Ph.D. értekezés tézisei

AZ OPIOID - ÖSZTRADIOL 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, élettani működésének irányításában. Az uteruszban a sejtproliferáció egyik fő stimulátora. Emellett a centrális gonádregulációs 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 transzkripciós faktorok családjába tartozik. Az ER-ok aktivációt követően a magban dimer formában kapcsolódnak a DNS ösztrogénre-válaszadó-szakaszához (estrogen-responsive-element, ERE), ahol transzkripciós hatást fejtenek ki. Az ER-ok a klasszikus, specifikus ERE-n keresztül kifejtett transzkripciós hatásuk mellett alternatív úton is befolyásolhatják a génexpressziót. Újabb kísérletek azt igazolták, hogy az ösztrogének általános transzkripciós 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 válaszkészségétől függ, melyet alapvetően meghatároz a sejtben található ER-ok jelenléte és ezek hormonkötő tulajdonsága, de emellett számos egyéb lokális faktor, hormon játszik szerepet az ösztrogén-indukált hatások kialakulásában. Az utóbbi évek vizsgálata szerint az ER, mint ligand-aktivált transzkripciós faktor és különböző növekedési faktorok, ciklinek, neurotranszmitterek hatásaiban intracelluláris szinten párbeszéd van, és így az ösztrogén hatásra kialakuló biológiai válasz a célsejt aktuális állapotától függ, amelyet az adott szövetre jellemző parakrin tényezők összessége határoz meg.

Az endogén opioid peptidek klasszikus, fájdalomcsillapításban betöltött szerepét számos irodalmi adat alátámasztja. Az utóbbi évtizedek vizsgálatai rávilágítottak arra, hogy az opioid peptidek számos endokrin folyamat, így a gonádműködés szabályozásában is szerepet játszanak. Az opioid peptidek és receptoraik megtalálhatók a hím és nőstény patkányok gonádregulációért felelős hipotalamikus területein és az uteruszban. Az opioid peptidek hatásaikat membránreceptorok (G-proteinek) közvetítésével fejtik ki. Az utóbbi időben előtérbe került az endogén opioid peptidek transzkripciós hatásainak vizsgálata is. Kimutatott,

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

Korábbi, laboratóriumunkban végzett vizsgálataink kimutatták, hogy D-Met^2-Pro^5-enkephalinamid (ENK), szintetikus opioid agonista peptid, in vivo gátolja a DNS szintézist és a sejtproliferációt a fejlődés alatt patkány agyban, hipotalamuszban és uteruszban, valamit ivarérett korban az ösztrogén-indukált sejtszaporodást az uteruszban.

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

Célkitűzések

Figyelembe véve az opioidok és a gonádhormonok szoros sejtspecifikus kölcsönhatását, valószínűsíthető, hogy az ösztrogén által kiváltott folyamatokban az opioid peptidek parakrin faktorként is szerepet játszanak.

Kísérleteink célja a laboratóriumunk eddigi eredményeire támaszkodva az endogén opioid peptidek és az ösztrogén hatásmechanizmusában megnyilvánuló intracelluláris kölcsönhatás vizsgálata volt. In vivo vizsgálatainkat patkányban egy centrális, a gonádregulációban 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-ösztradiol (E2) kölcsönhatás receptoriális mechanizmusának vizsgálata során választ kerestünk arra, hogy az endogén opioid peptidek hatással vannak-e a vizsgált szövetekben az ER rendszer működésére, ezen belül
   a./ az ER és progeszteron receptor (PR) fehérjék mennyiségére,
   b./ az ER-k hormonkötési 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 peptidek 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 szöveten végeztük, szükségszerűen felmerült a kérdés, hogy az E2 - opioid interakcióban megfigyelhető-e sejtspecificitás.

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

Módszerek

Anyagok

Hormonkötődési vizsgálatainkban 2-,4-,6-,7-[^{3}H]-ösztradiolt használtunk (specifikus aktivitása 3.4 TBq/mmol, MTA, Budapest, Magyarország). A kezelések során használt D-Met^2-Pro^5-enkefalinamid, 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 progeszteron receptor (PR) fehérje detektálására Immunotech (Marseilles, Franciaország) antitesteket használtunk.

Állatok és kezelési csoportok

Kísérleteinket CFY patkányokon végeztük. Vizsgálataink első részében 2 hónapos, ovariektomizált, nőstény állatokat használtunk. ENK kezeléseket alkalmaztunk, egyrészt krónikusan bőr alá ültetett ozmotikus minipumpa segítségével, amely állandó 5 μg/óra

dózisban bocsátotta ki az ENK-t 72 órán keresztül. A patkányokat 24, 48, 72 órával az ENK tartalmú minipumpa beültetését követően dekapitáltuk. A kontroll csoport állatainak fiziológiás 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 ivaréretlen 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 eltávolítottuk, a hipotalamusz ösztrogén-érzékeny területeit durva disszekciós technikával izoláltuk. Az így nyert szövetek tartalmazták az area preopticát, a hipotalamusz anterior-és basalis területeit, valamint az eminencia medianát. Kontrollként az állatok lépéből kivágott szövetmintákat használtunk.

Hormonkötődési vizsgálatok

Az állatok uteruszát és hipotalamuszának ösztrogén-érzékeny területeit összegyűjtöttük, majd durva sejtmagfrakciót izoláltunk, melyben a specifikus [^{3}H]-ösztradiol 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-lineális 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 összfehérje izolálást követően fehérje koncentráció mérést végeztünk (BioRad Protein Assay). A vizsgált fehérjék szintjét Western blot technikával analizáltuk. Az izolátumokból mintánként 50 μg fehérjét 10%-os SDS polyacrilamid gél elektroforézissel szeparáltunk. A fehérjéket nitrocellulóz membránra vittük félszáraz blottoló tecnikával (Trans-Blot SD, BioRad). A membránokat blokkolást követően, az adott első

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

Az AP-1 transzkripciós faktor aktivitásának meghatározása

Az AP-1-DNS kötődés mértékét magfehérje izolálást követően EMSA (electrophoretic mobility shift assay) technikával detektáltuk. Kísérleteinkben tranzin-promóter AP-1 kötőhelyét tartalmazó konszenzus oligonucleotid (5'-GCAATTATGAGTCAGTTTGC-3') próbát használtunk. Specificitási vizsgálatainkban 100-szoros túlsúlyban jelöletlen vagy mutáns Zif268 kötőhelyet tartalmazó (5'-CAGACAGCGTGGGCTGTGGC-3') oligonukleotid szekvenciát használtunk. A DNS-fehérje komplexeket 5%-os nem-denaturáló polyacrilamid géleken szeparáltuk. A gélek radioaktivitását szárítást követően Cyclone phosphor imagerrel (Bio-Rad) detektáltuk.

Statisztika

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 szöveteiben D-Met^2-Pro^5-enkephalinamid kezelés hatására az ER és PR mennyiségében, valamint az ER-ok hormonkötési tulajdonságaiban sejtspecifikus változások figyelhetők meg. A hatás a kezelések után eltelt időtől függ.

Kísérleteinkben krónikusan ENK-dal implantált patkányokban 2 órás E2 kezelést követően vizsgáltuk a [^{3}H]-ösztradiol 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 területein 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 [^{3}H]-ösztradiol kötődésben csak a magas affinitású kötőhely mutatható ki.

Patkány uteruszban 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 [^{3}H]-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 szöveteiben az ösztrogén és az ENK között szövetspecifikus transzkripciós szintű kölcsönhatás van.

Kísérleteinkben akut ENK kezelés hatásait vizsgáltuk az AP-1 fehérjék szintjére, valamint transzkripciós aktivitására E2-lal kezelt és kezeletlen patkányokban. A vizsgált szövetekben sejtspecifikus változásokat tapasztaltunk.

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

A hipotalamuszban az ENK kezelés hatására idő- és dózisfüggést mutatva 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 vizsgálataink 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 csökkenését eredményezi.

Ivarérett nőstény patkány uteruszban végzett kísérleteink szerint ENK és ösztrogén adása után idő- és dózisfüggést mutatva 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 kezelések hatására nem változik.

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

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

Fejlődő nőstény patkányok hipotalamuszában E2 hatás csak 21 napos korban mutatható ki, amikor is az AP-1 aktivitás fokozódik. ENK az E2-indukált változásokra nincs hatással. Az ivarérett 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 hipotalamuszában már 5 napos korban a felnőtt nőstény állatokra jellemző csökkenés figyelhető meg az AP-1 kötődésben E2 adása után a c-Jun fehérjék mennyiségének csökkenésével párhuzamosan, melyet előzetesen adott ENK meg kifejezettebbé tesz. 14 napos kortól kezdődően azonban az AP-1 transzkripciós folyamatok elvesztik ösztrogénre és ENK való érzékenységüket.

Fejlődő patkány uteruszban is korfüggő változásokat tapasztaltunk. 5 és 14 napos korban az E2 kezelés nem befolyásolja az AP-1 aktivitást. 21 napos korban, a felnőtt állatokban megfigyeltekkel egyezően, 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 uteruszban 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 ösztrogén-érzékeny sejtjeire. A hatás egyrészt közvetlenül a GnRH sejteken, másrészt interneuronok közvetítésével, neurotranszmitterek és neuromodulátorok közvetítésével jön létre.

Ismert, hogy az endogén opioid peptidek tónusosan gátolják a hipotalamuszban a GnRH szekréciót. A peptidek 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 ivarérett nőstény patkányok hipotalamuszának ösztrogén-érzékeny területein az ER-ok számában és ösztrogén kötő tulajdonságaiban, 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 létrejövő ERalpha fehérje szint csökkenés mindenképpen ösztrogén hatás csökkenést von maga után a hipotalamuszban. Immuncitokémiai 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 sejtekben. Ehhez társul az ERbeta fehérjék mennyiségének emelkedése, mely feltételezhetően a GnRH sejteket is érinti. Tehát ENK hatására az egész szövetben megváltozik az ösztrogén recepció, ami a transzkripciós folyamatokra, így a GnRH gének expressziójára is kihathat. Eredményeink ismeretében úgy tűnik, hogy ivarérett korban az opioid peptidek szerepet játszhatnak az ösztrogén GnRH elválasztásra gyakorolt feed-back hatásainak mediálásában.

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

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

Uteruszban az ösztrogének a sejtproliferációban 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 peptidek sejtproliferációt gátló hatásáról számos irodalmi adat áll rendelkezésre. Az opioid peptideket és receptoraikat megtalálhatjuk az uteruszban, bár szerepük jelenleg nem tisztázott. Laboratóriumunk korábbi eredményei szerint patkány uteruszban, felnőtt korban az opioid rendszer aktivációja csökkenti a sejtképződés mértékét, ez a hatás humán uterusz sejtek tenyészetében is kimutatható volt. Emellett uteruszban az opioid peptidek az ösztrogén proliferatív hatásaiban szerepet játszó parakrin növekedési faktorok működését is befolyásolják. ENK kezelés hatására patkány uterusz EGF tartalma csökken, valamint in vitro sejtkultúrában gátlódik az EGF-indukált sejtproliferácó.

Jelenlegi eredményeink azt mutatják, hogy ENK kezelés hatására az uterusz sejtek ERalpha és PR tartalma csökken, az ER-ok hormonkötő sajátságaiban 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 peptidek uteruszban megfigyelt antiproliferatív hatásaiért az ER és PR mennyiségének és transzkripciós hatásának megváltozása is felelős lehet.

A fejlődés során az opioid - ösztrogén kölcsönhatás az uteruszban más jellegű, mint felnőtt 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. Felnőtt korban az uterusz sejtek 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 uterinális sejtproliferáció szabályozásában a fejlődés során két szakasz különíthető el. Az élet első 3 hetében az E2 nem hat a sejtképződésre, azt döntően növekedési faktorok (EGF, IGF) szabályozzák. Adataink szerint ebben a fejlődési szakaszban ENK hatásra csökken az

uteruszban az EGF tartalom, és az EGF receptorok száma, valamint a sejtképződés mértéke. 21 napos kor után az uterusz fejlődését meghatározóan az E2 irányítja, kialakul az AP-1 fehérjék ösztrogén-érzékenysége, és az opioid peptidek csak az E2-indukált sejtproliferációt képesek gátolni. Ezen megfigyelések alapján jelenlegi eredményeink valószínűsítik, hogy az uterusz 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 peptidek és az ER rendszer között többszintű, intracelluláris kölcsönhatás van, mely felelős lehet az ösztrogén-érzékeny szövetekben létrejövő életkortól függő válaszokért, a sejt, a szerv homeosztatikus működéséért.

A témához kapcsolódó tudományos közlemények

Folyóiratcikkek:

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

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

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

Környei JL, Vértes Zs, **Oszter A**, Kovács KA, Rao ChV, Vértes M: Oioid 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

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

Környei JL, **Oszter A**, Kovács KA, Vértes Zs, Komlósi KM, Gőcze P, Vértes 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, Gőcze P, Környei JL, Szabo I: Comparative alalysis 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, Paál B, Vértes 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, Környei JL, Vértes Zs, Vértes 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, Környei JL, Vértes Zs, Vértes M: Transcriptional effect of Dmet^2-pro^5-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

Környei JL, Vértes Zs, **Oszter A**, Vértes 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

Környei JL, Vértes Zs, **Oszter A**, Kovács KA, Vértes 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

Környei JL, Kovács KA, **Oszter A**, Vértes Zs, Komlósi KM, Vértes 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: Endogen opioid peptides inhibit the estradiol induced cell proliferation of human and rat uterine cells. 7th European Student Conference, 1996, Berlin, Németország.

Kovács KA, Környei JL, **Oszter A**, Szabó I: Az opioid peptidek gátolják az oestradiol indukált sejtproliferatiot humán myometrium sejtvonalakban. Magyar Nőorvos Társaság XXVI. Nagygyűlése, 1998, Pécs.

Környei JL, Vértes Zs, **Oszter A**, Kovács KA, Rao ChV, Vértes 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, Paál B: Az endogén opioid peptidek 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, Környei JL, Vértes Zs, Vértes M: Az opioid peptidek antioestrogén hatása patkány uterusban. Magyar Élettani Társaság LXIV. Vándorgyűlése, 1999, Budapest.

Környei JL, Vértes Zs, **Oszter A**, Kovács KA, Vértes M: Az endogén opioid peptidek a progeszteron receptor bevonásával gátolják az epidermális növekedési faktor által kiváltott sejtszaporodást patkány uterus sejtkultúrákban. Magyar Élettani Társaság LXIV. Vándorgyűlése, 1999, Budapest.

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

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

Oszter A, Törőcsik B, Vértes Zs, Környei JL, Vértes 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**, Vértes Zs, Göcze PM, Környei JL, Szabó I, Vértes M: Cyclin Dl and estradiol receptors (alpha and beta)in human myometrium and leiomyoma. 11th International Congress of Endocrinology, 2000, Sydney, Ausztrália.

Vértes Zs, **Oszter A**, Kovács KA, Környei JL, Kovács S, Vértes 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.

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

Kovács KA, **Oszter A**, Gőcze PM, Környei 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.

Környei JL, **Oszter A**, Vértes Zs, Kovács KA, Komlósi KM, Gőcze PM, Vértes 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.