

Ph.D. értekezés tézisei

**AZ OPIOID - ÖSZTRADIOIOL KÖLCSÖNHATÁS
RECEPTORIÁLIS SZINTŰ MECHANIZMUSAI**

Dr. Oszter Angéla

Programvezető: Dr. Lénárd László

Témavezető: Dr. Vértes Marietta

**Pécsi Tudományegyetem
Általános Orvostudományi Kar
Élettani Intézet**

Pécs, 2001.

Bevezetés

Az ösztrogén reprodukcióban betöltött szerepéről számos irodalmi adat áll rendelkezésre. Az ösztrogén meghatározó tényező a női nemi szervek fejlődésének, növekedésének, életani működésének irányításában. Az uterusban a sejtiprolifráció egyik fő stimulátora. Emellett a centrális gonádtregulációs folyamatokban is kiemelkedő szerepe van.

Az ösztrogének a szexuálszteroid hormonok csoportjába tartoznak. Hatásukat intracelluláris receptorok közvetítésével fejtik ki, melyek a hormont sztereospecifikusan, nagy affinitással és kis kapacitással kötik. Jelenleg két fajta ösztrogén receptort (ER), a klasszikus u.n. ERalpha-t és az újonnan felfedezett ERbeta-t ismerjük. Az ER a ligand aktivált transzkripció faktorok családjába tartozik. Az ER-ok aktivációt követően a magban dimer formában kapcsolódnak a DNS ösztrogén-válaszadó-szakaszához (estrogen-responsive-element, ERE), ahol transzkripció hatást fejtenek ki. Az ER-ok a klasszikus, specifikus ERE-n keresztüli kifejtett transzkripció hatásuk mellett alternatív úton is befolyásolhatják a géneexpressziót. Újabb kísérletek azt igazolták, hogy az ösztrogének általános transzkripció faktorok, így pl. az AP-1 család közvetítésével is hatnak nem ösztrogén-specifikus gének átírását befolyásolva.

Az ösztrogén által létrehozott biológiai válaszok rendkívül sokrétűek, amely a hatásmechanizmus szövet specifikus voltának köszönhető. A hatás a célsejt választéksétségétől függ, melyet alapvetően meghatároz a sejtben található ER-ok jelenléte és ezek hormonoktól függetlenségük, de emellett számos egyéb lokális faktor, hormon játszik szerepet az ösztrogén-indukált hatások kialakulásában. Az utóbbi évek vizsgálata szerint az ER, mint ligand-aktivált transzkripció faktor és különböző növekedési faktorok, ciklinek, neurotranszmitterek hatásában intracelluláris szinten pártbeszéd van, és így az ösztrogén hatásra kialakuló biológiai válasz a célsejt aktuális állapotától függ, amelyet az adott szövetre jellemző parakrin tényezők összességé határoz meg.

Az endogén opioid peptidok klasszikus, fájdalomcsillapításban betöltött szerepét számos irodalmi adat alátámasztja. Az utóbbi évtizedek vizsgálatai rávilágítottak arra, hogy az opioid peptidok számos endokrin folyamat, így a gonádműködés szabályozásában is szerepet játszanak. Az opioid peptidok és receptoraik megtalálhatók a hím és nőstény patkányok gonádtregulációt felelős hipotalamikus területein és az uterusban. Az opioid peptidok hatásukat membránreceptorok (G-proteinek) közvetítésével fejtik ki. Az utóbbi időben előtérbe került az endogén opioid peptidok transzkripció hatásának vizsgálata is. Kimutatták,

hogy az opioid peptidok a c-AMF-függő jelátviteli utak mellett transzkripciós faktorok működését is befolyásolják.

Korábbi, laboratóriummunkában végzett vizsgálataink kimutatták, hogy D-Met³-Pro⁵-enkephalinamid (ENK), szintetikus opioid agonista peptid, in vivo gátolja a DNS szintézist és a sejtproliferációt a fejlődés alatt patakány agyban, hipotalamuszban és uteruszban, valamint ivartartott korban az ösztrogén-indukált sejtproliferációt az uteruszban.

A fenti adatok egyértelműen arra utalnak, hogy az opioid peptidok és a szexuális szteroidok között kölcsönhatás van, mely jelenősen befolyásolhatja az ösztrogén-érzékeny sejtek működését úgy a hipotalamuszban, mint az uteruszban.

Célkitűzések

Figyelembe véve az opioidok és a gonád hormonok szoros sejt-specifikus kölcsönhatását, valószínűsíthető, hogy az ösztrogén által kiváltott folyamatokban az opioid peptidok parakrin faktorként is szerepet játszanak.

Kísérleteink célja a laboratóriummunka eddigi eredményeire támaszkodva az endogén opioid peptidok és az ösztrogén hatásmechanizmusában megnyilvánuló intracelluláris kölcsönhatás vizsgálata volt. In vivo vizsgálatainkat patakányban egy centrális, a gonádtregulációban meghatározó szerepet játszó, non-proliferatív szövetben, a hipotalamuszban, és egy perifériás, proliferatív, ösztrogén-érzékeny szövetben, az uteruszban végeztük.

Vizsgálataink során az alábbi célokat tűztük ki magunk elé:

1. Az opioid-ösztrogén (E2) kölcsönhatás receptorális mechanizmusának vizsgálata során választ kerestünk arra, hogy az endogén opioid peptidok hatással vannak-e a vizsgált szövetekben az ER rendszer működésére, ezen belül
a/ az ER és progesteron receptor (PR) fehérjék mennyiségére,
b/ az ER-k hormonokötési tulajdonságaira, ezen belül kötési kapacitására, affinitására és a ligand kötődés jellegére?
2. Napjainkban számos olyan adat áll rendelkezésünkre az AP-1 transzkripciós faktor irányított folyamatokról, melyek alapján feltételezhető, hogy az AP-1 faktor hormonális

hatások integrátora lehet. Ezek ismeretében választ kerestünk arra a kérdésre, hogy a vizsgált ösztrogén-érzékeny szövetekben van-e az endogén opioid peptidok és az ösztrogén hatásmechanizmusában nukleáris, transzkripciós szintű kölcsönhatás, különös tekintettel az AP-1 fehérjék által mediált folyamatokra, konkrétan az AP-1 fehérjék mennyiségére és azok aktivitására.

3. Mivel a fenti vizsgálatokat két alapvetően különböző jellegű, egy idegszövet eredetű, non-proliferatív és egy perifériás, ösztrogén-érzékeny, proliferatív szövetben végeztük, szükségesnek felmerült a kérdés, hogy az E2 - opioid interakcióban megfigyelhető-e sejt-specifitás.

4. A szexuális differenciálódás és érés során a hipotalamuszban a két nemből eltérő regulációs mechanizmusok alakulnak ki, melynek eredménye a perifériás nemi szervek him és női nemi jellegű működése. Ennek ismeretében vizsgálataink során választ kerestünk arra, hogy a hipotalamuszban az ösztrogén - opioid kölcsönhatás mutat-e eltérést nőstény és him állatokban, valamint mindkét szövet vonatkozásában a megfigyelt változások összefüggésbe hozhatók-e a szexuális érés folyamataival.

Módszerek

Anyagok

Hormonkötődési vizsgálatainkban 2-, 4-, 6-, 7-³H-ösztrogén (specifikus aktivitása 3,4 TBq/mmol, MTA, Budapest, Magyarország). A kezelése során használt D-Met³-Pro⁵-enkephalinamid, opioid agonista peptid analógot Dr. Bajusz Sándortól kaptuk (Gyógyszerkutató Intézet, Budapest, Magyarország).
Western blot vizsgálatainkban az ERalpha, ERbeta, c-Jun és c-Fos fehérjék kimutatására az Santa Cruz Biotechnology (CA, USA), a progesteron receptor (PR) fehérje detektálására ImmunoTech (Marseille, Franciaország) antitesteket használtunk.

Állatok és kezelési csoportok

Kísérleteinket CFY patakányokon végeztük. Vizsgálataink első részében 2 hónapos, ovariectomizált, nőstény állatokat használtunk. ENK kezeléseket alkalmaztunk, egyrészt kronikusan bőr alá illesztett oszmotikus minipumpa segítségével, amely állandó 5 µg/óra

dózisban bocsátotta ki az ENK-t 72 óra keresztül. A patkányokat 24, 48, 72 órával az ENK tartalmú minipumpa beültetését követően dekaptáltuk. A kontroll csoport állatainak fiziológias NaCl oldatot tartalmazó minipumpát implantáltunk. Minden állat a feldolgozás előtt 2 órával E2 injekciót kapott i.p. 10 µg/100g tt. adagban.

A vizsgálatok második részében i.p. injekcióban adtuk az ENK-t 100 µg/100g tt. dózisban az E2 injekció előtt 20 perccel, vagy önmagában. Ezekben a kísérletekben az állatokat 2 órával az E2 adása után dolgoztuk fel. Az ENK hatás specifikus voltát ópiát antagonista naltrexon (NAL) kezeléssel vizsgáltuk, melyet 20 perccel az ENK injekció előtt i.p. 100 µg/100g tt. dózisban alkalmaztunk.

Vizsgálataink harmadik csoportjában ivartelen 5, 14, 21 napos nőstény és hím patkányokon elemeztük az ENK kezelés hatását az E2 kiváltotta eseményekre. Ezekben a kísérletekben a második kísérleti csoportnál leírt kezelési sémát alkalmaztuk.

A feldolgozás során az állatok hipotalamuszát, és uteruszát elváoltottuk, a hipotalamusz ösztrogén-érzékeny területeit durva disszekciós technikával izoláltuk. Az így nyert szövetek tartalmazták az area preoptica, a hipotalamusz anterior-és basalis területeit, valamint az eminencia medianát. Kontrollként az állatok lépéből kivágot szövetmintákat használtunk.

Hormonkötődési vizsgálatok

Az állatok uteruszát és hipotalamuszának ösztrogén-érzékeny területeit összegyűjtöttük, majd durva sejtnagfrakciót izoláltunk, melyben a specifikus [³H]-ösztrodin kötődést in vitro "exchange" módszerrel határoztuk meg. A minták radioaktivitását Packard Tri-Carb 2100TR folyadék szcintillációs készülékkel detektáltuk. A specifikus radio-ligand kötődés paramétereit szaturációs non-lineáris regressziós analízissel határoztuk meg.

Az ERalpha, ERbeta, PR valamint a c-Jun és c-Fos fehérjék mennyiségének meghatározása

Az állatok uteruszát és hipotalamuszának ösztrogén-érzékeny területeit összegyűjtöttük, majd sejt összefehéje izolálást követően fehérje koncentráció mérést végeztünk (BioRad Protein Assay). A vizsgált fehérjék szintjét Western blot technikával analizáltuk. Az izolátumokból mintaként 50 µg fehérjét 10%-os SDS poliacrilamid géli elektroforézissel szeparáltuk. A fehérjéket nitrocellulóz membránra vittük félszáraz blotoló technikával (Trans-Blot SD, BioRad). A membránokat blokkolást követően, az adott első

antitestrel (antiERalpha, -beta, -PR, -c-Jun és -c-Fos) 1: 1000 higításban inkubáltuk. Az antigén-antitest reakciót tormaperoxidázzal konjugált antitestekkel hívjuk elő kemilumineszcencias módszer (ECL, Amersham) segítségével. A kapott csíkok erősségét denzitometriával határoztuk meg.

Az AP-1 transzkripció faktor aktiválásának meghatározása

Az AP-1-DNS kötődés mértékét magfehéje izolálást követően EMSA (electrophoretic mobility shift assay) technikával detektáltuk. Kísérleteinkben tranzin-promóter AP-1 köthelyét tartalmazó konszenzus oligonucleotid (5'-GCAATTATGAGTCAGTTGGC-3') próbát használtunk. Specifikitási vizsgálatainkban 100-szoros túlsúlyban jelölten vagy mutáns Zf268 köthelyet tartalmazó (5'-CAGACAGCGTGGGCTGTGGC-3') oligonucleotid szekvenciát használtunk. A DNS-fehéje komplexeket 5%-os nem-denaturáló poliacrilamid géleken szeparáltuk. A gélek radioaktivitását száritást követően Cyclone phosphor imagerrel (Bio-Rad) detektáltuk.

Statistika

Minden kísérletet legalább háromszor megismételtünk. Eredményeinket variancia analízist (ANOVA) követő Student-Newman-Keul's multiple range test segítségével elemeztük p < 0.05 szignifikancia szinteknél.

Eredmények

1/ Nőstény patkány ösztrogén-érzékeny szövetekben D-Me²-Pro⁵-enkephalinamid kezelés hatására az ER és PR mennyiségében, valamint az ER-ok hormonkötési tulajdonságában sejspecifikus változások figyelhetők meg. A hatás a kezelése után elhelt időtől függ.

Kísérleteinkben krónikusan ENK-dal implantált patkányokban 2 óras E2 kezelést követően vizsgáltuk a [³H]-ösztrodin kötődést, az ERalpha és -beta, valamint a PR fehérje szinteket. Az ösztrogén-érzékeny szövetekben az ENK implantáció időtartamától függő változásokat tapasztaltunk.

Nőstény patkányok hipotalamuszának ösztrogén-érzékeny területén 24 órával az ENK implantációt követően az alacsony affinitású E2 kötőhelyek száma és az ERbeta fehérje szintje megemelkedik, 48 órára csak az alacsony affinitású kötőhely mutatható ki. Ebben az időperiódusban az ERalpha és a PR proteinek mennyisége csökken, ugyanakkor az ERbeta a kontrollhoz képest magasabb szinten marad. 72 órával az ENK kezelés megkezdése után a receptor fehérje szintek visszatérnek a kontroll értékre, a [³H]-ösztradiol kötődésben csak a magas affinitású kötőhely mutatható ki.

Patkány uterusban 24 és 48 órával az ENK kezelés megkezdése után az ERalpha és a PR fehérje mennyisége csökken, ugyanakkor az ERbeta expresszióban nem történik változás. 72 órára az ERalpha és a PR szint visszatér a kontroll értékre, az ERbeta szint pedig megemelkedik. A kezelés hatására a [³H]-ösztradiol kötődésben minőségi és mennyiségi változások következnek be: 48 órával az ENK implantáció után a magas affinitású kötőhelyek száma csökken, 72 órára a hormon kötődés jellege megváltozik: a korábbi kompetitív kötődés pozitív kooperatívvá válik.

2./ Nőstény patkány ösztrogén-érzékeny szövetekben az ösztrogén és az ENK között szövetspecifikus transzkripciós szintű kölcsönhatás van.

Kísérleteinkben akut ENK kezelés hatásait vizsgáljuk az AP-1 fehérjék szintjére, valamint transzkripciós aktivitására E2-lal kezelt és kezeltlen patkányokban. A vizsgált szövetekben sejt-specifikus változásokat tapasztalunk.

Ivartértelt nőstény patkányok hipotalamuszának ösztrogén-érzékeny területein és uterusban az ösztrogén és az ENK külön-külön is, de egymással kölcsönhatásban is hatnak az AP-1-mediatált transzkripcióra, valamint a c-Fos és c-Jun proteinek expressziójára.

A hipotalamuszban az ENK kezelés hatására idő- és dózisfüggést mutató fokozódik, E2 kezelés hatására csökkenő tendenciát mutat az AP-1-DNS kötődés. Az ösztrogén hatására kialakuló AP-1 aktivitás csökkenés az előzetesen adott ENK kezelés hatására tovább csökken. Western blot vizsgálatunk szerint az ösztrogén kezelés a c-Fos fehérjék szintjét emeli, a c-Jun proteinek mennyiségét nem befolyásolja. Előzetes ENK kezelés a c-Fos fehérjék esetében az ösztrogén-indukált változásokra nincs hatással, azonban a c-Jun proteinek szintjének csökkensését eredményezi.

Ivartértelt nőstény patkány uterusban végzett kísérleteink szerint ENK és ösztrogén adása után idő- és dózisfüggést mutató nő az AP-1 fehérjék aktivitása.

Western blot analíziseinkben kimutattuk, hogy az ösztrogén kezelés hatására az AP-1 fehérjék közül a c-Fos szint megemelkedik. Előzetes ENK kezelés ezt az emelkedést a kontroll szintre csökkenti. A c-Jun fehérjék mennyisége a kezelésekre hatására nem változik.

Az ösztrogén és az opioid peptidok között fennálló transzkripciós kölcsönhatás kortól és nemtől függően változik.

Kísérleteinkben akut ENK kezelés hatásait vizsgáljuk az AP-1 fehérjék szintjére, valamint transzkripciós aktivitására E2-lal kezelt 5, 14, 21 napos, ivartelen him és nőstény patkányokban.

Fejlődő nőstény patkányok hipotalamuszban E2 hatás csak 21 napos korban mutatható ki, amikor is az AP-1 aktivitás fokozódik. ENK az E2-indukált változásokra nincs hatással. Az ivartértelt állatokban kapott eredményekkel szemben az E2 kezelés egyik életkorban sem befolyásolja az AP-1 fehérjék mennyiségét. Az E2+ENK kezelt állatcsoportban 5 napos korban az AP-1 aktivitás és a c-Fos fehérjék szintje megemelkedik. Előzetes NAL kezeléssel az ENK hatásai részben vagy teljesen kivédhető.

Hím állatok hipotalamuszban már 5 napos korban a felnőtt nőstény állatokra jellemző csökkenés figyelhető meg az AP-1 kötődésben E2 adása után a c-Jun fehérjék mennyiségének csökkenséssel párhuzamosan, melyet előzetesen adott ENK meg kifejezetten 14 napos kortól kezdődően azonban az AP-1 transzkripciós folyamatok elvesztik ösztrogénre és ENK való érzékenységet.

Fejlődő patkány uterusban is kortfüggő változásokat tapasztalunk. 5 és 14 napos korban az E2 kezelés nem befolyásolja az AP-1 aktivitást. 21 napos korban, a felnőtt állatokban megfigyeltekkel egyetemben, az E2 kezelt állatokban az AP-1-DNS kötődés és a c-Jun proteinek szintje megemelkedik. Az ENK a fejlődés alatt nincs hatással az ösztrogén-indukált változásokra. E2+ENK kezelés 5 és 21 napos korban a kontroll csoporthoz képest magasabb AP-1 aktivitást és c-Jun szintet eredményez. Előzetes NAL kezelés uterusban az ENK hatásait nem módosítja.

Az eredmények jelentősége, következtetések

A hipotalamusz GnRH elválasztásának szabályozása több szintű, komplex folyamat. A regulációban alapvetően meghatározó a keringő vérben lévő ösztrogén, mely pozitív és negatív feed-back hatást fejt ki a hipotalamusz ösztrogen-érzékeny sejtjeire. A hatás egyrészt közvetlenül a GnRH sejteken, másrészt interneuronok közvetítésével, neurotranszmitterek és neuromodulátorok közvetítésével jön létre.

Ismert, hogy az endogén opioid peptidok tónusosan gátolják a hipotalamuszban a GnRH szekréciót. A peptidok és receptoraik expresszióját a keringő szexuál szteroidok szintje jelentősen befolyásolja. Ezek ismeretében felmerül az opioid – E2 kölcsönhatás lehetősége, mely szerepet játszhat az ösztrogén GnRH elválasztásra kifejtett hatásainak mechanizmusában.

Eredményeink szerint ENK kezelés hatására ivartartó nőstény patkányok hipotalamuszában ösztrogen-érzékeny területein az ER-ok számában és ösztrogén kötődésszámában, valamint a két fajta, alpha és beta receptorok egymáshoz viszonyított relatív arányában változások következnek be: az ERalpha szint és a magas affinitású kötőhelyek száma csökken, az ERbeta fehérje mennyisége és az alacsony affinitású kötőhelyek száma ezzel ellentétben nő. Emellett kimutattuk, hogy ENK kezelés az ösztrogén AP-1 transzkripciós faktoron keresztül megvalósuló transzkripciós hatását is befolyásolja.

Mivel az ösztrogén hatásoknak alapvető feltétele az ER-ok jelenléte, az ENK hatásra létező ERalpha fehérje szint csökkenés mindenképpen ösztrogén hatás csökkenést von maga után a hipotalamuszban. Immunocitokémiai vizsgálatok szerint a GnRH sejtekben csak ERbeta expresszió figyelhető meg, melynek alapján feltételezhetően az ENK ERalpha-ra kifejtett hatása nem a GnRH sejteken érvényesül elsősorban, hanem az interneuronokon, azaz a keringő E2 kiváltotta hatások gátlódnak ezekben a sejteken. Ehhez társul az ERbeta fehérjék mennyiségének emelkedése, mely feltételezhetően a GnRH sejteket is érinti. Tehát ENK hatására az egész szövetben megváltozik az ösztrogén receptor, ami a transzkripciós folyamatokra. Így a GnRH gének expressziójára is kihat. Eredményeink ismeretében úgy tűnik, hogy ivartartó korban az opioid peptidok szerepet játszhatnak az ösztrogén GnRH elválasztásra gyakorolt feed-back hatásainak mediálásában.

A transzkripciós szinten kimutatott opioid - E2 kölcsönhatás ivartartó állatokban kortól és nemtől függő eltéréseket mutat. Eredményeink szerint a kölcsönhatás meglétével a hipotalamusz nemi differenciálódása során, az élet 1. hetében, illetőleg az ivartérés kezdetén

az élet 3. hetétől kell számolni. Ezek ismeretében feltételezhetően az opioid peptidok szerepet játszanak a hipotalamusz him ill. női működésének kialakulásában is.

Uteruszban az ösztrogének a sejtiproliferációban és a növekedésben játszanak meghatározó szerepet. Proliferatív hatásukat kifejtik egyrészt saját receptor fehérjéinek, másrészt egyéb növekedési faktorok és azok receptorai szintézisének szabályozásával.

Az endogén opioid peptidok sejtiproliferációt gátló hatásáról számos irodalmi adat áll rendelkezésre. Az opioid peptidokat és receptorikat megtalálhatjuk az uteruszban, bár szerepük jelenleg nem tisztázott. Laboratóriumunk korábbi eredményei szerint patkány uteruszban, felhórt korban az opioid rendszer aktivációja csökkenti a sejtképződés mértékét, ez a hatás humán uterusz sejtet tenyésztésben is kimutatható volt. Emellett uteruszban az opioid peptidok az ösztrogén proliferatív hatásában szerepet játszó parakrin növekedési faktorok működését is befolyásolják. ENK kezelés hatására patkány uterusz EGF tartalma csökken, valamint in vitro sejtkulturában gátódik az EGF-indukált sejtiproliferáció.

Jelenlegi eredményeink azt mutatják, hogy ENK kezelés hatására az uterusz sejtet ERalpha és PR tartalma csökken, az ER-ok hormonkötő sajátságában minőségi és mennyiségi változások következnek be, valamint gátlódnak az ösztrogén az AP-1 transzkripciós faktor által mediált génszintű hatásai. Ezen hatások következtében az ösztrogén direkt és növekedési faktorokon keresztül megvalósuló proliferatív hatása kevésbé tud érvényesülni. Ezek ismeretében feltételezhető, hogy az endogén opioid peptidok uteruszban megfigyelt anti-proliferatív hatásait az ER és PR mennyiségének és transzkripciós hatásának megváltozása is felelős lehet.

A fejlődés során az opioid - ösztrogén kölcsönhatás az uteruszban más jellegű, mint felhórt korban. Eredményeink szerint a fejlődés során az uterusz AP-1 aktivitása csak az élet 2. hetétől tűnik E2-érzékenynek, ami a legkifejezettebbé a 3. hét végére válik. Ebben az életszakaszban ENK előkezelés az E2 indukált AP-1 aktivitásra nincs hatással, ami arra utal, hogy ezen a szinten a fejlődő uteruszban nincs opioid - E2 kölcsönhatás.

A megfigyelt változások jól összhangban állnak az uterusz fejlődése során megfigyelt jelenségekkel. Felhórt korban az uterusz sejtet szaporodását a növekedési faktorok mellett döntően az ösztrogének befolyásolják, ehhez a hatáshoz az AP-1 fehérjék is szükségesek, amelyek integrálják a különböző hormonális hatásokat. Irodalmi adatok szerint az uterális sejtiproliferáció szabályozásában a fejlődés során két szakasz különíthető el. Az élet első 3 hetében az E2 nem hat a sejtképződésre, azí döntően növekedési faktorok (EGF, IGF) szabályozzák. Adataink szerint ebben a fejlődési szakaszban ENK hatására csökken az

uteruszban az EGF tartalom, és az EGF receptorok száma, valamint a sejtképződés mértéke. 21 napos kor után az uterus fejlődését meghatározóan az E2 irányítja, kialakul az AP-1 fehérjék ősztrógen-érzékenysége, és az opioid peptidok csak az E2-indukált sejtproliferáció képesek gátolni. Ezen megfigyelések alapján jelenlegi eredményeink valószínűsítették, hogy az uterus növekedésének első szakában, mintegy a 3. hét végéig elsősorban opioid peptid - EGF, esetleg -IGF kölcsönhatás lehet a meghatározó, míg a fejlődés későbbi szakaszaiban és felnőtt korban az opioid - E2 kölcsönhatás játssza a döntő szerepet.

Eredményeink alapján összefoglalásul megállapíthatjuk, hogy az endogén opioid peptidok és az ER rendszer között többszintű, intracelluláris kölcsönhatás van, mely felelős lehet az ősztrógen-érzékeny szövetekben létrejövő életkortól függő válaszokért, a sejt, a szerv homeosztázisus működéséért.

A témához kapcsolódó tudományos közlemények

Folyóiratcikkek:

Oszter A, Töröcsik B, Vértés Zs, Könyei JL, Kovács KA, Vértés M: Regulation of activator protein-1 binding activity by opioid peptides in estrogen-sensitive cells of rat hypothalamus and uterus. *European Journal of Pharmacology* 2000; 395:103-106. IF=2.236

Oszter A, Vértés Zs, Töröcsik B, Könyei JL, Kovács KA, Vértés M: Antiestrogenic effect of opioid peptides in rat uterus. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* 2000; 74:25-32. IF=2.245

Könyei JL, Vértés Zs, Oszter A, Kovács S, Vértés M: Opioid peptides inhibit the estradiol-induced proliferation of cultured rat uterine cells. *European Journal of Pharmacology* 1997; 336: 65-70. IF=2.236

Könyei JL, Vértés Zs, Oszter A, Kovács KA, Rao CHV, Vértés M: Opioid peptides inhibit the action of estradiol on human myometrial cells in culture. *Molecular Human Reproduction* 1999; vol. 5 no. 6:565-572. IF=3.232

Vértés Zs, Sándor A, Kovács KA, Oszter A, Könyei JL, Kovács S, Vértés M: Epidermal growth factor influenced by opioid peptides in immature rat uterus. *Journal of Endocrinological Investigation* 2000; 23: 502-508. IF=1.398

Könyei JL, Oszter A, Kovács KA, Vértés Zs, Komlósi KM, Göcze P, Vértés M: Anti-mitogenic action of opioid peptides on epidermal growth factor-stimulated uterine cells. *European Journal of Pharmacology* 2001; 414: 155-163. IF=2.236

Kovács KA, Oszter A, Göcze P, Könyei JL, Szabó I: Comparative analysis of cyclin D1 and oestrogen receptors (alpha and beta) levels in human leiomyoma and adjacent myometrium. *Molecular Human Reproduction* 2001, 7: 1085-1091. IF=3.232

Folyóiratban megjelent előadás kivonatok:

- Oszter A, Törőcsik B, Pál B, Vértés M: Effect of opioid peptides on the oestradiol receptors in rat hypothalamus. 6th Annual meeting of the Hungarian Neuroscience Society, 1999, Pécs-Harkány, Hungary, Abstract: *Neurobiology* 7 (3) pp. 364.
- Oszter A, Törőcsik B, Kömvei JL, Vértés Zs, Vértés M: Effect of opioid peptides on the AP-1 DNA binding in rat hypothalamus. 7th Annual meeting of the Hungarian Neuroscience Society, 2000, Budapest, Hungary, Abstract: *Neurobiology* 8 (3-4) pp. 374-375.
- Oszter A, Törőcsik B, Kömvei JL, Vértés Zs, Vértés M: Transcriptional effect of Dme²-pro²-enkephalinamide in rat oestrogen sensitive tissues. Joint Meeting of the British and Hungarian Physiological Society, 2000, Budapest, Hungary, Abstract: *Journal of Physiology* 526.P:74P. IF=4,455
- Kömvei JL, Vértés Zs, Oszter A, Vértés M: Opioid peptides inhibit the estradiol-induced proliferation of cultured rat uterine cells. 30th Annual Meeting of the Society for the Study of Reproduction, 1997, Portland, Oregon, USA, Abstract: *Biology of Reproduction* 56, Suppl. 1, p. 231. IF=3,605
- Kömvei JL, Vértés Zs, Oszter A, Kovács KA, Vértés M: Progesterone receptor is involved in the inhibitory action of endogenous opioid peptides on epidermal growth factor stimulated proliferation of cultured rat uterine cells. 32nd Annual Meeting of the Society for the Study of Reproduction, 1999, Pullman, Washington, USA, Abstract: *Biology of Reproduction* 60, Suppl. 1, p. 202. IF=3,605
- Kömvei JL, Kovács KA, Oszter A, Vértés Zs, Komlósi KM, Vértés M: Altered regulation of cell proliferation by opioid peptides in human uterine leiomyoma cells. Joint Meeting of the British and Hungarian Physiological Society, 2000, Budapest, Hungary, Abstract: *Journal of Physiology* 526.P:20-21P. IF=4,455
- Előadások:**
- Oszter A, Birkás G: Endogenous opioid peptides inhibit the estradiol induced cell proliferation of human and rat uterine cells. 7th European Student Conference, 1996, Berlin, Németország.

Kovács KA, Kömvei JL, Oszter A, Szabó I: Az opioid peptidok gátolják az oestradiol indukált sejtproliferációt humán myometrium sejtvonalakban. Magyar Nőorvos Társaság XXVI. Nagygyűlése, 1998, Pécs.

Kömvei JL, Vértés Zs, Oszter A, Kovács KA, Rao CHV, Vértés M: Inhibition of estradiol-induced cell proliferation by opioid peptides in human myometrial cell lines. IV. European Congress of European Federation of Endocrine Societies, 1998, Sevilla, Spanyolország.

Oszter A, Törőcsik B, Pál B: Az endogén opioid peptidok hatásának vizsgálata az oestradiol receptor rendszer működésére patkány hypothalamusban és uterusban. Magyar Endokrinológiai és Anyagcsere Társaság XVII. Kongresszusa, 1998, Pécs.

Oszter A, Törőcsik B, Kovács KA, Kömvei JL, Vértés Zs, Vértés M: Az opioid peptidok antioesztrogén hatása patkány uterusban. Magyar Élettani Társaság LXIV. Vándorgyűlése, 1999, Budapest.

Kömvei JL, Vértés Zs, Oszter A, Kovács KA, Vértés M: Az endogén opioid peptidok a progesteron receptor bevonásával gátolják az epidermális növekedési faktor által kiváltott sejtproliferációt patkány uterus sejtkulturákban. Magyar Élettani Társaság LXIV. Vándorgyűlése, 1999, Budapest.

Oszter A, Törőcsik B, Vértés M: Effect of opioid peptides on the oestradiol receptors in rat hypothalamus. 9th Meeting of the European Neuroendocrine Association, 1999, Odense, Dánia.

Kovács KA, Kömvei JL, Oszter A, Vértés Zs, Kovács S, Vértés M: Hormonal factors in the regulation of myoma growth. 6th International Congress on Hormones and Cancer, 1999, Jerusalem, Izrael.

Oszter A, Törőcsik B, Vértés Zs, Kömvei JL, Vértés M: Interaction between estradiol and opioid peptides on AP-1 DNA binding in rat hypothalamus. 11th International Congress of Endocrinology, 2000, Sydney, Ausztrália.

Kovács KA, Oszter A, Vértés Zs, Göczs PM, Kömvei JL, Szabó I, Vértés M: Cyclin D1 and estradiol receptors (alpha and beta) in human myometrium and leiomyoma. 11th International Congress of Endocrinology, 2000, Sydney, Ausztrália.

Vértés Zs, Oszter A, Kovács KA, Kömvei JL, Kovács S, Vértés M: Involvement of EGF and EGF-R in the inhibitory action of opioid peptides on rat uterine DNA synthesis. 11th International Congress of Endocrinology, 2000, Sydney, Ausztrália.

Ozter A, Vértés Zs, Könyei JL, Vértés M: Developmental changes of AP-1 proteins and DNA binding in rat uterus. 5th European Congress of Endocrinology, 2001, Torinó, Olaszország.

Kovács KA, Ozter A, Gócze PM, Könyei JL, Kovács S, Szabó I: Sex steroid receptors, regulation of cell cycle and apoptosis in human leiomyoma and myometrium. 5th European Congress of Endocrinology, 2001, Torinó, Olaszország.

Könyei JL, Ozter A, Vértés Zs, Kovács KA, Komlósi KM, Gócze PM, Vértés M: Developmental changes of the inhibition of cell proliferation by opioid peptides in cultured rat uterine cells. 5th European Congress of Endocrinology, 2001, Torinó, Olaszország.