

Ph.D. értekezés tézisei

Az uterusban folyó sejtkepződés szabályozásában szerepet játszó tényezők hatásmechanizmusa

Lengyel Ferenc

Programvezető: Prof. Dr. Lénárd László, akadémikus
Témavezető: Prof. Dr. Vértes Marietta, DSci.

Pécsi Tudományegyetem
Általános Orvostudományi Kar
Élettani Intézet

Pécs, 2008

Bevezetés

Az ösztadiol (E2) többféle módon is befolyásolhatja a sejtek életfolyamatait. Legrégbben ismert hatásmechanizmusa a „klasszikus” ösztrogénhatás. Ennek során az aktivált ösztrogén receptor (ER) bizonyos gének transzkripcióját serkenti oly módon, hogy a DNS-hez, és/vagy más transzkripció faktorokhoz kötődik. Ezen ún. genomikus hatásokon kívül vannak olyan, nemgenomikus E2 indukálta sejtélettani folyamatok is, amelyek túl gyorsan zajlanak le ahhoz, hogy génexpressziós változásokkal magyarázni lehetne őket, vagy transzkripciót gátló anyagok jelenlétében is lezajlanak. Ilyen hatások például a sejtek kalcium felvételének serkentése, a MAP kináz vagy a foszfatidilinozitol-3 kináz (PI3K)-Akt útvonalaknak az aktiválódása. A PI3K-Akt útvonalnak központi szerepe van a sejtciklus, az apoptózis és a sejtek anyagcseréjének szabályozásában. Ezen útvonal során a PI3K aktiválódása az Akt foszforilációjához vezet, ami aztán számos egyéb fehérjét foszforilálva aktiválja az antiapoptotikus, és gátolja a proapoptotikus folyamatokat, illetve serkenti a sejtosztódást, de az inzulin hatásban is fontos szerepe van. Az, hogy az E2-ER komplex milyen módon aktiválja a PI3K-t, még nem teljesen tisztázott. Bár kimutatták, hogy az ER közvetlenül hozzá tud kapcsolódni a PI3K katalitikus alegységéhez, aminek hatására az aktiválódik, még nem bizonyított, hogy ez a mechanizmus szerepet játszik a PI3K aktiválásában uterusban in vivo. Az Akt fontos szubsztrátját képezik a FOXO proteinek, amelyek a transzkripció faktorok FOX családjába tartoznak. Mint transzkripció faktorok, hatásaikat a sejtek transzkripció mintázatának módosításán keresztül fejtik ki. Többek között olyan fehérjék szintézisét is serkentik, amelyek leállítják a sejtciklust, vagy proapoptotikus hatásúak. A FOXO fehérjék sokrétű poszttranszlációs szabályozás alatt állnak. Sejt kultúrák kísérletek szerint az Akt a FOXO proteineket foszforilálva gátolja azok transzkripció aktivitását, ami hozzájárul az Akt antiapoptotikus hatásához.

Az utóbbi években a PI3K/Akt jelátviteli út sok kutatás tárgyát képezte. Ezen vizsgálatok elsősorban különböző tulajdonságokkal rendelkező sejt kultúrákon történtek, és a főbb jelátviteli utak megismerését eredményezték. Azonban jól ismert tény, hogy a multicelluláris szervezetben kialakuló hatások, szabályozási mechanizmusok jóval összetettebbek. Különböző sejt típusok, és a közöttük kialakuló multifaktoriális

kölcsönhatások vesznek részt az adott szerv homeosztázisának fenntartásában, vagy különböző patológiás elváltozások kialakulásában. A jelenleg rendelkezésünkre álló technikai, módszertani lehetőségek inkább a sejt kultúrák vizsgálatoknak kedveznek, noha egyre sürgetőbb igény jelentkezik olyan molekulák megismerésére, gyógyszerek kifejlesztésére, amelyekkel lehetőség nyílik a sejtéleti folyamatok élő szervezetben történő módosítására.

Az E2 egyik legfontosabb hatása a sejtproliferáció serkentése. A nettó sejt képződés intenzitását a survival (proliferatív és antiapoptotikus) hatások és a proapoptotikus hatások egymáshoz viszonyított aránya szabja meg. Irodalmi adatok, és a laboratóriumunkban végzett korábbi vizsgálatok arra mutatnak, hogy a PI3K-Akt jelátviteli út meghatározó szerepet játszik az E2 hatásának mechanizmusában, az uterusban folyó sejt képződés szabályozásában, különböző, és a reproduktív szerveket érintő patológiás elváltozásokban. Jelen munkánkban az E2-PI3K-Akt-FOXO1 jelátviteli út jellegzetességeit vizsgáltuk in vivo patkány uterusban, valamint ex vivo human uterusból származó szövetmintákban a menstruációs ciklus és menopausa során.

Célkitűzések

Vizsgálataink során az alábbi kérdésekre kerestük a választ:

Expresszálódik- és foszforilálódik-e az Akt patkány uterusban. Amennyiben igen, akkor az expresszió illetve a foszforiláció mértéke változik-e akut E2 kezelés hatására?

Hogyan alakul az egyedfejlődés folyamán az Akt expressziója, foszforilációja és E2 érzékenysége?

Patkány uterusban az E2-nak az Akt foszforilációra gyakorolt hatását az ösztrogén receptor α mediálja-e, vagy esetleg egy más szerkezetű, nemklasszikus ösztrogén receptor?

Az Akt az uterusban PI3K függő, vagy pedig egy alternatív úton aktiválódik?

Expresszálódik-e patkány uterusban a FOXO1, foszforilálódik-e a két Akt érzékeny helyen (Thr²⁴ és Ser²⁵⁶), és hogyan hat ezen csoportok foszforilációjára az akut E2 kezelés, illetve a PI3K Wortmanninnal történő gátlása?

Milyen hatással van az E2 kezelés és a PI3K gátlása a Ciklin D1 és a Fas-ligand mRNS szintjére?

Milyen jellegzetességei vannak az Akt expresszióknak és aktivációknak humán uterus szövetben a menstruációs ciklus alatt és menopauzában?

Módszerek

Állatok

Kísérleteinkhez fejlődésben lévő és felnőtt nőstény Wistar patkányokat használtunk. A patkányokat standard körülmények között tartottuk. A felnőtt állatokat öt nappal a kísérletek előtt enyhe éter narkózis alatt ovariectomizáltuk. A kísérleteket a PTE állatetikai bizottságának engedélyével végeztük.

Kezelések

Az antiösztrogén ICI 182,780-at (2 mg/ml, 96% etanolban) intraperitoneális injekcióval juttattuk az állatokba (0.1 mg/100 g tt.). A Wortmannint DMSO-ban oldottuk fel (1 mg/ml), ebből az oldatból (vagy tiszta DMSO-ból) adtunk 5 µl-t közvetlenül a narkózisban lévő állatok uterusának jobb szarvába. Az ösztradiolt (E2) 25%-os etanolban oldottuk fel, és intraperitoneális injekcióval adtuk be az állatoknak. Ahol nem jeleztük külön, ott az alkalmazott E2 mennyisége 10 µg/100 g tt. volt. A kísérletek végén az állatokat dekapitáltuk, az uterusukat eltávolítottuk, tömegüket lemértük, majd a két szarvat külön-külön lefagysztottuk, és felhasználásig -80 °C-on tároltuk.

Human uterusz

Ezeket a vizsgálatokat a PTE ÁOK Szülészeti és Nőgyógyászati Klinika munkatársaival kollaborációban végeztük. A vizsgálatokat a PTE ÁOK Human Etikai Bizottsága engedélyezte.

Vizsgálatainkat hysterectómiás műtétekből származó humán uterusz szöveteken végeztük. A betegek (38-55 évesek) a műtét előtt legalább 3 hónapig hormonkezelésben nem részesültek. A ciklus stádium beosztásokat ill. a menopausa meglétét az endometrium szövettani vizsgálatával, illetőleg a műtét reggelén levett vérből történő FSH, ösztrogén és progeszteron szintek meghatározásával állapították meg.

Közvetlenül a műtét után a myomát az uterusból disszekálták. Kontrollként ugyanazon uterusból származó ép myometrium szövetet alkalmaztunk.

A mintákat folyékony nitrogénben lefagyasztottuk, és -80°C -on szállítottuk és tároltuk felhasználásig.

Western blot

A fagyasztott mintákat 4°C -on elhomogenizáltuk, poliakrilamid gélen elektroforetizáltuk, majd a szétfutott fehérjéket nitrocellulóz membránra blottoltuk át. A membránokat a megfelelő elsődleges, majd a másodlagos antitestekkel kezeltük. Másodlagos antitestként nyúl ellenes, peroxidázzal konjugált antitestet használtunk. Az antigén-antitest kötődést peroxidáz reakcióval tettük láthatóvá.

Szubcelluláris frakciók elválasztása

Enyhén hipotóniás pufferben részlegesen elhomogenizáltuk a szövetet, potterezttük, majd alacsony fordulaton (750g) lecentrifugáltuk. A felülúszót új csőben nagy fordulattal (10 000g) újra centrifugáltuk, majd a felülúszóból (citoplazmában gazdag homogenizátum) triklór-ecetsavval kicsaptuk a fehérjéket. Az első centrifugálás csapadékát egyszer mostuk enyhe detergens jelenlétében, majd újra centrifugáltuk. Az üledéket (nukleuszban gazdag homogenizátum) felvettük izoláló pufferbe, majd ezt is

triklór-ecetsavval kezeltük. A triklór-ecetsavval kicsapott fehérjéket acetonnal háromszor mostuk, majd száradás után felvettük az elektroforézishez használt izoláló pufferbe.

Kvantitatív RT PCR

Az mintákból TRIzol reagenssel total RNS-t izoláltunk, ezzel reverz transzkripciót végeztünk. A kész cDNS tisztaságát hagyományos PCR segítségével ellenőriztük. A kvantitatív PCR-hoz SyBr Green Supermixet használtunk a termék leírásának megfelelően. A program a következő lépésekből állt: 3 min 95°C-on, majd 45 amplifikációs ciklus (10 sec 92 °C-on, 10 sec 55 °C-on, plate read, 12 sec 72 °C-on), végül 1 min 72 °C-on. Befejezés után melting curve analízist végeztünk. A kapott eredményeket a $\Delta\Delta C_T$ Livak módszerrel értékeltük. A felhasznált primerek szekvenciáját az I. táblázat mutatja.

I. táblázat

Alkalmazás	Primer név	Szekvencia	A primer tervezéshez használt cDNS azonosító száma az NCBI adatbázisban
Hagyományos PCR-hoz	Beta aktin forward primer	5' AGCCATGTACGTAGCCATCC 3'	NM_031144
	Beta aktin reverse primer	5' AAGGGTGTAACACGCAGCTC 3'	
QT PCR-hoz	Beta aktin forward primer	5' AGCCATGTACGTAGCCATCC 3'	NM_171992
	Beta aktin reverse primer	5' AGCGCGTAACCCTCATAGAT 3'	
	Ciklin D1 forward primer	5' TAGGGCTGGTAGCATGAGGT 3'	NM_012908
	Ciklin D1 reverse primer	5' CACGGTCCCTACTTCCAAAC 3'	
	Fas ligand forward primer	5' TCTGGTTGGAATGGGGTTAG 3'	NM_012908
	Fas ligand reverse primer	5' TTGGTTTCAGAGGGTGTGC 3'	

Statisztika

A Western blottok denzitometriás mérését Image Tool (Roswell, GA, USA) programmal végeztük. Az állatkísérletek eredményeit Student t-tesztel, a humán minták adatait ANOVA tesztel, majd Student-Newman-Keul-féle multiple range tesztel analizáltuk.

Eredmények

Az Akt fejlődő és felnőtt állatok uterusában is expresszálódik, és életkorfüggő érzékenységgel foszforilálódik

Eredményeink szerint az Akt protein minden vizsgált életkorban (7, 14, 21, 28 és 35 napos) azonos mértékben expresszálódik, a foszforilációja azonban az életkor előrehaladtával fokozódik.

Az E2 érzékenységet vizsgálva azt tapasztaltuk, hogy 11 napos korban az Akt foszforilációt az E2 kezelés még nem befolyásolta, viszont a 28 és a 60 napos (ovarietomizált) állatok uterusában fokozta azt.

Az Akt expresszálódik és E2 érzékeny módon foszforilálódik patkány uterusban

Felnőtt, ovarietomizált patkányokat kezeltünk különböző dózisú (1, 10 vagy 100 µg /100 g tt.) E2 injekcióval. Az Akt minden vizsgált állatban expresszálódott, és szintjét az E2 kezelés nem befolyásolta. A pSer⁴⁷³-Akt szintje szignifikánsan fokozódott két órával az E2 injekciót követően.

Az ösztradiol (E2) Akt aktiváló hatását nem fokozta a nagyobb dózis, viszont kisebb dózist alkalmazva kicsit megnőtt az injekció beadásától az Akt foszforiláció fokozódásáig eltelt idő.

Az Akt ICI 182,780 és Wortmannin érzékeny úton foszforilálódik az uterusban

Felnőtt patkányokat kezeltünk ICI 182,780-nal, ami szelektív gátlószere az ösztrogén receptoroknak. Az ICI 182,780-nal előkezelt állatok uterusában az E2 nem fokozta az Akt foszforilációját. Az ICI 182,780 kezelés önmagában hatástalan volt.

Az uterus lumenébe beadott Wortmannin (5 µg/állat) szignifikáns mértékben csökkentette az Akt foszforilációt, ami azt mutatja, hogy ovarietomizált patkányok uterusában az Akt PI3K függő úton foszforilálódik. A Wortmannin oldószereként használt DMSO nem befolyásolta az Akt foszforiláció mértékét.

A FOXO1 expresszálódik, és E2 hatására PI3K függő úton foszforilálódik patkány uterusban

Az Akt a FOXO1-et in vivo két helyen, a Thr²⁴ és Ser²⁵⁶ oldalláncon foszforilálja. Western blottal vizsgáltuk a FOXO1 foszforiláció változásait PI3K gátlás és két órás E2 kezelés hatására.

A pSer²⁵⁶-FOXO1 szintje alacsony volt a vehiculummal kezelt állatokban. Kettő és hat órával az E2 injekció után szignifikáns emelkedést mutatott majd 12 órával az E2 injekció után a kontroll értékre csökkent. A FOXO1 24-es treonil csoportjának foszforilációja nem emelkedett két órás E2 kezelés hatására, viszont 12 és 24 órával az E2 kezelés után fokozódott. Wortmannin kezelés szinte teljesen legátolta a 24-es treonil foszforilációját, míg a 256-os szeril csoportét csak mintegy 50%-ban.

A FOXO1 két foszforilált formájának intracelluláris eloszlása különbözik egymástól

A következőkben intraperitoneális E2 és/vagy intrauterin Wortmannin kezelésen átesett állatok uterusából izoláltunk sejtmagban gazdag és citoplazmában gazdag frakciókat. A csak E2-lal kezelt uterusban a sejtmag frakcióban erős jelet kaptunk a pSer²⁵⁶-FOXO1 ellenes antitesttel. Az E2-lal és Wortmanninnal is, valamint a csak Wortmanninnal kezelt uterusokban csak gyenge jelet kaptunk. A DMSO (a Wortmannin oldószere) nem befolyásolta a jel erősségét. A citoplazma frakcióban valamennyi alkalmazott kezelés hatására nagyon alacsony pSer²⁵⁶-FOXO1 szintet detektáltunk. A pThr²⁴-FOXO1 csak a citoplazmában gazdag frakcióban volt jelet.

A Ciklin D1 expressziója változik E2 és a Wortmannin kezelés hatására

A Ciklin D1 fontos szerepet játszik a sejtciklus szabályozásában, a G1-S fázisok közti átmenetet serkenti, és E2 hatására fokozódik a transzkripciója. Ösztradiollal és Wortmanninnal kezeltünk ovariektomizált patkányokat, majd az uterusokból RNS-t izoláltunk, és kvantitatív RT PCR-ral megnéztük, hogy hogyan alakult a Ciklin D1 és a Fas ligand mRNS-ének szintje. Ösztradiol kezelés után hat órával mintegy 80%-kal

megemelkedett a Ciklin D1 mRNS-ének mennyisége, majd 12 órával az E2 injekció után visszatért a kontroll értékre. Az E2 Ciklin D1 expressziót fokozó hatását Wortmannin teljesen legátolta, sőt, a Ciklin D1 mRNS szintje mind a Wortmannin, mind pedig az E2+Wortmannin kezelt állatokban a kontroll érték alá csökkent.

Az E2 és a Wortmannin kezelés befolyásolja a Fas ligand expressziójának mértékét

A Ciklin D1 vizsgálatánál használt mintákban meghatároztuk a Fas ligand mRNS szintjét is. A Fas ligand expresszióját Wortmannin jelentősen lecsökkentette hat órával az E2 kezelés után. Az E2 és az E2+Wortmannin kezelt állatokban enyhe csökkenést figyeltünk meg. Tizenkét órával a kezelés után az E2 Fas ligand expressziót gátló hatása erősebb lett, míg a Wortmanninnal kezelt uterusok Fas ligand mRNS szintje megegyezett a hat óras értékkel. A Fas ligand expresszió legerősebb gátlását az E2-lal és Wortmanninnal is kezelt uterusokban tapasztaltuk.

A PI3K-Akt útvonalnak szerepe van az E2 kiváltotta vízimbibícióban

Az uterusz egyik jellemző válasza az E2 kezelésre a vízimbibíció, ami már röviddel az E2 beadása után megfigyelhető. Ehhez a kísérlethez fiatal, 21 napos patkányoknak adtunk intraperitoneális Wortmannin (1,4 µg/g tt.), majd egy órával később E2 (10 µg /100 g tt.) injekciót. Az E2 magában adva az uterusz súlyának növekedését okozta. Ezt a súlynövekedést a Wortmannin kivédte.

Az Akt eltérő mértékben expresszálódik és aktiválódik human uterusz myomában, mint a kontrollként használt ép myometriumban

Vizsgálatainkban elemeztük, hogyan alakul a myomában és ugyanazon uteruszból származó, nem daganatos ún. „normál” myometriumban az Akt expressziója és foszforilációja.

Az Akt erősebben expresszálódott a myomákból származó mintákban, mint a szomszédos myometriumban. A ciklus során nem tapasztaltunk változást a fehérje

mennyiségében, viszont a menopausa kezdeti szakaszában az Akt expressziója szignifikánsan csökkent.

A pSer⁴⁷³-Akt szintje alacsony volt valamennyi vizsgált myometrium szövetben. Ugyanez mondható el a menopauzás uterusból származó myomákról is, azonban a ciklus proliferációs és szekréciós fázisában a myomákban fokozott Akt foszforilációt tapasztaltunk.

Az antiapoptotikus Bcl-2 és a proapoptotikus hatású Bax fehérje szintje eltér a myomáman a menstruációs ciklus alatt és menopauzában

A Bcl-2 erőteljesen expresszáldott a myomákban a menstruációs ciklus alatt, szintje a szekréciós fázisban szignifikánsan magasabb, mint a proliferációsban. A myometriumokban valamint a menopauzás mintákban csak gyengén volt detektálható.

A Bax fehérje szintje menopauzás myomákban volt a legmagasabb, a többi mintában lényegesen gyengébben expresszáldott.

Összefoglalás

Vizsgálataink elsődleges célja az E2 indukálta korai válaszreakciók egyikének, a PI3K-Akt jelátviteli út jellegzetességeinek elemzése in vivo körülmények között. Munkánk során kidolgoztunk egy olyan kísérletes modellt, amivel patkány uterusban vizsgálhattuk a PI3K szerepét.

Megállapítottuk, hogy az Akt minden vizsgált életkorban (7, 14, 21, 28, 35 napos és felnőtt állatokban is) expresszáldik és foszforilálódik. Ösztradiol kezelés hatására az Akt foszforiláció fokozódik ivaréretlen (28 napos) és felnőtt patkányok uterusában. Az E2 indukálta Akt foszforiláló gátolható mind az ER antagonistá ICI 182,780-nal, mind pedig a PI3K gátló Wortmanninnal, tehát ER és PI3K függő úton zajlik.

A FOXO1 transzkripciós faktor expresszáldik ivarérett patkányok uterusában. Ezen fehérje Ser²⁵⁶ és Thr²⁴-csoportjainak foszforilációja eltérően válaszol E2 kezelésre és a PI3K Wortmanninnal történő gátlására. A Ser²⁵⁶-csoport foszforilációja korábban fokozódik, mint a Thr²⁴-é. Ugyanakkor az utóbbi érzékenyebb a PI3K gátlására,

Wortmannin kezelés hatékonyabban csökkenti a pThr²⁴-FOXO1, mint a pSer²⁵⁶-FOXO1 szintjét.

A FOXO1 Ser²⁵⁶-on foszforilált formája elsősorban a magban detektálható mind a kontroll, mind pedig az E2 kezelt állatok uterusában. Ezzel szemben a Thr²⁴-en foszforilált forma a citoplazmában helyezkedik el.

Az Akt és a FOXO1 bizonyos mértékig foszforilálódik kontroll állatokban is, így az E2-on kívül más faktorok is fontos szerepet játszhatnak a regulációjukban.

A Ciklin D1 expresszió E2 kezelés hatására Wortmannin érzékeny módon fokozódik, tehát az E2 ezen hatásában szerepe van egy PI3K-függő útvonalnak. A Ciklin D1 expresszió fokozódása feltehetőleg fontos szerepet játszik az E2 sejtproliferációt serkentő hatásában. A Fas ligand expresszióját az E2 kezelés és a PI3K gátlása is csökkenti.

A human myometrium és myoma szövetminták vizsgálata során azt találtuk, hogy a vizsgált survival faktorok (Akt, pSer⁴⁷³-Akt és Bcl-2) szintje magasabb a myomában, mint a környező myometriumban, és a menopausa után lecsökken. A proapoptotikus hatású Bax fehérje szintje a myomában a menopausa után megemelkedik. Ezek a változások összhangban vannak azzal, hogy menopausa után a myoma regressziója figyelhető meg.

Eredményeink alapján megállapítottuk, hogy a PI3K-Akt-FOXO1 jelátviteli út kimutatható patkány és humán uterusban egyaránt, és fontos szerepe van az E2 sejtproliferációra gyakorolt hatásában, illetve bizonyos patológiás eltérések kialakulásában.

Köszönetnyilvánítás

Ez alkalommal is szeretnék köszönetet mondani mindazoknak, akik munkámat támogatták és lehetővé tették PhD értekezésem elkészítését.

Köszönöm Prof. Dr. Lénárd László akadémikusnak Programvezetőmnek, valamint Prof. Dr. Vértés Marietta témavezetőmnek, akiknek a segítsége meghatározó volt disszertációm létrejöttében.

Köszönettel tartozom a Szülészeti és Nőgyógyászati Klinikáról Dr. Kovács Kálmánnak és azoknak a munkatársaknak, akik kollaborációs munkánkban részt vettek.

Köszönettel tartozom Prof. Dr. Sümegi Balázsnak, és a Biokémiai Intézet dolgozóinak, amiért munkámhoz értékes gyakorlati segítséget nyújtottak.

Köszönettel tartozom az Élettani Intézet Izotóp laboratóriumában dolgozó munkatársaknak, elsősorban Dr. Vértes Zsuzsannának és Dr. Környei Józsefnek, akik tanácsaikkal, módszertani ismereteikkel pótolhatatlan segítséget nyújtottak nemcsak a disszertáció elkészítésében, hanem az orvosi élettani gondolkodás megértésében és kialakításában is.

Végezetül szeretném megköszönni szüleimnek a segítségüket.

A témához kapcsolódó tudományos közlemények:

Folyóirat cikkek:

Lengyel F, Vertes Zs, Kovacs KA, Kornyei JL, Sumegi B, Vertes M.

Effect of estrogen and inhibition of phosphatidylinositol-3 kinase on Akt and FOXO1 in rat uterus. **Steroids** 2007; **72(5):422-8**. IF: 2,849

Kovacs KA, **Lengyel F**, Vertes Zs, Kornyei JL, Gocze PM, Sumegi B, Szabo I, Vertes M.

Phosphorylation of PTEN (phosphatase and tensin homologue deleted on chromosome ten) protein is enhanced in human fibromyomatous uteri. **Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology** 2007;**103(2):196-9**. IF: 2,825

Lengyel F, Vertes Zs, Kovacs KA, Kornyei JL, Sumegi B, Vertes M.

Expression and activation of Akt/protein kinase B in sexually immature and mature rat uterus. **Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology** 2004;**91(4-5):285-8**. IF: 2,715

Vertes Zs, **Lengyel F**, Oszter A, Kornyei JL, Sumegi B, Vertes M.

Effect of estradiol on expression and activation of Akt protein in rat hypothalamus exposed to chronic [D-Met2, Pro5]-enkephalinamide treatment. **Steroids** 2004;**69(4):263-70**. IF: 2,337

Kovacs KA, **Lengyel F**, Kornyei JL, Vertes Zs, Szabo I, Sumegi B, Vertes M.

Differential expression of Akt/protein kinase B, Bcl-2 and Bax proteins in human leiomyoma and myometrium. **Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology** 2003;**87(4-5):233-40**. IF: 2,596

Folyóiratban megjelent előadás kivonatok:

Lengyel F, Vértés Zs, Környei JL, Kovács KA, Sümegi B, Vértés M

Akt/protein kinase B and phosphatase PTEN in rat uterus. **Acta Physiologica Hungarica Vol 93 (2-3) p206, 2006**

Lengyel F, Vértés Zs, Környei J, Kovács AK, Sümegi B, Vértés M

The role of forkhead transcription factors in the mechanism of estrogen action. **Acta Physiologica Hungarica Vol 92 (3-4) p276, 2005**

Kovacs, KA., Lengyel F., Vértes Zs., Környei JL. Gőcze, MP, Sümegi B, Szabó I., Vértes, M.

Some aspects of non-genomic estradiol action in human uterus during menstrual cycle and at menopause.

Climacteric 8: suppl.2 p110, 2005

Előadások:

Lengyel Ferenc, Vértes Zsuzsanna, Kovács A. Kálmán, Környei L. József, Sümegi Balázs, Vértes Marietta
Ösztrogén receptor függő, két lépcsős FOXO1 inaktiváció patkány uterusban **A Magyar Élettani Társaság (MÉT) LXXI. Vádorgyűlése, Pécs, 2007**

Lengyel Ferenc, Vértes Zsuzsanna, Kovács A. Kálmán, Környei L. József, Sümegi Balázs, Vértes Marietta
Akt/protein kináz B és PTEN foszfatáz patkány uterusban **A Magyar Élettani Társaság (MÉT) LXX. Vádorgyűlése, Szeged, 2006**

Kovacs, KA., Lengyel F., Vértes Zs., Környei JL. Gőcze, MP, Sümegi B, Vértes, M Szabó I.

Differential expression of Forkhead (FKHR) transcription factors in human endometrium and myometrium. **12th World Congress of Gynecological Endocrinology, Florence 2006 abstr.12**

Lengyel Ferenc, Környei József, Vértes Zsuzsanna, Kovács Kálmán A., Sümegi Balázs, Vértes Marietta
Forkhead transzkripció proteinek szerepe az ösztrogén hatásmechanizmusában **A Magyar Élettani Társaság (MÉT) LXIX. Vádorgyűlése, Budapest, 2005**

Kovács KA, Lengyel F, Vértes, Zs, Környei, JL, Gőcze, PM, Sumegi, B. Szabó I., Vértes M.

Some aspect of non-genomic action in human uterus during menstrual cycle and at menopause, **11th**

World Congress on the Menopause, Abstr.Book 0162 Buenos Aires, Argentina 2005, 18-22 October

Ferenc Lengyel, Zsuzsanna Vértes, Kálmán A. Kovács, József L. Környei, Balázs Sumegi, Marietta Vértes
Akt/protein kinase B and phosphatase PTEN proteins in rat uterus **12th International Congress of Endocrinology, Lisbon, Portugal 2004, 31 Augustus -4 September Abstr.: P456**

Kovács KA, Lengyel F, Környei JL, Vértes Zs, Sumegi B, Szabó I, Vértes M. Differential expression of PTEN (Phosphatase and Tensin Homolog Deleted on Chromosoma 10) proteins in human leiomyoma and myometrium. **12th International Congress of Endocrinology, Lisbon, Portugal 2004, 31 Augustus -4 September Abstr. p1175**

Vértes Zs., **Lengyel F.**, Környei J.L., Kovács K.A., Sümegi B., Vértes M.: PI3K/Akt and estradiol signaling in rat estrogen sensitive tissues. **12th International Congress of Endocrinology, 2004, Lisbon, Portugal, Abstracts: P1176**

Kovács KA., **Lengyel F.**, Környei JL, Gőcze P., Szabó I.

PTEN expresszió változásának és szerepének vizsgálata human uterus myometriumban és myomában. **Magyar Szülészeti és Nőgyógyászati Endokrinológiai Társaság III. Kongresszusa, p- 48 Harkány 2004**

Kovács KA., **Lengyel F.**, Környei JL, Gőcze P., Szabó I.

Receptor függő, nem genomikus ösztadiol hatás szerepe human uterus myoma pathogenezisében. **Magyar Nőorvos Társaság Dél-nyugat Magyarországi Szekciójának VI. Kongresszusa, p.17-18.,Siófok, 2004.**

Lengyel Ferenc, Környei József, Vértes Zsuzsanna, Kovács Kálmán A., Sümegi Balázs, Vértes Marietta Akt/PI3K jelátvitel in vivo vizsgálata patkány uterusban. **A Magyar Élettani Társaság (MÉT) LXX. Vándorgyűlése, Pécs, 2003**

Kovács KA, **Lengyel F.**, Környei, JL., **Szabó I.**

Akt/protein kináz B vizsgálata human uterus myometriumban és myomában. **Magyar Nőorvos Társaság Dél-nyugat Magyarországi Szekciójának V. Kongresszusa, Zalakaros, 2003**

Egyéb tudományos közlemények:

Környei J.L., Kovács K.A., Vértes Z., Gőcze P.M., **Lengyel F.**, Vértes M.: Ópiát-progeszteron kölcsönhatás eltérések a humán myometrium simaizomsejtek proliferációjának szabályozásában. **A Magyar Élettani Társaság LXXI. Vándorgyűlése, 2007, Pécs**

Környei JL, Kovács KA, Vértes Zs, Gőcze PM, **Lengyel F**, Vértes M

Altered opiate-progesterone interaction in the regulation of proliferation of human uterine leiomyoma cells. **Acta Physiologica Hungarica Vol 93 (2-3) p196, 2006**

Környei JL, Vértes Zs, **Lengyel F**, Kovács KA, Gőcze PM, Vértes M

Opiate-progesterone interaction in the regulation of the proliferation of human myometrial and endometrial cells. **Acta Physiologica Hungarica Vol 92 (3-4) p274, 2005**

Környei J.L., Zelkó A., **Lengyel F.**, Vértes Z., Kovács K.A., Vértes M.: Ópioid peptidek és progeszteron kölcsönhatása patkány uterus sejtek proliferációjának szabályozásában. **A Magyar Élettani Társaság LXVIII. Vándorgyűlése, 2004, Debrecen**

Környei J.L., Vértes Z., Kovács K.A., Gőcze P.M., **Lengyel F.**, Vértes M.: Ontogeny of opioid peptide action in rat uterine cells. **36th Annual Meeting of the Society for the Study of Reproduction, Cincinnati, Ohio, USA, Biology of Reproduction 68: Suppl. 1.: p.217., 2003**

Környei J.L., Vértes Z., Kovács K.A., Gőcze P.M., **Lengyel F.**, Vértes M.: Életkorfüggő opioid peptid hatás patkány uterus sejtekben. **A Magyar Élettani Társaság LXVII. Vándorgyűlése, 2003, Pécs**