensúlyának fenntartása számos egymással működő rendszerrel képezhető le. A homeosztázis fenntartásában az izoionia nagy jelentőséggel bír, amelyre munkámban is fókuszáltam. Az agyalapi mirigy elülső lebenye számos hormont termel. Dolgozatomban a PRL, valamint az ACTH hormonok biokémiáját és élettani jelentőségét prezentáltam. [5, 6] A PRL a laktotróf sejtek által termelt peptidhormon. [10] A PRL legfőbb élettani hatása az emlőmirigyek normális kifejlődésének segítése, szerepet játszik a laktáció kiváltásában és fenntartásában nőknél. Emellett szerepet játszik a férfiak reprodukív rendszerének működésében is, de számos viselkedést szabályoz, valamint a homeosztázis fenntartásában is részt vesz. Az ACTH a kortikotróp sejtekben keletkező polipeptid. [11] Az ACTH elsődleges szerepe a mellékvesekéreg szteroidogenezisének fokozásában nyilvánul meg, azonban az acetilkolin felszabadulásában, különböző viselkedési mintázatokban, stressz reakciókban, a tanulásban, a memóriában, az anyagcserében és a gyulladásos folyamatok szabályozásában is kimutatott a szerepe. A prolaktinomák olyan jóindulatú daganatok, amelyek a hipofízisben alakulnak ki, és túlzott PRL termelést okoznak. [18, 19, 20] Ezek befolyásolhatják a PRL szintjét és a hormon normális szabályozását, ami különböző tüneteket okozhat, például menstruációs rendellenességeket nőknél és merevedési zavarokat férfiaknál. Az extracelluláris környezet a sejteket körülvevő tér vagy közeg, amely a sejtek közötti kommunikáció és anyagcsere folyamatok helyszíne. [25] Az extracelluláris környezet jellemzői befolyásolják a sejtek működését és a szövetek egészének homeosztázisát. Jelen munkában megvizsgáltuk a Na^+ koncentráció változását az extracelluláris környezetben,

valamint megvizsgáltuk a hiponatrémia hatásait egészséges adenohipofízis és transzformált, prolaktinómás adenohipofízis PRL és ACTH hormonelválasztására.

Az extracelluláris ionmilleu, mint környezeti feltétel determinisztikus hatással rendelkezik a vele kapcsolatban álló sejtekkel. Jelen vizsgálatban transzformált PRLoma és egészséges adenohipofízis sejtekből készült *in vitro* vizsgálatokkal mindezt igazoltuk is. A környezet olyan szignálokat generál, amelyek a vele kölcsönhatásban álló rendszerelmek viselkedését is megváltoztatják. A kísérletek során indukált PRLoma kiváltását azért választottuk vizsgálati modellnek, mert a humán populációban is igen nagy incidencia arányban fordulnak elő ezen laktotróp adenomák. [27] Az ACTH egy stresszhormon, amely a különböző fizikai, kémiai és biológiai stresszorokra is válaszként magasabb mértékben szekretált, így vizsgálata indokolt lehet, ugyanis a PRLoma társulhat egyéb problémakörökkel is, főleg azért, mert a kortikotróp sejtek is érzékenyen reagálnak az ösztrogén mimikus ágensekre. [27] Két olyan hormon került tehát a vizsgálataink fókuszpontjába, amelyek az individuuum alkalmazkodását elősegítik. Ha a kontroll csoport értékeit nézzük, akkor elmondható, hogy működőképes *in vivo* előkezelt, majd *in vitro* elemzett modellrendszert sikerült kialakítanunk, mind a normál AdH és PRLoma rendszerek esetében az ACTH és PRL hormon elválasztásának viszonyrendszerében (2. táblázat, 3. táblázat). A sejttenyészetek emelkedő hormonelválasztását tapasztaltuk az idő függvényében, ez a kinetika emelkedő tendenciát mutatott. Érdekes tény az is, hogy mindkét hormon elválasztásában kezdetben (30 min-ig) az AdH kultúrák fokozottabb hormonelválasztással reagáltak, azonban 30 min eltelte után a PRLoma kultúrák felülúszó médiumából detektáltunk magasabb hormonelválasztást. Ezt okozhatja az, hogy az ösztion-acetát indukció eredményeképpen transzformált sejtek alakultak ki. Azonban, amikor Na^+ deprivációt hajtottunk végre (a Tyrode-médium beállításával), akkor a hormonelválasztási kinetikák már nem követtek ilyen egyenletes dinamikát (6.-9. ábra). Mivel a Na^+ olyan esszenciális monovalens kation, amely kulcsszerepet játszik a Na^+/K^+ ionpumpa mechanizmusban, akciós potenciál generálásban. Ezen potenciál jelenti a sejtek számára azt az energiapotenciált, amellyel a hormontartalmú vezikulák exocitózisa megvalósulhat, hiszen az akciós potenciál hatására a feszültség vezérelt ioncsatornák megnyílnak [28], és a Na^+ -ok az intracelluláris térbe kerülnek. A belső tér polarizáltasága ezáltal pozitívabb lesz, ezt tekintjük depolarizációnak [29], amely serkentő potenciálban nyilvánul meg. Az alacsonyabb Na^+ -koncentrációjú médium olyan alkalmazkodási mintázatokra kényszerítette a sejteket, hogy alacsonyabb hormonexocitózist valósítsanak meg. Az idő függvényében, a kísérlet előrehaladtával, azonban a sejtkompenzációs mechanizmusoknak köszönhetően magasabb hormonszinteket detektáltunk, mind a PRL, mind az ACTH hormon vonatkozásában. A

transzformált sejtpopulációk sokkal érzékenyebb módon reagáltak. A hiponatrémia azért is érdekes, mert számos tumor környezetében alakulhatnak ki hipoionias körülmények, melyek az alkalmazkodási mintázatokat determinisztikusan meghatározzák. [20, 30]

Összességében megállapítható tehát, hogy olyan modellrendszer kialakítását sikerült megvalósítanunk, amelyben az egészséges és megváltozott működésű endokrin rendszer tanulmányozható. Az AdH és PRLoma modellekben a hormonexocitózis változások jól nyomon követhetőek különböző extracelluláris Na^+ koncentrációk változásának köszönhetően. A hiponatrémia által indukált hormonelválasztási kinetikák jól detektálhatóak Adh és PRLoma modellekben egyaránt.

VI. Felhasznált szakirodalom

- [1] Csermely Péter. A rejtett hálózatok ereje. Vince Kiadó, Budapest, 2005, ISBN: 963955264X
- [2] Goldstein DS. How does homeostasis happen? Integrative physiological, systems biological, and evolutionary perspectives. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2019; 316(4): R301-R317. doi: 10.1152/ajpregu.00396.2018.
- [3] Barabasi AL, Albert R. Emergence of scaling in random networks. *Science*. 1999; 286(5439): 509-12. doi: 10.1126/science.286.5439.509.
- [4] Daniel PM. Anatomy of the hypothalamus and pituitary gland. *J Clin Pathol Suppl (Assoc Clin Pathol)*. 1976; 7: 1-7. doi: 10.1136/jcp.s1-7.1.1.
- [5] Epelbaum J, Terrien J. Mini-review: Aging of the neuroendocrine system: Insights from nonhuman primate models. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2020; 100: 109854. doi: <https://10.1016/j.pnpbp.2019.109854>.
- [6] Fonyó Attila. Az orvosi élettan tankönyve. Medicina Könyvkiadó Zrt., Budapest, 2011, ISBN: 978-963-226-344-1
- [7] Ambach G, Palkovits M. Blood supply of the rat hypothalamus. V. The medial hypothalamus (nucleus ventromedialis, nucleus dorsomedialis, nucleus perifornicalis). *Acta Morphol Acad Sci Hung*. 1977; 25(4): 259-78.
- [8] Kun Imre Zoltán. Klinikai endocrinologia. Erdélyi Múzeum-Egyesület, 2000. pp: 6-125., <https://mek.oszk.hu/02700/02775/> (letöltés dátuma: 2023. június 21.)
- [9] McLachlan RS. A brief review of the anatomy and physiology of the limbic system. *Can J Neurol Sci*. 2009; 36 Suppl 2:S84-7.
- [10] Freeman ME, Kanyicska B, Lerant A, Nagy G. Prolactin: structure, function, and regulation of secretion. *Physiol Rev*. 2000; 80(4): 1523-631. doi: 10.1152/physrev.2000.80.4.1523.
- [11] Duque-Díaz E, Alvarez-Ojeda O, Coveñas R. Enkephalins and ACTH in the mammalian nervous system. *Vitam Horm*. 2019; 111: 147-193. doi: 10.1016/bs.vh.2019.05.001.
- [12] Danziger J, Zeidel ML. Osmotic homeostasis. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2015; 10(5): 852-62. doi: 10.2215/CJN.10741013.
- [13] Agócs RI, Sugár D, Pap D, Szabó AJ. A nátrium immunmoduláns szerepe [The immunomodulatory role of sodium]. *Orv Hetil*. 2019; 160(17): 646-653. Hungarian. doi: 10.1556/650.2019.31292.
- [14] Melmed S, Casanueva FF, Hoffman AR, Kleinberg DL, Montori VM, Schlechte JA, Wass JA; Endocrine Society. Diagnosis and treatment of hyperprolactinemia: an

- Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011; 96(2): 273-88. doi: 10.1210/jc.2010-1692.
- [15] Glezer A, Bronstein MD. Prolactinoma [Prolactinoma]. *Arq Bras Endocrinol Metabol.* 2014; 58(2): 118-23. Portuguese. doi: 10.1590/0004-2730000002961. PMID: 24830588.
- [16] Olefsky, J. M., Robbins, R. J. Prolactinomas. Churchill Livingstone, New York, 1986, pp: 67-95., ISBN: 0-443-08406-8
- [17] Ajmal N, Khan SZ, Shaikh R. Polycystic ovary syndrome (PCOS) and genetic predisposition: A review article. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol X.* 2019; 3: 100060. doi: 10.1016/j.eurox.2019.100060.
- [18] Wildemberg LE, Fialho C, Gadelha MR. Prolactinomas. *Presse Med.* 2021; 50(4): 104080. doi: 10.1016/j.lpm.2021.104080.
- [19] Daly AF, Beckers A. The Epidemiology of Pituitary Adenomas. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2020; 49(3): 347-355. doi: 10.1016/j.ecl.2020.04.002.
- [20] Molnár Z, Pálföldi R, László A, Radács M, László M, Hausinger P, Tizslavicz L, Rázga Z, Valkusz Z, Gálfi M. The effects of hypokalaemia on the hormone exocytosis in adenohypophysis and prolactinoma cell culture model systems. *Exp Clin Endocrinol Diabetes.* 2014; 122(10): 575-81. doi: 10.1055/s-0034-1383580.
- [21] Vermeulen R, Schymanski EL, Barabási AL, Miller GW. The exposome and health: Where chemistry meets biology. *Science.* 2020; 367(6476): 392-396. doi: 10.1126/science.aay3164.
- [22] Barabási AL, Gulbahce N, Loscalzo J. Network medicine: a network-based approach to human disease. *Nat Rev Genet.* 2011; 12(1): 56-68. doi: 10.1038/nrg2918.
- [23] Johnstone C, Hendry C, Farley A, McLafferty E. Endocrine system: part 1. *Nurs Stand.* 2014; 28(38): 42-9. doi: 10.7748/ns.28.38.42.e7471.
- [24] Tsang AH, Astiz M, Friedrichs M, Oster H. Endocrine regulation of circadian physiology. *J Endocrinol.* 2016; 230(1): R1-R11. doi: 10.1530/JOE-16-0051.
- [25] Deitmer JW, Rose CR. Ion changes and signalling in perisynaptic glia. *Brain Res Rev.* 2010; 63(1-2): 113-29. doi: 10.1016/j.brainresrev.
- [26] Molitch ME. Diagnosis and Treatment of Pituitary Adenomas: A Review. *JAMA.* 2017; 317(5): 516-524. doi: 10.1001/jama.2016.19699.
- [27] Mitchner NA, Garlick C, Ben-Jonathan N. Cellular distribution and gene regulation of estrogen receptors alpha and beta in the rat pituitary gland. *Endocrinology.* 1998; 139(9): 3976-83. doi: 10.1210/endo.139.9.6181.

- [28] Furini S, Domene C. K^{+} and Na^{+} conduction in selective and nonselective ion channels via molecular dynamics simulations. *Biophys J*. 2013; 105(8): 1737-45. doi: 10.1016/j.bpj.2013.08.049.
- [29] Kellenberger S, Schild L. International Union of Basic and Clinical Pharmacology. XCI. structure, function, and pharmacology of acid-sensing ion channels and the epithelial Na^{+} channel. *Pharmacol Rev*. 2015; 67(1): 1-35. doi: 10.1124/pr.114.009225.
- [30] Junttila MR, de Sauvage FJ. Influence of tumour micro-environment heterogeneity on therapeutic response. *Nature*. 2013; 501(7467): 346-54. doi: 10.1038/nature12626.

VII. Köszönetnyilvánítás

Ezúton köszönetet szeretnék mondani témavezetőimnek, Dr. Molnár Zsolt Tanár Úrnak és Dr. habil. Gálfi Márta Tanárnőnek a segítségükért és támogatásukért. Szeretném megköszönni továbbá a SZTE JGYPK Környezet-toxikológiai Kutatóműhely munkatársainak a szakmai segítséget.

Szeretném megköszönni családomnak, hogy tanulmányaim során mindvégig mellettem álltak és biztattak, valamint mindazoknak, akik valamilyen módon segítettek munkámat, hozzájárultak sikeréhez.

VIII. Plágiumnyilatkozat

Alulírott, Cseszkó Edina, osztatlan biológia-természetismeret-környezettan szakos hallgató, kijelentem, hogy a TDK dolgozatban ismertettek saját munkám eredményei, és minden felhasznált nem saját munkából származó eredmény esetén hivatkozással jelöltem annak forrását.

Szeged, 2023. november 6.

Cseszkó Edina

IX. Tételes szerzői nyilatkozat

A 37. OTDK BIOLOGIA SEKCIÓ FELHÍVÁSÁNAK 2. SZÁMÚ MELLÉKLETE

TÉTELES SZERZŐI HOZZÁJÁRULÁS

Alulírott **Cseszkó Edina** nyilatkozom, hogy a 37. OTDK-ra benyújtott **A hiponatrémia hatásai egészséges és transzformált adenohipofízis esetében** című pályamunkámban leírtak esetében az alábbi munkafolyamatok elvégzésében vettem részt¹:

Részfeladat ²	A részvétel mértéke (ötfokozatú skálán ² jellemezve)
A nőstény Wistar patkányok szubkután kezelése ösztrol-acetáttal, a Módszerekben bemutatott etikai engedély alapján	3
A Tyrode médiumok elkészítése, sterilen tartása,	4
Az adenohipofízis sejt kultúrák viabilitás kontrollja, fenntartása a vizsgálati periódus alatt	5
A sejt kultúrák felülűszo médiumából a prolaktin meghatározás RIA módszer segítségével	3
Az adatok statisztikai feldolgozása	2
A mérésekből származó adatok rendszerezése, ábrák készítése	4
Szakirodalmi feltárás	4

Kelt: Szeged, 2024. 05. 01.

(Kérjük a dőlttel jelölt részeket értelemszerűen cserélnék, módosítsák).


Pályamunkát benyújtó hallgató (Cseszkó Edina)
aláírása



A nyilatkozatban foglaltak helyességét megerősítem:


Témavezető (Dr. Molnár Zsolt, SZTE JGYPK, AEKNI, Környezet-biológia és Környezeti Nevelés
Tanszék)
aláírása

¹ A kutatási projekt azon részfadatait, amelyekben egyáltalán nem vett részt, ne tüntesse fel a listában.

² Az alábbi lista mintául szolgál, szabadon módosítható, bővíthető.

#Magyarázat:

A munkafolyamatokban való részvétel mértékét ötfokozatú skálán kérjük értékelni. A skála egyes értékeinek jelentése:

5 – Felkészítés után a feladat teljes egészét önállóan végeztem a pályamunkához szükséges mennyiségben.

4 – Felkészítés után a feladat több mint felét önállóan végeztem a pályamunkához szükséges mennyiségben.

3 – Felkészítés után a részfeladat felét önállóan végeztem a pályamunkához szükséges mennyiségben.

2 – Felkészítés után a részfeladat kevesebb mint felét önállóan végeztem a pályamunkához szükséges mennyiségben.

1 – A részfeladatot folyamatos segítséggel végeztem a pályamunkához szükséges mennyiségben.