

PÉCSI TUDOMÁNYEGYETEM

Biológiai és Sportbiológiai Doktori Iskola

Strukturális és neurokémiai változások az *Eisenia fetida* poszterior regenerációja során

PhD értekezés tézisei

Várhalmi Eszter

Témavezető:

Dr. (habil) Molnár László

egyetemi docens



Pécs, 2019

BEVEZETÉS

A gyűrűsférgekkel végzett kísérletek hozzájárultak a regeneráció alapfolyamatainak pontosabb megértéséhez. Speciális anatómiai organizációjuknak köszönhetően, mint a szegmentális felépítés, a zárt keringési rendszer vagy a testüregben szabadon áramló cölómasejtek megléte, hatalmas regenerációs potenciállal bírnak.

A szelvényregenerációs képesség fajspecifikusan eltérő lehet az Annelidá-kon belül. A regeneráció végbemehet epimorfózissal (blasztéma alapú regeneráció), illetve morfallaxissal (szöveti átrendeződés). Az epimorfózis során progenitor őssejtek, ún. neoblasztok aktivizálódnak és ezek alakítják ki a regenerációs blasztémát. A folyamat öt részre osztható úgymint sebzáródás, blasztéma kialakulás, blasztéma mintázás, differenciálódás és növekedés. Abban az esetben, amikor neoblasztok közreműködése nélkül, intakt sejtek újrendeződéséből alakul ki a testszelvény, morfallaxisról beszélünk. A reorganizációs kapacitás függ a sértés méretétől és az anatómiai pozíciójától, valamint a környezeti feltételektől. A regeneráció első lépéseként a bőrízomtömlő körkörös izomzatának gyors kontrakciója következtében összehúzóódik a vágási felület. Az ezután kialakuló regenerációs blasztéma különböző differenciálatlan sejtalakokból épül fel. Epiteleblasztokból, amik a testfal hámrétegéből származtathatóak, mioblasztokból, amelyek a bőrízomtömlő és a tápcsatorna izomzatának dedifferenciálódásából jönnek létre, endoblasztokból, amelyek a sértett középbél falának a folytatásaként helyezkednek el a blasztémában, és az ide vándorló mezodermális sejtekből. Ez utóbbiak a fagocitáló cölómasejtek, a splanchnopleurából származó kloragogén sejtek, illetve a mezodermális eredetű neoblasztok.

Az amputálást követően a regenerációs folyamatban a megújult szelvények fokozatosan fejlődnek a regenerációs blasztémából, amely a teljes ép állathoz hasonlóan axiális polaritással rendelkezik anterior - posterior irányban. A blasztémaformálódás pontos celluláris és molekuláris háttere részleteiben még nem ismert, azonban azt leírták, hogy az idegrendszeri struktúrák szignifikánsan befolyásolják a szelvényregeneráció folyamatának megindítását az Annelidák (gyűrűsférgek) poszterior regenerációjában. Különböző kísérleti eredmények születtek az egyes csoportokban, így egyértelmű bizonyíték nincs sem az idegi elemek szükségességére, sem pedig azok gátló hatására a regenerációban.

A gyűrűsférgek idegrendszere (más dúcidegrendszerű fajokhoz hasonlóan) neuroszekréciós sejteket nagy számban tartalmaz, amelyek főleg az agydúcban és a garatalatti

dúcban helyezkednek el. A sértés, szöveti károsodás hatására az idegrendszer trofikus és növekedési faktorokat, illetve hormonokat bocsáthat ki, melyek a perifériás szövetekben helyreállító (repair) mechanizmusokat aktiválnak és sejtproliferációt indukálnak a seb területén formálódó blasztémában. Lehetséges regenerációt szabályozó anyag a PACAP (Pituitary Adenylate Cyclase-Activating Peptide - hipofízis adenilát cikláz aktiváló peptid), amely a gerinces fajokban a sejtek növekedését és differenciálódását szabályozza, valamint fontos szerepe van az idegrendszer fejlődésének modulálásában is. Kimutatták, hogy idegi sérülések hatására a PACAP tartalom lokálisan megnövekedik, ami egyértelmű bizonyítéka annak, hogy fontos szerepe van a regenerációs folyamatok koordinálásában. A PACAP molekula széles körben elterjedt, primér szerkezete minden emlős fajban megegyezik és nagy hasonlóságot mutat az alacsonyabb gerincesekből izolált PACAP - fehérjékkel. A sejt és szövetmegújulás esszenciális folyamatok, melynek lépései igen hasonlatosak a különböző állatcsoportokban. Felsőbbrendűekben már leírták a PACAP neuroprotektív hatását és feltételezhető szerepét regenerációs folyamatokban, azonban gyűrűsféreg regenerációjában betöltött szerepét mindeddig nem vizsgálták.

Potenciális regenerációt befolyásoló faktorként számbavehető a GABA (Gamma-AminoButyric Acid - gamma-amino-vajsav), mely egy közismerten gátló hatású neurotranszmitter a gerinces agyban, viszont idegsejt differenciálódást szabályozó funkcióját is leírták. Szabályozó neurotranszmitterként részt vesz a regeneratív neurogenesisben, a progenitor neurális sejtek proliferációját és migrációját, valamint a neuroblasztok differenciálódását szabályozza. Ezen felül feltételezhetően a GABA felelős az újonnan képződött neuronsejtek szinaptikus integrálásáért is. Ezen eredmények nagy része gerinces idegrendszeren végzett kutatásokon alapszik és csak kevés információ áll rendelkezésünkre a GABA gerinctelenek regenerációjában betöltött szerepéről, annak ellenére, hogy Oligochaeta (kevéssertéjű) fajokban mind központi, mind pedig a perifériás idegrendszerben relatíve nagy számban mutattak ki GABA immunreaktív (GABA-IR) sejteket. A vizsgálatok leginkább a GABA-IR elemek morfológiai változásaira és a neurális struktúrák mintázatának differenciálódására korlátozódtak.

CÉLKITŰZÉS

Az idegi struktúrák regenerációt irányító hatása többszörös megerősítést nyert a szakirodalomban. Azonban napjainkban sem ismerjük pontosan, hogy mi történik a szelvények eltávolítása utáni közvetlen időszakban, hogyan reagálnak a sérült szervek/szövetek a műtéti traumára; hogy a szelvények és az azokban elhelyezkedő szervek újraképzése során hogyan illeszkednek egymással a régi és az új szerkezeti elemek; azonos szöveti mintázat jellemzi-e a regenerált és az eredeti szelvények egyes szerveit. Az sem ismert, hogy a regenerációs folyamatok irányításában a lokális idegrendszeri hatások mellett mekkora szerepet játszhatnak a keringéssel szállított hormonok, illetve a mezodermális eredetű cölómasejtek.

- Emiatt csonkolást követően a műtéti trauma következtében kialakuló szöveti elváltozások időbeli folyamatának feltárására törekedtünk annak érdekében, hogy a regeneráció korai folyamatait, valamint a regenerációs blasztéma kialakulásának módját alaposabban megismerjük. Vizsgálatainkban a szöveti mintázat elemzésére összpontosítottunk, hogy a regenerációs folyamat precizitását, az anatómiai mintázathűséget megállapíthassuk.
- Szükségnek tartottuk annak tanulmányozását, hogy az amputálás után a hasdúcok transzmitter specifikus (PACAP és GABA pozitív) neuronjai befolyásolják-e és ha igen, milyen módon a regenerációs blasztéma képződését, illetve differenciálódását.
- A transzmitterek/hormonok lehetséges moduláló hatásának bizonyításához a PACAP szöveti koncentráció regeneráció alatti változásainak vizsgálatát tartottuk szükségesnek RIA (RadioImmunoAssay) mérések alkalmazásával.
- Immunhisztokémiai (PACAP és GABA festés) módszerekkel a transzmitter specifikus neuronok mintázatát elemezve a regeneráció pontosságát tanulmányoztuk.
- Az első két szelvény, az agydúc és a garatkonnektívum eltávolítását követően a poszterior szelvényregenerációt befolyásoló lokális idegrendszeri és hormonális hatásokat vizsgáltuk.
- A regeneráció cölómasejteket stimuláló hatását mind a regenerálódó, mind a műtéti helytől távolabb eső szelvények szesszilis és szabadon áramló frakcióinak hisztológiai tanulmányozásával tartottuk lehetségesnek.

ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

Kísérleti állatok

Kísérleteinkhez kifejlett (szexuálisan érett, klitellummal rendelkező) *Eisenia fetida* (Annelida, Oligochaeta) egyedeket használtunk fel. A regenerációkinetikai vizsgálatokhoz az állatokat négy csoportra osztottuk, mindegyik csoport 10 db állatból állt. Az első csoportnál levágtuk az első két szelvényt, a második csoportnál kivettük az agyat, a harmadik csoportnál kivágtuk mindkét oldalon a garatkonnektívumot, az utolsó csoportnál nem végeztünk anterior amputációt, ezt használtuk kontrollnak. A testeleti műtéteket követően mindegyik csoportnál a klitellum mögötti 25. szelvényénél amputáltuk a poszterior szegmenseket.

Szövetteni vizsgálatok

A testvég csonkolása után a kísérleti állatok csoportjait 1, 3, 6, 24 és 72 óra, illetve egy hét múlva szövettani vizsgálatokra használtuk fel. A hisztológiai vizsgálatokhoz a kísérleti állatok műtött testszelvényeit az előttük elhelyezkedő öt intakt szelvényvel és a már regenerálódó szelvényekkel együtt levágtuk, majd a vizsgálati célnak megfelelő rögzítőoldatokban fixáltuk. A szöveti blokkokból keresztmetszeteket és hosszmetseteket készítettünk, amelyeket hematoxylin-eozin festéssel kontrasztosítottunk.

Ultrastruktúrális vizsgálatok

Az elbódított kísérleti állatokból kiboncolt regenerálódó szelvényeket frissen összeállított, 4 °C-os módosított Karnovsky-oldatban (5 % glutáraldehid (GA) és 4% paraformaldehid 0,2 M-os kakodylát pufferben oldva) fixáltuk, majd 2%-os ozmium-tetroxid oldattal utófixáltuk. Ezután pufferes mosás és víztelenítést követően a mintákat propilán-oxid és Durcupan műgyantába helyeztük 2-2 órára szobahőmérsékleten. A blokkokból ultravékony metszeteket készítettünk, melyeket uranil-acetáttal és ólom-citráttal kontrasztosítottuk, majd transzmissziós elektronmikroszkóppal vizsgáltuk.

Immunhisztokémia vizsgálatok

Preparációt követően a mintákat Boer-oldatban fixáltuk szobahőmérsékleten. A fixálás után pre-embedding immunfestést hajtottunk végre anti-GABA primer antitesttel (A2052), illetve

PACAP27 (88121-5), valamint PACAP38 (88111-3) antiszérumokat alkalmazva. Az immunjelöléseket avidin-biotin-peroxidáz komplex (ExtraAvidin 5 kit) és 3,3'-diaminobenzidin (DAB) oldat segítségével vizualizáltuk.

Elektronmikroszkópos mintáinkat fixálást követően víztelenítettük, propilén-oxiddal derítettük, epoxi-gyantába ágyaztuk, majd a blokkokból ultravékony metszeteket készítettünk. Az immunpozitív struktúrákat immunarany jelöléssel mutattuk ki.

PACAP Radioimmunoassay (RIA) mérések

A RIA kísérletekhez az egy hetes regenerált egyedek, valamint kontrollcsoportként sértetlen állatok megegyező szelvényeit használtuk fel. Vizsgáltuk a regenerált bőrizomtömlőt, gangliont és a tápcsatornát. A szelvényeken kívül a cölómasejtek PACAP koncentrációját is megvizsgáltuk. A cölómasejteket a regenerált és az előtte lévő 5 ép szelvényekből együtt, illetve a teljesen intakt szelvényekből izoláltuk. A vizsgálatra szánt mintákat homogenizáltuk, centrifugáltuk, majd a PACAP mennyiségi meghatározásához a felülúszókat használtuk. Foszfátpufferbe kihígított antiPACAP27 illetve 38 antiszérumot, RIA tracet (radioaktív jódtól izotóppal jelölt PACAP fragmens) és szintetikus PACAP27/38 ismert koncentrációjú hígítását vagy ugyanennyi mennyiségű ismeretlen mintát mértünk. Inkubáció után az antitesthez kötött komplexeket elválasztottuk a nem kötődő antitestektől és a precipitátum radioaktivitását gammaszámlálóval mértük.

EREDMÉNYEK ÉS MEGBESZÉLÉS

Szövetteni vizsgálataink során megállapítottuk, hogy az átvágott (sértett) szelvényben rendkívül dinamikus szövetteni elváltozások játszódnak le, amelyek a szelvény minden szervét, szövetét érintik. Az amputációt követően már a regeneráció korai fázisában a sérült perifériás szöveti felszínek (bőrizomtömlő, bélhám) közelében nagy számban halmozódtak fel kisméretű, eozinofil citoplazmájú sejtek, amelyeket dedifferenciálódott izomsejtekként azonosítottunk. Ezek részben a bőrizomtömlőből, részben a bélizomzatból származtak. Közöttük elszórva találtunk szabadon áramló cölómasejt típusokat (eleociták, granulociták) és néhány kloragogén sejtet. Az általunk végzett hisztológiai vizsgálatok eredményei arra utalnak, hogy a korábbi feltételezéssel szemben a sebzáródásban alapvetően nem a szabadon áramló cölómasejtek, hanem a gyorsan dedifferenciálódó izomsejtek játszanak meghatározó szerepet.

Korábbi összefoglaló munkákban a kutatási eredmények alapján a totipotens őssejtek, a neoblasztok jelentőségét hangsúlyozták a regenerációs folyamatokban. A neoblasztok regenerációt meghatározó szerepét a gyűrűsférgekben az újabb kutatási eredmények megkérdőjelezi. Ismertek olyan regenerálódó gyűrűsférgek, például az *Enchytraeus buchholzi*, amelyekben neoblasztokat nem találtak és mégis képes volt a poszterior regenerációra. Illetve a legújabb time-lapse videomikroszkópos eredmények kimutatták, hogy a regeneráció során a neoblasztként azonosított sejtek egy része nem a sérüléshez vándorol. Szövetteni metszeteinken neoblasztokra emlékeztető formákat csak alacsony számban találtunk, amelyek egy része a regenerálódó hasdúc és a bél közötti területen jellegzetes sorokba rendeződve tömörültek. Ezek a magas sejtmag-citoplazma aránnyal jellemezhető neoblasztok számos nyúlvánnyal rendelkeztek, amelyek között szoros sejtkontaktusokat mutattunk ki. Emiatt ezeket a sejteket már inkább neuroblasztoknak megfelelő sejtalakoknak tekintettük. Ezen eredmények tehát arra utalnak, hogy a neoblasztokból feltehetően csak idegi struktúrák alakulnak ki.

A regeneráció során nemcsak a sértett szelvény szöveti mobilizálódnak, hanem a szomszédos szelvényekben is intenzív szövetátalakulási folyamatok zajlanak. Kimutattuk, hogy a sértés közvetlen közelében nagy számban jelentek meg granuláris és agranuláris cölómasejtek, melyek jelenléte alátámasztja a már korábban -morfológiai sajátosságaik alapján- felvetett hipotézist, miszerint ezeknek a sejtalakoknak szerepük lehet a protektív és a trofikus folyamatokban. A korai irodalmakkal szemben az eredményeink azt mutatták, hogy a regenerációs

blasztéma nemcsak amőbocitákat és eleocitákat tartalmaz, hanem nagy számban találtunk a regenerálódó testvégekben granulocitákat, amelyek szintén bioaktív anyagok szállításában vehetnek részt. Emellett a cölómasejtek fagocitáló képességük révén a sérült sejtek, szövettörmelékek eltávolításával lehetővé teszik a régi és az új struktúrák kapcsolódását. A sértett szelvény előtt elhelyezkedő 4-5 szelvényben a fagocitáló amőbociták mellett fagocitáló kloragogén sejteket is találtunk, amelyek degenerálódó izomsejtek, szöveti törmelékek eltakarításában vettek részt. Ezen eredményeink ellentmondanak a korábbi vélekedéssel, miszerint a kloragogén sejtek nem képesek a fagocitózisra.

A szelvény szöveteinek átvágása után felszabaduló hám- és izomeredetű szöveti faktorok, valamint a sérült idegsejtekből felszabaduló vegyületek a sérült dúc neuronjainak gyors degenerálódását idézték elő a 2. és 3. szegmentális idegek gyökeréig. A sérült ganglion idegsejtjeiben megfigyelt kromatolízis lokalizációi egybeestek a későbbi regenerációs fázisokban tapasztalt neurondegenerációval. Mivel a szövettani metszeteinken a korai regenerációs fázisban alapvetően a gangliondegeneráció volt jellemző, a mi eredményeink arra utalnak, hogy a regeneráció kezdeti szakaszában, az általánosan elfogadott modellel szemben nem az idegrendszeri hatások lehetnek a meghatározó tényezők.

Kísérleti eredményeink szerint a sértett hasdúc centrális neuropiljében futó vékonyabb rostok, különösen a dorzális oldalon futók nagy számban regenerálódtak, míg a dorzális óriásaxonok az átvágás után a szelvényhatárig degenerálódtak. A ganglion neuropiljének dorzális oldalán futó vékony rostok (pl. a GABA immunreaktív poliszegmentális rostok) viszonylag nagyméretű perikaryonokból indultak ki, emiatt a rostok csonkolásával kisebb mértékű trauma érte a neuronokat, amelyek így képesek voltak a nyúlványaik regenerálására. A regenerálódó hasdúc-lánc totálpreparátumainak vizsgálata (GABA-IR struktúrák azonosítása) bizonyította, hogy az első két-három újraképzett ganglion mérete, szegmentális idegeinek száma és GABA-IR neuronjainak mintázata eltérhet mind az eredeti, mind a legtöbb regenerált ganglionétól. Ezek az eredmények arra utalnak, hogy az új ganglionok kialakításában meghatározó szerepe van a hasdúc-lánc túlélő neurális struktúráinak. A ganglion dorzális oldalán regenerálódó nyúlványok a ganglionból kilépve behatolnak a ganglion mögött lazán elhelyezkedő mioblasztok és neoblasztok közé és „anatómiai állványzat”-ként irányítják a vándorló neoblasztok letapadását a regenerálódó

ganglion és a bélcsatorna között, illetve a belőlük felszabaduló vegyületek (pl. PACAP-szerű peptidek, GABA) a sejtproliferáció és differenciálódás folyamatait szabályozhatják.

GABA immunhisztokémiai vizsgálataink során GABA expresszált neurális elemeket mutattunk ki a valamennyi regenerációs állapotban. A GABA pozitív struktúrák korai megjelenése arra enged következtetni, hogy ennek az anyagnak regenerációt indukáló szerepe lehet, továbbá alátámasztja azt a hipotézist, miszerint a neurális struktúráknak -más szabályozó faktorok mellett - kiemelkedő szerepe lehet a szöveti regeneráció szervezésében. Néhány esetben, aszimmetrikus eloszlást is megfigyeltünk a sértést követő regenerált ganglionban, amelyek arra engednek következtetni, hogy a központi neurális mintázat formálásában amputáció okozta információs hiány lépett fel. A vágástól távolabb eső regenerációs dúcokban a mintázatinformáció helyreállt. Az aszimmetrikus sejtelrendeződésű ganglionok léte a már regenerálódott állatban azt mutatja, hogy a bilaterális szerveződése a GABAerg sejteknek nem szükségszerű velejárója az állat teljes regenerációjának. A központban elhelyezkedő GABA-IR neurális elemek regenerációját a periférián elhelyezkedő struktúrák szegmentális epimorfotikus regenerációja követi. Vizsgálataink eredményeink alapján, megállapíthatjuk, hogy a GABA jelentős szerepet játszhat a regenerációs folyamatokban. A korai megjelenése és folyamatos expressziója alapján arra következtethetünk, hogy a regeneráció folyamatának modulálásában és a szenzoros, valamint motoros funkció reorganizációjában vehet részt. Azonban a teljes és pontos mediátorfunkció, valamint a részletes hatásmechanizmusok feltárásához további molekuláris, hisztológiai és elektrofiziológiai vizsgálatokra van szükség.

Vizsgálataink során kimutattuk, hogy kaudális sértést követően a sértett szelvény bizonyos szöveteiben megnövekedett a PACAP-szerű vegyületek koncentrációja a gilisztában. PACAP-szerű immunreaktivitást detektáltunk a regenerálódó szelvény különböző sejteiben és szöveteiben. Kimutattuk, hogy a PACAP-szerű molekulák előfordulása egy rostromaudális grádiens mentén változik a regenerált giliszta cölómasejtjeiben. Ezek alapján arra következtethetünk, hogy a cölómasejtek transzportálhatják (vagy akár maguk szintetizálhatják) ezeket az anyagokat a regenerált szelvények területén. A cölómasejtek trofikus és transzport funkciókban betöltött szerepét már korábban kimutatták. Egy másik tanulmány a cölómasejtek hormonszekréción, transzportban és hormonhatás megszüntetésében betöltött lehetséges szerepét is felveti. A PACAP-szerű vegyületek gilisztában nemcsak, mint mediátor anyagok

vehetnek részt a regeneráció folyamatában, hanem módosíthatják az egyes -fagocitózisban, illetve gyulladáscsökkentő hatásokban részt vevő- cölómasejtek viselkedését.

A megnövekedett PACAP-szerű anyagok koncentrációja a testfalban, valamint a tápcsatornában, amely mind a regenerációs blasztéma, mind az intakt, eredeti szövet területén kimutatható volt, azt mutatja, hogy ezek az anyagok hatással lehetnek a giliszta regenerációs folyamataira. Mivel számos immunjelölt neoblasztot találtunk a regenerált szelvényekben, különösen a regenerációs blasztéma területén, arra a következtetésre jutottunk, hogy a PACAP-szerű anyagoknak stimuláló hatásuk lehet mind a sejtciklusra, mind pedig a neoblasztok differenciálódására neurális irányba. A mi vizsgálataink kimutatták, hogy PACAP, vagy PACAP-szerű peptidek akkumulálódnak a giliszta regenerációs szöveteiben. Ezek alapján feltételezhetjük, a PACAP ezekben az állatokban is, hasonlóan a gerincesekhez trofikus funkciót tölthet be.

ÖSSZEFOGLALÁS

Az *Eisenia fetida* poszterior regenerációjának folyamatát tanulmányoztuk a nyereg mögötti 25. szelvény sztenderd sebészeti eltávolítása után anatómiai, hisztológiai, immunhisztokémiai és radioimmunoassay módszerekkel. Eredményeink alapján a szelvényregeneráció folyamatának új modelljére teszünk javaslatot. Kimutattuk, hogy a sebzáródásban a bélcsatorna és a bőrízomtömlő dedifferenciálódó hám- és izomsejtjeinek van meghatározó szerepe, bár a folyamatban cölómasejtek is részt vesznek. Megállapítottuk, hogy a sérült hasdúc neuronjai a 2. és 3. szegmentális idegek gyökeréig elpusztulnak és a neuropil dezorganizációja is megfigyelhető. A sértett szelvényben és szomszédjaiban fagocitáló cölómasejtek halmozódnak fel, amelyek a sértett sejtek, a szövettörmelék bekebelezésével, megemésztésével és az alapvető biomolekulák felszabadításával járulnak hozzá az új szövetek kialakulásához. A hasdúclánc mögött kialakuló regenerációs blasztémában főleg mioblasztok, szabad cölómasejtek és szórványosan bazofil neoblasztok fordulnak elő, bár utóbbiak többsége a sérült hasdúc dorzális oldala és a bélcsatorna között helyezkedik el. A regenerálódó bélcsatorna hámrétege az eredeti bélcsatorna hámból, izomrétege az eredeti bélizomzatból alakul ki. Hasonló szövettani átalakulások jellemzik a regenerálódó bőrízomtömlőt. A hasdúclánc regenerációjában a neoblasztok játszanak szerepet, amelyek az anatómiai állványzatot formáló, a sérült hasdúcból kirajzó neurális nyúlványokhoz és kapillárisok falához tapadnak hozzá. Feltehetően ezzel magyarázható, hogy az eredeti hasdúchoz kapcsolódó első (néha második és harmadik) regenerálódó ganglion rendellenes anatómiai és szövettani szerveződésű. Azaz a közvetlen idegrendszeri hatások fontosak, de nem meghatározó jelentőségűek a szelvényregeneráció folyamatában. Kimutattuk, hogy a poszterior szelvények eltávolítása után nemcsak a sértett, hanem a szomszédos 3-5 szelvény működése is megváltozik (szabad cölómasejtek felhalmozódása, fagocitáló klorogén sejtek kialakulása). Exstirpációs kísérleteink (agydúc, garatkonnektívumok, prosztómium és az első testszelvények eltávolítása) eredményei a regeneráció hormonális (neuroendokrin) szabályozásának jelentőségére, valamint a földigilisztákban eddig nem ismert perifériás neurohemális szervek (prosztómiom és az első két szelvény), endokrin szervek (nyereg, metanefridiumok) regeneráció szabályozásában játszott lehetséges szerepére hívják fel a figyelmet. Részletesen elemeztük a GABA és a PACAP-szerű peptidek szerepét a regenerációs blasztéma kialakulásának irányításában és a szöveti differenciálódás befolyásolásában, hangsúlyozva, hogy ezekhez a vegyületekhez hasonlóan több neurotranszmitter és neurohormon befolyásolhatja a szelvényregenerációt.

KÖZLEMÉNYEK JEGYZÉKE

A disszertáció alapjául szolgáló publikációk jegyzéke

- Várhalmi E**, Somogyi I, Kiszler G, Németh J, Reglődi D, Lubics A, Kiss P, Tamás A, Pollák E, Molnár L. (2008) Expression of PACAP-like compounds during the caudal regeneration of the earthworm *Eisenia fetida*. *J Mol Neurosci* 36:166–74. IF: 2,061
- Somogyi I, Boros A, Engelmann P, **Várhalmi E**, Németh J, Lubics A, Tamás A, Kiss P, Reglődi D, Pollák E, Molnár L. (2009) Pituitary adenylate cyclase activating polypeptide (PACAP)-like compounds could modulate the activity of coelomocytes in earthworm. *Annals of New York Academy of Sciences* 1163:521–23. IF: 2,67
- Kiszler G, **Várhalmi E**, Krecsák L, Solt Zs, Pollák E, Molnár L. (2016) GABA immunoreactive elements in the sensory system of the earthworm *Eisenia fetida* (Annelida, Clitellata). *ISJ Invert Surviv J* 13:172-85. IF: 0,824
- Molnár L, **Várhalmi E**, Abufadda M, Somogyi I, Pollák E. (2019) Time course of the tail regeneration in the earthworm *Eisenia andrei* I: Early histological and histochemical alterations of the transected ventral nerve cord and its surrounding structures till the 7th postoperative day. (In preparation)

A disszertáció alapjául szolgáló konferencia előadások és poszterek jegyzéke

- Várhalmi E**, Somogyi I, Kiszler G, Pollák E, Lubics A, Reglődi D, Shioda S, Molnár L. (2007) Does PACAP influence invertebrate nervous system regeneration? *J Mol Neurosci* 33(3):333-333.
- Somogyi I, **Várhalmi E**, Pollák E, Reglődi D, Shioda S, Lubics A, Molnár L. (2007) PACAP and PAC1 receptor immunoreactivity in some coelomocytes of the regenerating *Eisenia fetida*. *J Mol Neurosci* 33(3):332-332.
- Somogyi I, **Várhalmi E**, Engelmann P, Opper B, Boros Á, Németh J, Lubics A, Reglődi D, Pollák E, Molnár L. (2009) Pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide (PACAP) modulates the activity of coelomocytes during the regeneration of the ventral nerve cord ganglia in the

earthworms. 8th Göttingen Meeting of the German Neuroscience Society, Göttingen, Germany. Poszter absztrakt.

Várhalmi E, Somogyi I, Kiszler G, Pollák E, Lammel K, Lubics A, Regládi D, Németh J, Molnár L. (2008) Possible role of PACAP in regeneration of the ventral nerve cord ganglia of the earthworm: a biochemical and immunohistochemical approach. International IBRO workshop, Debrecen, Hungary, 24-26 January 2008. Poszter absztrakt.

Várhalmi E, Somogyi I, Kiszler G, Pollák E, Lammel K, Lubics A, Regládi D, Németh J, Molnár L. (2008) Possible role of PACAP in regeneration of the ventral nerve cord ganglia of the earthworm: a biochemical and immunohistochemical approach. *Ideggyógyászati szemle* 61(S1):66-67.

Várhalmi E, Somogyi I, Kiszler G, Pollák E, Lubics A, Regládi D, Shioda S, Molnár L. (2007) Does PACAP influence invertebrate nervous system regeneration? 8th International Symposium for VIP, PACAP and Related Peptides, Manchester, Vermont (USA). 3-8 September 2007. Poszter absztrakt.

Somogyi I, **Várhalmi E**, Pollák E, Regládi D, Németh J, Shioda S, Matsuda K, Lubics A, Molnár L. (2007) PACAP and PAC1 receptor immunoreactivity in some coelomocytes of the regenerating *Eisenia fetida*. 8th International Symposium on VIP, PACAP and Related Peptides, Manchester, Vermont, USA. Poszter absztrakt.

Boros Á, Pollák E, Regládi D, **Várhalmi E**, Somogyi I, Kiszler G, Lubics A, Németh J, Molnár, L. (2007) PACAP isoforms and Pac1 receptors are expressed in the regenerating ventral nerve cord ganglia of the earthworm *Eisenia fetida*. 11th Symposium on Invertebrate Neurobiology, Tihany, Hungary. Poszter absztrakt.

Egyéb tudományos közlemények jegyzéke

Paulik R, Micsik T, Kiszler G, Kaszál P, Székely J, Paulik N, **Várhalmi E**, Prémusz V, Krenács T, Molnár B. (2017) An optimized image analysis algorithm for detecting nuclear signals in digital whole slides for histopathology. *Cytometry Part A* 91: 595-608. IF: 3,0

Kiszler G, **Várhalmi E**, Berta G, Molnár L. (2012) Organization of the sensory system of the earthworm *Lumbricus terrestris* (Annelida, Clitellata) visualized by DiI. *J Morphol* 73:737-45.

IF: 1,602

Egyéb konferencia előadások és poszterek jegyzéke

Kiszler G, **Várhalmi E**, Berta G, Molnár L. (2009) Anatomical and neurochemical organization of the sensory system of the earthworm *Lumbricus terrestris*. 8th Göttingen Meeting of the German Neuroscience society, Göttingen, Germany, 25-29 March 2009. Poszter absztrakt.

Kiszler G, **Várhalmi E**, Pollák E, Molnár L. (2008) Organisation of the sensory system of the earthworm body wall: a DiI tracing study. IBRO Konf. Debrecen. Poszter absztrakt.

Tudományos közlemények összesített impaktja:

Disszertáció témakörében megjelent publikációk: 5,555

Összes publikáció: 10,157

Nyilvános idézők összesen: 34

Független idézők: 21