

**A MAGYAR TUDOMÁNYOS AKADÉMIA ÉS A
SEMMELWEIS ORVOSTUDOMÁNYI EGYETEM
EGYESÍTETT KUTATÁSI SZERVEZETE
(MTA-SOTE EKSZ)**

1979-1989

**JOINT RESEARCH ORGANIZATION (JRO) OF THE
HUNGARIAN ACADEMY OF SCIENCES AND THE
SEMMELWEIS UNIVERSITY OF MEDICINE**

1979-1989

Budapest, 1990

TARTALOMJEGYZÉK
TABLE OF CONTENTS

B+ 1 pld

**A MAGYAR TUDOMÁNYOS AKADÉMIA ÉS A
SEMMELWEIS ORVOSTUDOMÁNYI EGYETEM
EGYESÍTETT KUTATÁSI SZERVEZETE
(MTA-SOTE EKSZ)**

1979-1989

**JOINT RESEARCH ORGANIZATION (JRO) OF THE
HUNGARIAN ACADEMY OF SCIENCES AND THE
SEMMELWEIS UNIVERSITY OF MEDICINE**

1979-1989

Budapest, 1990

Felelős szerkesztő: Menyhárt János

Lektorálta: Koch Sándor

Szerkesztette: Menyhárt János
Hámori József

ISBN: 963 04 0392 7

Felelős kiadó: Halász Béla

Kiadja: Az MTA-SOTE Egyesített
Kutatási Szervezete

Formátum: B/5 Terjedelem: 10 A/5 ív Példányszám: 400
9019398 MTA Soksorozító, Budapest. F.v.: dr. Héczey Lászlóné

TARTALOMJEGYZÉK TABLE OF CONTENTS

Előszó	5
Foreword	7
Tudományos Tanács	9
Scientific Board	9
Klinikai Biokémiai és Sejtbiológiai Részleg	11
Department of Clinical Biochemistry and Cell Biology	11
Klinikai Immunológiai, Nefrológiai és Endokrinológiai Részleg	21
Department of Clinical Immunology, Nephrology and Endocrinology	21
Mikrobiológiai és Viroológiai Részleg	33
Department of Microbiology and Virology	33
Molekuláris Patológiai Részleg	45
Department of Molecular Pathology	45
Neurobiológiai Részleg	57
Department of Neurobiology	57
Neuroendokrinológiai Részleg	71
Department of Neuroendocrinology	71
Peptidkémiai Részleg	81
Department of Peptide Chemistry	81
Pszihoneurofarmakológiai Részleg	93
Department of Psychoneuropharmacology	93

ELŐSZÓ

A Magyar Tudományos Akadémia főtitkára és az egészségügyi miniszter 1978. október 25-én írta alá azt az együttműködési nyilatkozatot, melyben kifejezik azon elhatározásukat, hogy a Semmelweis Orvostudományi Egyetem tanszékein és klinikáin eddig elszórta tevékenykedő akadémiai kutatórészlegeket összevonják, és "A Magyar Tudományos Akadémia és a Semmelweis Orvostudományi Egyetem Egyesített Kutatási Szervezete" néven egységes szervezetet hoznak létre. Az Egyesített Kutatási Szervezet (EKSZ) országosan új szervezeti formát jelentett, mely jobban megfelel a korszerű tudományos kutatás feltételeinek. Lehetővé teszi a komplex, interdiszciplináris jellegű kutatást, a technikai feltételek gazdaságos megszervezését és kihasználását, valamint a különböző képzettségű és tudományterületekhez tartozó, más szervezeti egységekben dolgozó kutatók együttműködését. A megalakult kutatási szervezet az Akadémia kutatóhálózatának a Semmelweis Orvostudományi Egyetem szervezeti rendjébe illeszkedő része lett.

Az Egyesített Kutatási Szervezetben a kutatás alapegységeit a Semmelweis Orvostudományi Egyetem egyes intézetéhez és klinikáihoz telepített kutatórészlegek képezik. Ezek az alábbiak:

A részleg neve:	A részleg telepítési helye:
Klinikai Biokémiai és Sejtbiológiai Részleg	Radiológiai Klinika
Klinikai Immunológiai, Nefrológiai és Endokrinológiai Részleg	II. Belgyógyászati Klinika
Mikrobiológiai és Vírológiai Részleg	Mikrobiológiai Intézet
Molekuláris Patológiai Részleg	I. Kóronctani és Kísérleti Rákkutató Intézet
Neurobiológiai Részleg	I. Anatómiai, Szövet- és Fejlesztési Intézet
Neuroendokrinológiai Részleg	II. Anatómiai, Szövet- és Fejlesztési Intézet
Peptidkémiai Részleg	I. Kémiai-Biokémiai Intézet
Pszicho-neurofarmakológiai Részleg	Gyógyszertani Intézet

A részlegek működéséhez a Magyar Tudományos Akadémia biztosítja a kutatás személyi és anyagi feltételeit, míg a Semmelweis Orvostudományi Egyetem gondoskodik a részlegek elhelyezéséről és működési feltételeik folyamatos biztosításáról. A részlegek személyi állományát akadémiai alkalmazottak (mintegy félszáz kutató és 70 kutatási segéderő) képezik. A kutatómunkában azonban kezdettől fogva egyetemi oktatók és kutatási segéderők is részt vesznek. A hálózatban dolgozók nagyrésze azonban nem főfoglalkozású kutató. Az akadémiai alkalmazásban álló kutatók zöme ugyanis, az egyetemi kutatókkal együtt, a kutatás mellett jelentős volumenű oktatómunkát végez, esetenként pedig gyógyító- vagy egyéb tevékenységet is ellát. Az EKSZ részlegek jelentős részt vállalnak a tudományos (postgraduális)

továbbképzésben is. A részlegek vezetői, egy kivétellel, tanszékvezető egyetemi tanárok. Az EKSZ szervezeti felépítése rugalmas, részlegeinek köre a kutatás igényeitől függően, új részlegek bevonásával, illetve régebbi EKSZ tagságának megszűntetésével, változhat.

A szervezet megalakulása óta pusztán kereteket biztosított a különböző részlegek és azok kutatói között létesült tudományos együttműködéshez. A kollaborációt minden esetben maguk a kutatók kezdeményezték. A részlegeknek a múltban voltak, és jelenleg is vannak közös kutatási témái, melyeket közösen alakítottak ki. Az ezekhez való csatlakozás minden esetben önkéntes volt. Egyes nagy műszerek beszerzése közös megegyezéssel történt.

Mint már említettük, kutatási hálózatunk országosan az első ilyen jellegű szervezetként alakult. Ezért határozott a szervezet tudományos kollégiuma úgy, hogy - jóllehet mind méreteiben, mind kutatási feltételeiben viszonylag szerény kutatóbázist képviselünk - elkészítjük ezt a beszámolót, mely a megalakulás óta elért fontosabb kutatási eredményekről ad rendkívül rövid összefoglalást, amelyet az ismertetett eredményeket tartalmazó, részlegenként maximum 50 reprezentatív közlemény bibliográfiai adatai egészítenek ki. (Az eltelt időszakban a 8 kutatórészlegről évente 150-200 közlemény jelent meg). Az olvasóra bízunk, hogy véleményét alkosson a szervezetben eddig végzett tudományos munkáról, annak eredményeiről.

Ami a szervezet jövőjét illeti, a megkezdett úton kívánunk tovább haladni. Fokozottan törekedni fogunk arra, hogy a kutatórészlegek közötti együttműködés lehetőségeit minél jobban kiaknázzuk, és az eddiginél erőteljesebben kívánjuk támogatni magunktól a kutatóktól kiinduló, több részleget érintő, kölcsönös érdeklődésen alapuló komplex kutatásokat. Egyidejűleg szélesíteni kívánjuk kapcsolatainkat az Egyetem és az Akadémia más kutatóhelyeivel. Felmerül a tudományos ösztöndíjasok és a tudományos diákkörösök képzésének szervezett formába történő bekapcsolódásunk lehetősége is.

Ehelyütt is köszönetet mondunk a Magyar Tudományos Akadémiának és a Semmelweis Orvostudományi Egyetemnek a Szervezet munkájához, a Szervezetben folyó tudományos kutatáshoz nyújtott támogatásért.

Budapest, 1990. január 31.

Halász Béla
az EKSZ e.l. elnöke

FOREWORD

The Secretary General of the Hungarian Academy of Sciences and the Minister of Health signed on October 25, 1978 an agreement of cooperation, in which they declared their intention to amalgamate into one organization the research teams previously employed by the Academy in different Institutes and Clinics of the Medical University. The organization was named "Joint Research Organization of the Hungarian Academy of Sciences and the Semmelweis University of Medicine" (JRO), and its foundation coincided with efforts for renewal of the science policy in Hungary. The objective of the JRO has been to satisfy the requirements of up-to-date medical research by an interdisciplinary approach to research problems, based on the organized cooperation of the previously independent research teams and on a more economic utilization of the facilities available to these. This objective has been gradually translated into reality and the JRO, while representing one of the many research institutions affiliated to the Hungarian Academy of Sciences, became integrated into the institutional system of the Semmelweis University of Medicine.

The JRO integrates eight research units, which are located in Institutes or Clinics of the Semmelweis University of Medicine, as shown below:

Name of Department	Location of Department
Department of Clinical Biochemistry and Cell Biology	Clinic of Radiology
Department of Clinical Immunology, Nephrology and Endocrinology	2nd Clinic of Medicine
Department of Microbiology and Virology	Institute of Microbiology
Department of Molecular Pathology	1st Institute of Pathological Anatomy and Cancer Research
Department of Neurobiology	1st Institute of Anatomy, Histology and Embryology
Department of Neuroendocrinology	2nd Institute of Anatomy, Histology and Embryology
Department of Peptide Chemistry	1st Institute of Chemistry and Biochemistry
Department of Psychoneuropharmacology	Institute of Pharmacology

The JRO Departments are staffed and equipped by the Hungarian Academy of Sciences, and are provided with laboratory rooms and other facilities for continuous operation by the Semmelweis University of Medicine. The total graduated staff of the JRO numbers about 50, the technical staff about 70, but in addition to the permanent staff, scientists and technicians employed by the University have also collaborated in various JRO programmes. Most graduated coworkers employed by the JRO are to be regarded as part-time researchers, for they also hold teaching and other assignments. The JRO Departments have taken a major share in the extension (post-graduate) training schemes of the University. The Heads of all JRO Departments, except one, are Ordinary

Professors of the University. The organizational system of the JRO is liberal enough to permit adaptation to current needs by inviting or recalling the collaboration of external teams.

Ever since its foundation the JRO provides only a framework for interdisciplinary cooperation. The topics of collaborative research were always proposed by the scientists of the organization. Participation in the common research projects which were, and still are, pursued by the JRO Departments, has been voluntary all along.

Since the JRO has represented the first integrated research organization of this type in Hungary, its Scientific Board decided that, however modest the proceedings of the organization might seem on an international scale, it would be worthwhile to present a brief comprehensive report on its activities, together with the references of the 50 main research papers written by the scientists of each Department. (In the past decade, the overall number of papers published by the eight JRO Departments amounted to 150-200 per annum). It is left to the discretion of the reader of this volume to form an opinion on the value of the contributions of the JRO to universal medical science.

As to the future prospects of the JRO, efforts are concentrated on intensifying the cooperation between the Departments, and on establishing cooperative connections with other research institutions of both the Academy and the University. It is also scheduled to invite the cooperation of junior scientists on fellowship and of undergraduate assistants interested in the research projects launched under the auspices of the JRO.

All coworkers of the JRO appreciate greatly the support received from the Hungarian Academy of Sciences and the Semmelweis University of Medicine, and express grateful thanks to both sponsors also on this occasion.

Budapest, 31 January 1990

B. Halász
Acting President of the JRO

TUDOMÁNYOS TANÁCS

A Tudományos Tanács az EKSZ legfőbb konzultatív testülete, amely minden, az EKSZ működését érintő kérdésben állást foglal. A Tanács az EKSZ részlegeinek vezetőiből, a Semmelweis OTE mindenkoros tudományos rektorhelyetteséből, valamint a Magyar Tudományos Akadémia és Szociális és Egészségügyi Minisztérium képviselőiből áll.

SCIENTIFIC BOARD

The Scientific Board is the supreme consultative body of JRO taking a stand in all important matters affecting JRO activity. The Board consists of the heads of individual JRO Departments, the acting deputy rector of scientific affairs at the Semmelweis University of Medicine and the representatives of the Hungarian Academy of Sciences (HAS) and the Ministry of Social and Health Affairs (MSHA).

A TUDOMÁNYOS TANÁCS TAGJAI MEMBERS OF THE SCIENTIFIC BOARD 1979-1989

- Dr. Antoni Ferenc**, részlegvezető/Department Head (1979-cont.)
elnök/President (1979-1985)
- Dr. Fehér János**, részlegvezető/Department Head (1983-cont.)
- Dr. Gál György**, főosztályvezető/Assistant Under-secretary
a SZEM képviselője/MSHA Representative (1979-1986)
- Dr. Halász Béla**, részlegvezető/Department Head (1979-cont.)
jelenlegi elnök/Acting President (1985-cont.)
- Dr. Hámori József**, laboratórium-vezető/Laboratory Director (1979-1985)
- Dr. Knoll József**, részlegvezető/Department Head (1979-cont.)
- Dr. Lapis Károly**, részlegvezető/Department Head (1979-cont.)
tud.rektorhelyettes/Deputy Rector of Scientific Affairs (1985-cont.)
- Dr. Mandl József**, főosztályvezető/Assistant Under-secretary
a SZEM képviselője/MSHA Representative (1989-cont.)
- Dr. Maros Istvánné**, administrator (1983-cont.)
- Dr. Menyhárt János**, részlegvezető/Department Head (1979-cont.)
titkár/Secretary (1979-cont.)
- Dr. Nagy Zsolt**, főosztályvezető helyettes/Deputy Assistant Under-secretary
a SZEM képviselője/MSHA representative (1986-1989)
- Dr. Nász István**, részlegvezető/Department Head (1979-cont.)
- Dr. Petrányi Gyula**, részlegvezető/Department Head (1979-1983)
- Dr. Somogyi Endre**, tud.rektorhelyettes/Deputy Rector of Scientific Affairs (1979-1985)
- Dr. Szentágothai János**, részlegvezető/Department Head (1986-cont.)
- Dr. Teplán István**, főosztályvezető/Assistant Under-secretary;
az MTA képviselője/HAS representative (1979-cont.)

1.

KLINIKAI BIOKÉMIAI ÉS SEJTBIOLÓGIAI RÉSZLEG
Cím: Semmelweis OTE, Radiológiai Klinika
1082, Budapest, Üllői út 78/a.

DEPARTMENT OF CLINICAL BIOCHEMISTRY AND CELL BIOLOGY
Address: Clinic of Radiology,
Semmelweis University of Medicine,
1082, Budapest, Üllői street 78/a

Telefon/Phone: 113-4479

I. A kutatások résztvevői/Research Participants

1. Részlegvezető/Department Head
Dr.Menyhárt János (M.D.), tud.doktora/D.Sc.

2. Akadémiai kutatók/Academic Staff Idő/time [%]
 - a./ Tudományos munkatársak/Research Fellows

Dr.Boldog Ferenc (Ph.D.) (1981-1986)	100
Gróf József (1979-1986)	100
Dr.Idei Miklós (Ph.D.) (1980-)	100
Dr.Kucsera Mária (Ph.D.) (1987-)	100
Dr.Marcsek Zoltán (Ph.D.) (1979-1988)	100
Simon György (1981-)	100

 - b/ Tudományos segédmunkatársak/Junior Research Fellows

Bori Zoltán (1987-)	100
Jámbor Enikő (1979-1980)	100
Ribal Zsuzsanna (1982-1985)	100

3. Tudományos ösztöndíjasok/Full-time Ph.D. Students

Dr.Papp György (M.D.) (1979-1982)	100
Dr.Ungár László (M.D.) (1985-1988)	100

4. Külső munkatársak/Part-time Coworkers

Dr.Gál György (M.D.), tud.doktora/D.Sc. (1979-1986)	30
Dr.Guoth János (M.D.), kandidátus/C.Sc. (1982-1986)	40
Dr.Pajor Attila (M.D.), kandidátus/C.Sc. (1979-1988)	50
Dr.Karátson Sándor (M.D.), kandidátus/C.Sc. (1981-1985)	20
Dr.Siklósi György (M.D.), kandidátus/C.Sc. (1979-1988)	20
Dr.Sziklai István (M.D.) (1983-1986)	20

5. Laboratóriumi asszisztensek/Laboratory Assistants

Dr.Bodolay Gézáné
Demeter Hedvig
Encsné Molnár Judit
Fehérváriné Kopetty Diana
Füri Éva
Grófné Voigt Ágnes
Korompai Emilné
Nagyné Sárközi Sarolta
Sáfár Attiláné
Szofcsák Zsuzsanna

6. Adminisztrátorok/Associated Staff

Hartai Csabáné
Pataki Ferencné

II. Tudományos eredmények (1979-1989)

Megállapítottuk, hogy az urémiás toxinként számontartott guanidinosuccinát (GSA) "egy rövidre zárt" ornitín-ciklus (GSA-ciklus) keretében, argininosuccinátból, ammonolysis révén keletkezik, ami egy további ammonia-molekula biológiai fixálását jelenti. A reakciót katalizáló enzimet, megkülönböztetésül a klasszikus urea-ciklus argininosuccinátliáz (ASL) enzimétől, ASL II-nek neveztük el. Mindkét enzim aktivitása egyaránt ureakoncentráció-függő: magas ureaszint az ASL-t, és ezáltal az ureogenezist gátolja, az ASL II-t, és ezáltal a GSA képződést viszont stimulálja (25).

A hatvanas-hetvenes évek fordulóján tett klinikai megfigyelések alapján merült fel a gyanu, hogy az urémiás intoxikáció molekuláris etiológiájában egy, a szérumban kimutatható, újonnan felismert anyagcsoport is szerepet játszhat. Ezeket az anyagokat - kémiai mibenlétük ismeretének akkori hiányában - középnagy molekulásúlyú anyagoknak (middle molecular weight substances = MMS) nevezték el.

Kimutattuk, hogy az urémiás szérumok MM komponenseiben mélyreható mennyiségi és minőségi változások következnek be. Leírtuk e változások főbb jellemzőit, és az urémiás szérumok MM komponenseinek kémiai és fiziko-kémiai tulajdonságait (9-11, 26,27,29). Különböző, nagyfelbontóképességű technikákat is magában foglaló szeparációs eljárások segítségével megállapítottuk, hogy az urémiás MM komponensek fő tömegét (kb. 90%-át) alkotó tisztított szérumfrakciók legalább 21 féle peptidet tartalmaznak, amelyek 2-9 féle aminosavból épülnek fel, és amelyek molekulatömege 189 és 1182 D közé tehető (28,29). A tisztított urémiás MM szérumfrakciók többé-kevésbé toxikusak: intraperitoneális adagolásuk esetén jellegzetes tónusos-klonusos görcsök kíséretében ölik meg az egereket, ami neurotoxikus hatásmechanizmusra utal. Normális szérumokból toxikus és halált okozó frakciók nem állíthatók elő (9,26).

Megállapítottuk, hogy az urémiás peptidek eliminálhatósága különböző: eltávolíthatóságuk, anyagi tulajdonságaikon túl, az alkalmazott művese-kezelés módjától és típusától, illetve a berendezések szűrőképességétől, és a kezelés időtartamától függ (9,11,28,29). Az urémiás szérumpeptidek peritoneális dialízissel is viszonylag jó hatásokkal eliminálhatók (21).

Kimutattuk továbbá, hogy az ismételt felhasznált dializáló membránok reziduális szűrőképességének jó indikátora az MM anyagokkal szemben mutatott átjárhatóságuk (5), és hogy a szérum MM anyag-spektrumának változásából a veseátültetés sikeres volta, illetve a kilökődési reakció bekövetkezése is megítélhető (8). Gyakorlati jelentőségű az a megfigyelés is, miszerint a dializáló folyadék UV abszorpciójának folyamatos regisztrálásával a dialízis hatékonysága nyomon követhető (6,7).

Malignus daganatos betegségek végstádiumában lévő, illetve psoriasisban szenvedő betegek szérumának MM komponenseiben is jellegzetes mennyiségi és minőségi változások következnek be (4,37). A daganatos betegek szérumában észlelt változások sok hasonlóságot mutatnak az urémiában tapasztaltakéhoz, és számottevően kifejezettebbek, mint a psoriasisához társuló változások.

Míg a skizofrénia különböző típusaiban szenvedőktől nyert szérumok, és hemoultrafiltrátumok mintegy 80%-a gátolta az egér vas deferens készítmények elektromosan indukált összehúzódásait, addig a nem skizofrénias pszichiátriai betegek szérumának csak 12%-a, az egészségesek széruma pedig egyáltalán nem mutatott ilyen aktivitást (16,29,47). Megállapítottuk, hogy skizofréniasok szérumában a biológiai aktivitást négy MM nagyságrendű peptid és egy glikopeptid hordozza, amelyek kvalitatív aminosavanalízise két, eddig ismeretlen peptidre és egy glikopeptidre, valamint két ismert endorfin származékra utalt (16,29,47).

Otosclerosisban szenvedők perilymphájából és kengyelcsontjaik kivonatának "non collagen" fehérje-frakciójából normálisan izolálható 17 illetve 14 MM peptid is jellegzetes kompozicionális változásokat mutat (45,46). Valószínűsíthető, hogy e változások is szerepet játszanak az otosclerosisist kísérelő sensorineurális halláskárosodás molekuláris etiológiájában (13).

A nemzéképtelenséggel társuló oligo/azoospermia egy jól körülírható csoportjában az urea-ciklus, közelebbről az argininanyagcsere zavara áll fenn. E zavar következtében jelentkező arginin-hiány kardinalis jelentőségét mutatja az a tapasztalat, hogy az említett pathospermias állapotokban észlelhető oligospermia, arginin nagy dózisának perorális adagolásával javítható, vagy megszüntethető, és a nemzőképesség helyreállítható (35,36).

Kimutattuk, hogy osztódási nyugalomban levő májak vizes kivonatából sejtosztódást gátló és stimuláló peptidkomponensek, "növekedési faktorok" (24) egyaránt előállíthatók. Ezzel szemben a subtotalis hepatektómia után aktívan regenerálódó májak kivonatában gátló peptidkomponensek nem találhatók (31). Tüdőszövet vizes kivonatából a kettes típusú alveoláris sejtek DNS szintézisét specifikusan (kalon-szerűen) gátló, 10^4 D nagyságrendű peptidet tartalmazó frakciót állítottunk elő, illetve jellemeztünk (23,30). Egy, a fehérvérsejtek vizes kivonatából nyert, és a későbbiek során nucleopeptidnek bizonyult anyag nemcsak a normális csontvelősejtek, hanem a HL-60 leukémiás sejtek proliferációját is sejtvonal-specifikusan gátolja (1).

Részt vettünk azokban a géntechnológiai vizsgálatokban, amelyek a vese-carcinomában gén-szinten bekövetkező defektusok (2,3,22), illetve a szolid malignus tumorsejteket disszociált (ascites) formában történő növekedésre képessé tevő genetikai változások mibenlétének felderítésére irányulnak (32).

Emberi magzatvízből nyolcféle, a méhizomzat összehúzódásait serkentő illetve gátló, peptidtartalmú frakciót különítettünk el. A legaktívabb gátló frakcióból egy 10^3 D nagyságrendű peptidet ("uteroinhibin") megközelítőleg homogénné tisztítottunk. A hatóanyag, noha számos relaxin-szerű tulajdonságot mutat, biológiai aktivitása a relaxinét mintegy 700-szorosan felülmúlja, és relaxin-ellenanyagokkal nem reagál (18,33). A magzatvíz mellett, amiből egyébként trombolitikus aktivitásokat is izoláltunk (34), terhes sertések ováriumából is tisztítottunk egy, fentihez hasonló, a méhizom kontrakciót gátló peptidet (14). A fent említett uterus-aktív anyagok koncentrációjának terhesség folyamán észlelt változásaiból valószínűsíthető, hogy ezek részt vesznek a terhes méh nyugalmi állapotának fenntartásában, illetve a szülési kontrakciók indukálásában. Ez utóbbiban immunológiai mechanizmusok részvétele is valószínű (38).

A "Blodetekció" néven szabadalmazott eljárásunkban (12) új elvet alkalmaztunk a biológiailag aktív anyagok keverékét tartalmazó folyadékok egyes komponenseinek detektálására, illetve elválasztására (15,17,19,20). Citofluorográfiás módszereket dolgoztunk ki a placenta sejttel (trofoblasztok) DNS szintézisének/proliferációjának (49,50), illetve a sejtfelületi glikozaminoglikánok kvantitatív mérésére (48).

Meghatároztuk a hirsutismus androgén paramétereit (42). Hormonális differenciál-diagnosztikai módszert dolgoztunk ki a hirsutismus különböző formáinak (38), valamint a szérumban lévő mellékvese- és ovariális- eredetű androgén komponenseinek kvantitatív elkülönítésére (43). Megbízható, egyszerű és gazdaságos RIA módszereket dolgoztunk ki a reprodukciós folyamatokat szabályozó 11 hormon kvantitatív meghatározására. Megállapítottuk ezen hormonok epizódikus szekréciójának törvényszerűségeit, és egyetlen vérmintából történő meghatározásunk diagnosztikus értékét (39-41).

Research Review (1979-1989)

The biosynthesis of guanidinosuccinate (GSA), a putative uremic toxin, was demonstrated to take place from argininosuccinate by ammonolysis within a "short-circuited" urea cycle, the so called GSA cycle. This reaction allowing biological fixation of an additional urea molecule is catalysed by

an enzyme that we named argininosuccinate lyase II (ASL II) to distinguish it from ASL, the classical urea cycle enzyme. The activities of both enzymes are urea concentration-dependent: high urea levels, while inhibiting ASL and thereby ureogenesis, simultaneously stimulate ASL II activity and thereby GSA production (25).

In our initial experiments aimed at revealing the molecular basis of uremic toxicity it was soon recognized that in uremic intoxication profound changes occur both in the quantity and the composition of middle molecular weight (MM) substances, a group of serum constituents whose chemical character remained unraveled through several years following their discovery in the late sixties (9-11,26,27,29). In subsequent experiments it was demonstrated that purified serum fractions containing approximately 90% of uremic MM components were composed of at least 21 distinct peptides with M_s ranging from 189 to 1182 D, each consisting of 2-10 individual amino acids (28,29). The main uremic MM serum fractions proved to be more or less toxic: following their intraperitoneal administration to mice tonic and clonic convulsions developed culminating ultimately in death, indicating a neurotoxic mechanism of action. Toxic and lethal fractions could not be prepared from sera of healthy individuals (9,26). Removability of uremic serum peptides was found to be quite variable depending on the physical-chemical properties of the individual MM peptides and the parameters of both the applied blood-clearing techniques and the dialysator (9,11,28,29).

Peritoneal dialysis was shown to remove much of the MM peptides with a relative good efficiency (21). Permeability of the repeatedly used dialysing membranes for purified serum MM peptides proved to be a good indicator of their residual filtration capacity (5). Uremia-specific changes in the spectrum of serum MM peptides returned to normal within a few weeks following kidney transplantation, they reappeared, however, at the emergence of imminent kidney rejection (8). The observation that the efficacy of the dialysis process can be assessed by continuous UV monitoring of dialysis fluid is of practical importance (6,7). Apart from uremia, characteristic changes in serum MM constituents were also observed in end-stage tumor-bearing and in psoriatic patients (4,37).

While approximately 80% of sera obtained from patients with different types of schizophrenia naloxone-dependently inhibited the electrically induced contractions of mouse vas deferens (MVD) preparations, only about 12% of sera sampled from non-schizophrenic psychiatric patients, and none of those derived from healthy individuals displayed such an activity (16,29,47).

In subsequent experiments, four peptides and a glycopeptide were identified as molecular carriers of the particular biological activity detectable exclusively in schizophrenic sera. Two of these peptides and the glycopeptide proved to represent hitherto unknown peptide species, while the remaining two peptides resembled endorphine derivatives (16,29,47).

The 17 and 14 peptides of MM size order normally detectable by analytical isotachopheresis in the perilymph and the "non collagen" protein fraction of stapedial bone matrix extract were shown to undergo characteristic quantitative and qualitative changes in otosclerosis (45,46) that may contribute to the sensorineural hearing impairment characteristic of this disease (13).

In a particular group of oligo-azoospermias accompanied by male infertility, characteristic disorders of the arginine metabolism were demonstrated. The central significance of the resulting relative arginine deficiency was convincingly demonstrated by the experience indicating that the oligospermia accompanying such disorders could be significantly alleviated, and fertility fully restored, by oral administration of large doses of arginine (35,36).

In other experiments, it was demonstrated that both positive and negative polypeptide growth factors (24), could be purified from a watery extract of quiescent liver tissue. On the contrary, no inhibitory peptide components could ever be prepared from a similar extract of livers actively regenerating following a subtotal hepatectomy (31). A peptide with a M_r of 10^5 D size order partially purified from pulmonary tissue was shown to inhibit DNS synthesis tissue-specifically (a chalone-like effect) in type 2 alveolar cells (23,30). A nucleopeptide prepared from leukocytes inhibited not only the proliferation of normal bone marrow cells, but also that of HL-60 leukemic cells in a cell line-specific manner (1).

We have also contributed to experiments employing recombinant DNA technology that were aimed at characterizing genetic defects underlying renal cell carcinoma (2,3,22), as well as the nature of genetic alterations enabling malignant cells from solid tumors to grow in a dissociated (ascites) form (32).

Out of the several peptide-containing fractions prepared from human amniotic fluid that either inhibited or stimulated contractions of isolated human uterus preparations, an inhibitory peptide with a M_r of 10^3 D size order was purified to near homogeneity. This peptide, named "uteroinhibin", displayed several relaxin-like properties, however, its uterus contraction-inhibiting capacity surpassed about 700 fold that of relaxin, and did not react with antibodies produced against a standard NIH relaxin preparation (18,33). Apart from human amniotic fluid, which was also shown to contain thromboplastic activity-carrying ingredients (34), an uterus contraction-inhibiting peptide was also purified from sow ovaries that shared many similarities with the afore-mentioned peptide isolated from human amniotic fluid (14). The pattern of changes in the concentrations of uterus-active amniotic fluid peptides observed during gestation strongly suggests that these peptides may contribute both to maintaining the quiescent state of the uterus during pregnancy, and inducing uterus contractions at term. However, the involvement of immunological mechanisms in the initiation of uterus contractions can not be excluded either (38).

A novel method, termed biodetection, was elaborated and patented in our laboratory (12). Based on a new principle, this procedure enables investigators to detect individual biologically active substances present in a biologically inert, or differently active large matrix of fluid ingredients (15,17,19,20).

Additional methods elaborated in our laboratory include those that enable investigators assessing DNA synthesis/proliferation of trophoblastic cells (49,50) and quantitating cell surface glycosaminoglycans (48). Numerous RIA-based methods for reproductive hormone measurements making hormone determinations more simple, economical and reliable than those formerly in use (40,41,44), and providing new vistas for differential diagnosis in several reproductive hormonal disorders (39,42,43) have also been added to our methodological pool.

Irodalmi hivatkozások/List of References

1. Balázs, A., Tapolcay, A., Hetényi, G., Mann, J., Boldog, F.: Susceptibility of the human promyelocyte cell line HL-60 to an endogenous antileukaemic factor in suspension culture. *Cell Biol. Int. Rep.* 10, 1-7, 1986.
2. Boldog, F., Erlandsson, R., Klein, G., Sümegi, I.: Long range restriction enzyme mapping of loci on the short arm of human chromosome 3 supposed to be involved in the genesis of renal cell carcinoma. *Cancer Genet. Cytogenet.* 42, 295-306, 1989.
3. Erlandsson, R., Boldog, F., Sümegi, J., Klein, G.: Do human renal cell carcinomas (RCC) arise by a double loss mechanism? *Cancer Genet. Cytogenet.* 36, 135-138, 1982.
4. Felmérai, I., Gróf, J., Idei M., Menyhárt, J.: Intermediate molecular weight substances in sera of psoriatic patients. *Acta Physiol. Hung.* 60, 135-138, 1979.
5. Gál, Gy., und Gróf, J.: Die Elimination von Stoffen mit kleinem und mittlerem Molekulargewicht bei wiederholter Verwendung von C-DAK Kapillar-dialysatoren. *Z. Urol. Nephrol.* 72, 27-30, 1979.
6. Gál, Gy. und Gróf, J.: Eine einfache Ultraviolett-photometrische Methode zur kontinuierlichen Kontrolle die Effectivität der Haemodialyse. In: B. Watschinger (ed.) 3. Donausymposium für Nephrologie, Linz, 1978. Verlag Karl Bindernagel, Friedberg/Hessen pp. 420-427.

7. Gál, Gy. and Gróf, J.: Continuous UV photometric monitoring of the efficiency of hemodialysis. *Int. J. Artif. Organs* 3, 338-341, 1980.
8. Gróf, J. and Kiss, É.: Uraemic toxins before and after kidney transplantation. In: J. Corletti (ed.) 2nd Mitteleuropean Meeting of Nephrology, Dialysis and Transplantation, Corizia, Italy 1982. Wichtig Editore, Milano, pp. 135-141.
9. Gróf, J., and Menyhart, J.: Non-diffusible toxic polypeptides in uraemic sera: A novel group of uraemic toxins. *Acta Chir. Hung.* 18, 283-287, 1979.
10. Gróf, J. and Menyhart, J.: Isotachophoretic analysis of 500-5000 dalton molecular mass solutes in biological fluid samples of human origin. In: E.M. Everaerts (ed.) *Analytical Isotachopheresis*. Elsevier SPC, Amsterdam, pp. 99-107, 1981.
11. Gróf, J. and Menyhart, J.: Molecular weight distribution, diffusibility and comparability of middle molecular fractions prepared from normal and uremic sera by different fractionation procedures. *Nephron* 30, 60-67, 1982.
12. Gróf, J., Pajor, A., Menyhart, J.: Biodetection; A novel method allowing the detection (and separation) of a particular component with optional biological activity in a large matrix of biological fluid ingredients. *Szabadalmi Közlöny (Patent Bulletin)*: 89, 675, 1984. (in Hungarian)
13. Gróf, J., Sziklai, I., Ribári, O. and Menyhart, J.: Non-collagen proteins of stapedial bone matrix in perilymph of otosclerotic patients. *Acta Otolaryngol. (Stockh)* 99, 557-563, 1985.
14. Guoth, J., Sárosi, P., Idei, M., Menyhart, J., Pajor, A.: Inhibition of myometrial contractions in vitro by a substance prepared from extracts of sow ovaries. Relation of the substance to standard relaxin. In: H. Kalász and L.S. Ettre (eds) *Chromatography, the State of the Art*. Akadémiai Kiadó, Budapest, pp. 367-376, 1985.
15. Idei, M., Gróf, J., Guoth, J., Pajor, A., Menyhart, J.: Application of isolated organ preparations as sensitive and selective detectors in the practice of liquid chromatography. In: H. Kalász and L.S. Ettre (eds) *Chromatography, the State of the Art*. Akadémiai Kiadó, Budapest, pp. 377-388.
16. Idei, M., Gróf, J., Menyhart, J., Pajor, A.: Elevated opioid activity in sera of chronic schizophrenics. *Acta Physiol. Hung.*, 60, 121-127, 1982.
17. Idei, M., Guoth, J., Pajor, A., Gróf, J., Menyhart, J.: Biological detectors in liquid chromatography In: H. Kalász and L.S. Ettre (eds) *Chromatography* 84. Akadémiai Kiadó, Budapest, pp. 463-472, 1986.
18. Idei, M., Pajor, A., Guoth, J., Menyhart, J.: A substance isolated from human amniotic fluid that inhibits the contractile function of human myometrium. In: H. Kalász and L.S. Ettre (eds) *Chromatography* 87. Akadémiai Kiadó, Budapest, pp. 241-251, 1988.
19. Idei, M., Pajor, A., Guoth, J., Menyhart, J.: Biological detectors in liquid chromatography. *J. Chromat.* 490, 247-261, 1989.
20. Idei, M., Pajor, A., Menyhart, J.: Bioseparation: Application of isolated organs in preparative-scale isolation of biologically active compounds. *J. Liquid Chromat.* 12, 2769-2791, 1989.

21. Karátson, A., Gróf, J., Gofman, L., and Rácz, L.: The effect of hyperosmolar peritoneal dialysis fluid on the elimination of substances with small and middle molecular weight. *Int. Urol. Nephrol.* 15, 187-194, 1983.
22. Kovács, Gy., Erlandsson, R., Boldog, F., Ingvarsson, S., Müller-Brechlin, R., Klein, G., Sümegi, J.: Consistent 3p depletion and loss of heterozygosity in renal cell carcinoma. *Proc.Natl.Acad.Sci. USA* 85, 1571-1574, 1988.
23. Marcsek, Z., Menyhárt, J.: Partial purification from bovine pulmonary tissue of a protein fraction inhibiting DNA synthesis in mouse type 2 alveolar cells in vivo. *J. Cell Biol.* 22, 392-398, 1984.
24. Menyhárt, J.: Endogenous stimulatory and inhibitory agents of cell proliferation. In: K. Lapis and A. Jeney (eds) *Regulation and Control of Cell Proliferation*. Akadémiai Kiadó, Budapest, pp. 361-398.
25. Menyhárt, J., Gróf, J.: Urea as a selective inhibitor of arginosuccinate lyase. *Eur. J. Biochem.* 75, 405-409, 1979.
26. Menyhárt, J., Gróf, J.: Composition, toxicity and diffusibility of middle molecular weight substances (MMS) prepared from sera of healthy and uremic individuals. *J.Mol.Med.* 2, 371-380, 1979.
27. Menyhárt, J., Gróf, J.: Ion exchange chromatographic, gel filtration and isotachophoretic analysis of normal and uremic sera. *Acta Chir.Hung.* 22, 47-60, 1981.
28. Menyhárt, J., Gróf, J.: Many hitherto unknown peptides are principal constituents of uremic "middle molecules". *Clin.Chem.* 27, 1712-1716, 1981.
29. Menyhárt, J., Gróf, J., Idei, M., Pajor, A., Gouth, J.: Novel trends in clinical peptide research. In: F.A. László and F. Antoni (eds) *Biomedical Significance of Peptide Research*. Akadémiai Kiadó, Budapest, pp. 9-27, 1984.
30. Menyhárt, J., Marcsek, Z.: A chalone-like protein of pulmonary origin. In: E. Reinhard (ed.) *Proceedings of the International Research Congress on Natural Products as Medicinal Agents*. *Planta Medica* 39, 252-257, 1980.
31. Menyhárt, J., Marcsek, Z., Gróf, J.: Proliferation-related peptides in quiescent and regenerating rat liver. *Acta Physiol. Hung.* 58, 119-129, 1981.
32. Minarovits, J., Steinitz, M., Boldog, F., Imreh, S., Wirschubsky, Z., Ingvarsson, S., Hedenskog, M., Minarovits-Kormuta, S., Klein, G.: Differences in c-myc and pvt-1 amplication in sewa sarcoma sublines selected for adherent or non-adherent growth. *Int.J.Cancer* 45: (in proof), 1990.
33. Pajor, A., Gróf, J., Idei, M., Menyhárt, J., Zsolnai, B.: Uteroinhibin: a new substance isolated from amniotic fluid inhibits uterine contraction. *Acta Physiol.Hung.* 59, 325-328, 1982.
34. Pajor, A., Gróf, J., Menyhárt, J.: Possible origin of amniotic fluid constituents affecting thromboplastic activity. *Acta Physiol.Hung.* 64, 117-122, 1984.
35. Papp, Gy., Gróf, J., Menyhárt, J.: Disorders of the urea cycle in pathospermias. *Acta Chir.Hung.* 23, 45-53, 1982.

36. Papp, Gy., Gróf, J., Menyhárt, J.: The role of amino acids with basic character in male fertility. *Int.Urol. Nephrol.* 15, 195-203, 1983.
37. Ribai, Zs., Vallent, K., Gróf, J., Menyhárt, J., Idei, M.: Quantitative and qualitative changes in serum oligopeptide components of patients with end-stage malignant tumour disease. *Acta Physiol.Hung.* 60, 129-134, 1982.
38. Siklós, P., Ungár, L., Hercz, P., Tótpál, Á., Németh-Csóka, Garam, T.: K cell activity is enhanced intrapartum. *Immunol. Lett.* 13, 133-135, 1986.
39. Siklósi, Gy., Bakos, L., Marcsek, Z.: A hormonal diagnostic method differentiating between various forms of hirsutism. *Acta Med.Hung.* 36, 337-338, 1979.
40. Siklósi, Gy., Bakos, L., Csömör, S., Jr., Marcsek, Z., Olajos, F.: Episodic secretion of hormones and diagnostic value of single blood estimates; I. LH, FSH, prolactin. *Acta Med.Hung.* 41, 195-202, 1984.
41. Siklósi, Gy., Hintalan, A., Csömör, S., Jr., Bakos, L., Siklós, P., Olajos, F., Marcsek, Z.: Episodic secretion of hormones and diagnostic value of single blood estimates; III: testosterone, androstene dione, dehydroepiandrosterone, dehydroepiandrosterone-sulphate, cortisol. *Acta Med.Hung.* 41, 213-222, 1984.
42. Siklósi, Gy., Pajor, A., Marcsek, Z.: The androgenic parameters of hirsutism assessed by multiple blood sample analysis. *Acta Med.Hung.* 36, 333-336, 1979.
43. Siklósi, Gy., Pajor, A., Marcsek, Z.: A qualitative method differentiating between serum androgens of adrenal and ovarian origin. *Acta Med. Hung.* 36, 339-343, 1979.
44. Siklósi, Gy., Siklós, P., Hintalan, A., Olajos, F., Marcsek, Z.: Episodic secretion of hormones and diagnostic value of single blood estimates, II. progesterone, oestradiol, oestrone. *Acta Med.Hung.* 41, 203-211, 1984.
45. Sziklai, I., Gróf, J., Ribari, O., Menyhárt, J., Piffko, P.: Peptides of the otosclerotic perilymph examined by analytical isotachopheresis. *Acta Otolaryngol. (Stockh)* 99, 25-34, 1985.
46. Sziklai, I., Gróf, J., Ribári, O., Menyhárt, J.: Possible role of peptides derived from otosclerotic bone in the mechanism of sensorineural hearing loss. *Acta Otolaryngol. (Stockh)* 100, 253-259, 1985.
47. Szilárd, J., Gál, Gy., Gróf, J., Idei, M., Menyhárt, J.: Klinische und biochemische Erfahrungen bei der Hamodialyse Schizophrener. In: E. Klaus und K. Seidl (eds) *Detoxikationsverfahren bei neuropsychiatrischen Erkrankungen.* Verlag Volk und Gesundheit, Berlin, pp. 43-49, 1983.
48. Timár, J., Boldog, F., Kopper, L., Lapis, K.: Flow cytometric measurement and electron microscopy of cell surface glycoaminoglycans using acridine orange. *Histochem. J.* 17, 71-76.
49. Ungár, L., Boldog, F., Potoczky, A., Sárközy, S., Menyhárt, J., Zsolnay, B.: Measurement of placental cell proliferation. In: H. Janisch and E. Reinhold (eds) *Dilemmas in Gestosis.* George Thieme Verlag, Stuttgart-New York, pp. 147-152, 1983.
50. Ungár, L., Kazy, Z., Boldog, F., Menyhárt, J., Siklós, P.: Assessment of the DNA synthesis in placental cells by using cytopluorograph. In: C. Goecke (ed.) *Actual Standing in EPH-Gestosis.* Elsevier SPC, Amsterdam, pp. 257-261, 1985.

III. Szabadalom/Patent

Eljárás biológiailag aktív folyadék komponensek szétválasztására és elemzésére. (Procedure allowing the separation and analysis of biologically active fluid ingredients). Magyar szabadalmi bejelentés száma/Hungarian Patent No:494/1980.

IV. Nemzetközi kapcsolatok/International Connections

1. Institut de Reserches Scientifiques sur le Cancer, Villejuif Cedex, France.
Isolation and characterisation of liver- and lung-specific endogenous proliferation inhibitor substances (1979-1983)
2. Nephrological Research Institute of the Slovakian Academy of Sciences, Bratislava;
Minsk Branch of All-Union Research Institute of Genetics and Industrial Microorganisms, Minsk, USSR;
Isolation and characterisation of uremic serum peptides (1979-1984)
3. Boston Biomedical Research Institute, Department of Muscle Research;
Studies on functionally important muscle proteins (1980-1983)
4. Karolinska Institute, Institute for Tumor Biology, Stockholm
Genetic mechanisms involved in the genesis of renal cell carcinoma (1986-cont.)

2.

**KLINIKAI IMMUNOLÓGIAI, NEFROLÓGIAI ÉS ENDOKRINOLÓGIAI
RÉSZLEG**

**Cím: Semmelweis OTE, II. Belgyógyászati Klinika
Budapest, Szentkirályi u. 46.**

**DEPARTMENT OF CLINICAL IMMUNOLOGY, NEPHROLOGY AND
ENDOCRINOLOGY**

**Address: 2nd Clinic of Medicine,
Semmelweis University of Medicine,
Budapest, Szentkirályi street 46.**

Telefon/Phone: 113-8688

I. A kutatások résztvevői/Research Participants

1. Részlegvezető/Department Head

Dr. Petrányi Gyula (M.D.), akadémikus/Member of the Academy
(1979-1983)

Dr.Fehér János (M.D.), tud.doktora/D.Sc. (1983-)

2. Akadémiai kutatók/Academic Staff

Idő/time [%]

a./ Tudományos tanácsadó/Scientific Adviser

Dr.Takács Lajos (M.D.), tud.doktora/D.Sc. (1979-) 80

b./ Tudományos főmunkatársak/Senior Research Fellows

Dr.Bencsáth Pál (M.D.), kandidátus/C.Sc. (1979-) 90

Dr.Kalmár László (M.D.), kandidátus/C.Sc. (1979-) 20

Dr.Szalay László (M.D.), kandidátus/C.Sc. (1979-) 10

c./ Tudományos munkatársak/Research Fellows

Dr.Szénási Gábor (1979-) 100

Dr.Varga Ibolya (Ph.D.) (1982-) 80

3. Egyetemi kutatók/University Staff

a./ Professzorok/Professors

Dr.Gláz Edlt (M.D.), kandidátus/C.Sc. (1979-) 30

Dr.Gergely Péter (M.D.), tud.doktora/D.Sc. (1979-) 30

b./ Adjunktusok/Senior Assistants

Dr.Kliss Róbert (M.D.) (1979-) 15

Dr.Kottra Gábor (Ph.D.), kandidátus/C.Sc. (1979-1988) 30

Dr.Lada Györgyi (M.D.), kandidátus/C.Sc. (1979-1983) 10

Dr.Nékám Kristóf (M.D.), kandidátus/C.Sc. (1979-) 10

Dr.Rácz Károly (M.D.), kandidátus/C.Sc. (1986-) 30

Dr.Rhenso González-Cabello (M.D.), kandidátus/C.Sc. (1982-) 30

c./ Tanársegédek/Assistants

Idő/time [%]

Dr.Benedek Kálmán (M.D.) (1980-1984)	80
Dr.Fűtő László (M.D.) (1986-)	10
Dr.Perl András (M.D.), kandidátus/C.Sc. (1980-1986)	30
Dr.Pócsik Éva (M.D.) (1980-1984)	100
Dr.Török Katalin (M.D.) (1979-1986)	20
Dr.Vida Sándor (M.D.) (1980-1984)	10

4. Tudományos ösztöndíjasok/Full-time Ph.D. Students

Dr.Cao Van Vien (M.D.) (1985-1988)	100
Dr.Nguyen Chi Phi (Ph.D.) (1988-)	100
Dr.Sergev Orlin (M.D.) (1985-)	100

5. Laboratoriumi asszisztensek és technikusok/Laboratory Assistants and Technicians

Albert Karola
 Asztalos Lajosné
 Békés Gézőné
 Egyed Ferencné
 Kérl Gáborné
 Polyák Jánosné
 Schender Mária
 Szarvassy Imre
 Tóth Ildikó

II. Tudományos eredmények (1979-1989)

A./ Klinikai immunológia: Az immunreakciók szabályozása

Célul tűztük ki olyan in vitro teszt kidolgozását, amely a T limfociták citotoxikus aktivitását méri. Ily módon, a korábban alkalmazott módszereket kiegészítve, a celluláris immunfunkciók valamennyi részletét tanulmányozni lehetett, s így a különféle immunfarmakonok komplex tesztelése lehetővé vált. A kutatások másik része az immunreakciók szabályozásának megismerésére irányult.

Modellrendszert dolgoztunk ki az aktivált T sejtek citotoxikus aktivitásának vizsgálatára. Tisztáztuk, hogy mind a CD4+, mind a CD8+ T sejtek szerepet játszanak a citotoxikus aktivitásban (9), valamint a nagygranulájú (LGL) sejtek egy része is (14).

A dializálható leukocita extraktum (DLE, régebbi nevén transzfer faktor) mind in vitro, mind in vivo fokozza a csökkent ADCC és NK citotoxikus aktivitást (1,6).

Bizonyítottuk, hogy a "spontán" szuppresszor sejt jelenség a tenyésztés során bekövetkező prosztaglandin érzékenység csökkenésével magyarázható (5). A prosztaglandinok gátolják a leukociták spontán (random) migrációját, és limfokín (LIF) termelését (9), valamint szabályozzák a citotoxikus aktivitást is (12).

Kimutattuk a T limfociták IL-2 termelésének csökkenését SLE-ben (16), melyet a ciklikus nukleotidok anyagcserezavarával magyaráztunk (18).

Bioesszét dolgoztunk ki az alfa-TNF biológiai hatásainak mérésére (19). Kimutattuk, hogy emberi monociták IL-1 és TNF termelése kóros állapotban csökken.

Tisztáztuk, hogy a hisztaminerg receptorok befolyásolják a citotoxikus (ADCC, NK és LDCC) reakciókat (2,3).

A glutaurin (gamma-L-glutamil taurin) fokozza a kóros állapotokban csökkent ADCC és NK aktivitást (4).

A thymopoetinből származó pentapeptid ill. analógjai fokozzák az LDCC aktivitást (11).

Tisztáztuk a ketokonazol immunszuppresszív hatását (10), a lentinan citotoxikus aktivitást fokozó hatását (16), a retinoidok immunológiai hatásait (17), és a szabadgyökfogó vegyületek immunmoduláns hatásait (15).

B./ Kísérletes nefrológia: Tubulusfunkciók neurális szabályozása

A vese szimpatikus beidegzésének a tubuláris transzport- folyamatokra gyakorolt hatása a mai napig vitatott, jóllehet bizonyított tény, hogy renális szimpatéktómia a só- és vízürítést jelentősen fokozhatja hemodinamikai változások nélkül is, míg a stimuláció ellentétes irányban hat. Denerválás, ill. idegizgatás következtében hasonlóképpen módosul számos aktív tubuláris transzport-folyamat is. Kérdés azonban, hogy a veselidegeknek éber, nyugalmi állapotban milyen szerep tulajdonítható a só- és vízháztartás, a "milieu Interieur" homeosztázisának fenntartásában.

Főbb eredményeink az alábbiakban összegezhetők:

Altatott kutyák krónikusan deszimpatizált veséje túlérzékenyé válik a keringő katekolaminokkal szemben, míg ez akut denerválás után nem tapasztalható (14).

Altatott patkányokban krónikus renális szimpatéktómia döntően a proximális tubulus só- és vízrezorpcióját csökkenti jelentős disztális kompenzációval, RBF, GFR, SNGFR, valamint a peritubuláris környezet Starling erőinek változása nélkül (1,3). Denerválás közvetlen tubuláris hatásként mérsékli a Henle-kacs és a disztális tubulus elektrolit-transzportját (4,6). A szervetlen

foszfát proximális transzportja jelentősen csökken, ettől disztális fokozódik, a Tm alacsonyabb mind akut mind krónikus szimpatektómia után, a keringő PTH szinttől függetlenül (10). A transztubuláris potenciálkülönbség "negatív shiftje" az aktív transzport-folyamatok csökkenésére utal (9). A plazmavolumen-vesztés a denervációs jelenségben lényegi szerepet nem játszik (11). A proximális rezorpció- csökkenés Na-megvonás alatt is igazolható, de a disztális kompenzáció teljes (12). Vazodilatációt követő renorenális reflex nem volt igazolható (8). Kétoldali denerválás hatásai az egyoldaliéhoz hasonlóak (2). Az efferens idegi aktivitás csökkenése szerepet játszik az urorefraktómiát követő ellenoldali fokozott víz- és Na-ürítésben (15). A vazopresszin natriuretikus hatásáért elsősorban a vastag felszálló szegmentum tehető felelőssé (7).

Éber - különböző törzsekből származó - patkányokban denervációs jelenség nem tapasztalható a sóbevitel változtatása esetén sem (2,5,11). Éhezés alatt a veseidegek részt vesznek a Na-konzerválásában (13).

Összefoglalásul: altatott állapotban a renális szimpatikus aktivitásnak a tubuláris transzport-folyamatokra gyakorolt hatása meggyőző. Éber állapotban, nyugalmi, stresszmentes körülmények között azonban a vese Na-konzerválásában betöltött szerepe csekély. Jelentősége ezért elsősorban patofiziológias állapotokban van.

C./ Klinikai endokrinológia: Az aldosteron- ill. corticosteroid-termelés szabályozásának és patofiziológiai szerepének vizsgálata, különös tekintettel a különböző etiológiájú hypertóniák kialakulására.

Célkitűzés: a hypothalamus-hypophysis-mellékvesekéreg-rendszer működésének szabályozásában jelentős szerepe van a biogén amin transzmisszióknak, valamint a neuropeptideknek. Funkciójuk definiálása a corticosteroid-dependens hypertonia pathomechanizmusának, ezen betegségek diagnosztikájának fejlesztéséhez, és eredményesebb terápiájához vezethet.

Eredmények: anti-serotonin hatású farmakonok steroid bioszintézist gátló hatását mutattuk ki a gluco- és mineralocorticoid termelő adenómák esetén (1). Ezen adatok elsőként igazolták a farmakonok perifériás, a mellékvesekéreg szintjén ható steroid bioszintézist gátló és terápiás hatását Cushing és Conn szindrómás betegeknek (11,15).

A dopamin-agonista bromocriptin jelentős corticosteroid bioszintézist gátló hatását igazoltuk in vitro és in vivo. Elsőként írtuk le a mellékvesekéreg szintjén ható, perifériás steroid-gátló effektusát (6,10).

A somatostatin és analógjainak steroid bioszintézist gátló hatását elsőként mutattuk ki mellékvesekéreg sejt- rendszerekben (3), felvetve a steroid-bioszintézis szabályozásában betöltött "paracrin" szerepét.

Humán steroid-termelő adenómák izolált sejtrendszerében, az alfa- és a gamma-MSH a corticosteroid-bioszintézist jelentősen stimulálja (5,7), míg a leu- és met-enkefalin szignifikánsan gátolja (2,4). Ismerte a mellékvesevelő magas neuropeptid-koncentrációját, adataink ezen neuropeptidek új, perifériás neurohumorális mechanizmuson alapuló szabályozását támasztják alá, hasonlóan a catecholaminok steroid-termelést szabályozó szerepéhez (11,13).

A hANP vizsgálatával, elsőként igazoltuk ezek corticosteroid- bioszintézist gátló hatását aldosteronómákban (14). Megállapítottuk, hogy a hANP a steroid bioszintézis korai szakaszát gátolja (8), továbbá, hogy primer aldosteronismusban in vivo is jelentős corticosteroid-bioszintézist gátló és hypotenzív hatással rendelkezik (9). Elsőként mutattuk ki humán aldosteronómákban a hANP jelenlétét (12,16). Mindezek alapján feltételezzük, hogy a renin-angiotensin-aldosteron rendszer "ellenregulációjában" a hANP igen jelentős szerepet tölt be, elsősorban steroid-dependens hypertóniával járó állapotokban és kórképekben (15).

Vizsgálataink cáfolják a corticosteroid termelő adenomák autonomiájára vonatkozó álláspontot, és ezzel megalapozzák a Cushing és Conn szindrómás betegek esetében is a steroid-termelés regulációján keresztül ható, a steroid termelést jelentősen csökkentő farmakonok eredményes terápia alkalmazását (10,15).

Research Review (1979-1989)

A./ Clinical Immunology: Regulation of Immune reactions

Aims: Assay systems were developed in order to study the most important steps of cell-mediated immune reactions, and to perform a complex analysis of immunoregulatory substances. The possible mechanism of action of various endogenous peptides and immunoregulatory substances was also studied.

Results: A test system was developed in order to study the cytotoxic activity of T cells. Both CD4+ and CD8+ T cells and LGL cells participate in cytotoxic activity (9,10,14).

Dialysable leukocyte extract exalted the depressed ADCC and NK activity both in vitro and in vivo (1,6).

The suppressor effect of human lymphocytes decreases on culture. This effect is due to a diminished sensitivity to endogenous prostaglandins (5). Prostaglandins inhibit random migration of leukocytes, LIF production and cytotoxic activity (9,12).

IL-2 production of T cells is impaired in SLE (16), due to the impaired cyclic nucleotide metabolism (18).

A bioassay was developed for TNF alpha. The production of TNF and IL-1 was found to be reduced in various diseases (19).

Histamine receptors play a crucial role in the regulation of ADCC, NK and LDCC activity (2,3).

Glutamine enhances depressed NK and ADCC activity in vivo (4).

Thymopointin pentapeptide and its analogues exalt LDCC activity in vitro (11).

Ketoconazole suppresses immune functions (10); lentinan, a polysaccharide of fungal origin, stimulates cytotoxic activity (16); retinoids in vivo stimulate immune reactivity (17); free radical scavenger compounds modulate immune functions (15).

B./ Experimental Nephrology: Neural regulation of renal tubular functions.

The possible direct influence of the sympathetic innervation of the kidney on tubular transport functions has been the subject of discussions despite the fact that renal sympathectomy brings about an increased salt and water excretion while nerve stimulation results in an opposite effect in absence of hemodynamic changes. In anesthetized dogs, a number of active transport processes undergo similar alterations on denervation or nerve stimulation. There is, however, still a considerable ambiguity concerning the role of renal nerves in the maintenance of salt and water balance in the conscious, resting state.

Main results:

The chronically denervated kidney of anesthetized dogs exhibits supersensitivity to circulating catecholamines while no such an effect is seen after acute denervation (14). Chronic renal denervation in the anesthetized rat results in a primary decrease of proximal reabsorption in the absence of changes in either RBF, GFR, SNGFR or in the Starling forces of the peritubular environment (1,3). Transport of electrolytes within Henle's loop and distal tubule is diminished on denervation, suggesting a direct influence of sympathectomy on these structures (4,6). Proximal tubular transport of inorganic phosphate is markedly reduced, while reabsorption in distal segments

is enhanced after both acute and chronic sympathectomy, independent of the circulating PTH level (10). The "negative shift" in transtubular potential difference points to a decrease in active transport processes (9). Plasma volume contraction has no important role in denervation phenomenon (11). A decrease in proximal reabsorption can be demonstrated during sodium depletion which, however, is fully counterbalanced in distal nephron segments (12). No renorenal vasoconstrictor reflex could be identified by unilateral vasodilation (8). The effects of bilateral denervation are very similar to those of unilateral sympathectomy (2). Following uninephrectomy, decreased efferent nervous activity contributes to the enhanced water and sodium excretion by the contralateral kidney (15). The natriuretic action of vasopressin is confined mainly to the thick ascending limb (7).

In conscious rats no denervation phenomenon was observed even during considerable changes of sodium supply (2,5,11). The renal nerves participate in sodium conservation during fasting (13).

Conclusions:

During anesthesia the influence of renal sympathetic activity on tubular transport processes is evident. In conscious state, i.e. in stressless, resting condition however, it has no major role in renal sodium conservation. Therefore, in pathophysiological states the role of renal nerves is of importance.

C./ Clinical Endocrinology: Biogenic amines and neuropeptides play a crucial role in the regulation of the hypothalamus-pituitary-adrenocortical system. Investigation of their function in the pathomechanism of corticosteroid-dependent hypertension may lead to a more efficient diagnosis, therapy and rehabilitation of such patients.

Results:

The direct inhibitory effect of anti-serotonin drugs on corticosteroid biosynthesis was demonstrated in gluco- and mineralocorticoid-producing adenomas (1). These studies revealed the effect of anti-serotonin drugs to be peripheral affecting biosynthesis of corticosteroids at the level of adrenal cortex. These drugs are efficiently used to relieve the clinical symptoms of patients with Cushing's or Conn's syndrome.

The corticosteroid biosynthesis inhibitory effect of the dopamine agonist bromocriptine was demonstrated both in vitro and in vivo (6,10).

Steroid biosynthesis-inhibitory effect of somatostatin and its analogs was shown also in cultured adrenocortical cells (3). This observation suggests that somatostatin may have a "paracrine" steroid-regulating effect.

Alpha- and gamma-MSH stimulate, while leu- and met-enkephalin inhibit the corticosteroid biosynthesis (5,7). Considering the high neuropeptide content of the adrenal medulla, our data suggest a new mechanism of neurohumoral regulatory action of these substances, similar to that of catecholamines in the production of steroids (11,13).

The inhibitory effect of hANP on corticosteroid production was demonstrated in aldosteronomas in vitro (14). hANP exhibits significant hypotensive and aldosterone secretion inhibitory effects also in primary aldosteronism (9). The presence of hANP in human aldosterone-producing adenomas was demonstrated (12,16). We assume that hANP plays a significant role in the counterregulatory mechanism of the renin-angiotensin-aldosterone system. This may be essential in steroid-dependent hypertension, in particular in hypermineralocortical states (15).

Our data do not support the previous assumption concerning the autonomy of glucocorticoid- and mineralocorticoid-producing adenomas. Therefore, the use of drugs decreasing steroid production by affecting the regulation should be considered to relieve the symptoms of patients with Cushing's or Conn's syndrome as a preoperative or supportive therapy (10,15).

Irodalmi hivatkozások/List of References

A./ Klinikai Immunológia/Clinical Immunology

1. Nékám, K., Láng, T., Török, K., Kalmár, L., Gergely, P., Petrányi, Gy.: Effects of therapy with dialyzable leukocyte extracts (containing transfer factor activity) on antibody -dependent cytotoxicity in humans. *Clin.Immunol.Immunopathol.* 13, 407-412, 1979.
2. Láng, I., Török, K., Gergely, P., Nékám, K., Petrányi, Gy.: Effect of histamine receptor blocking on human antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity. *Scand. J. Immunol.* 13, 361-366, 1981.
3. Láng, I., Gergely, P., Petrányi, Gy.: Effect of histamine-receptor blocking on human spontaneous lymphocyte-mediated cytotoxicity. *Scand.J.Immunol.* 14, 573-576, 1981.
4. Láng, I., Feuer, L., Nékám, K., Török, K., Kalmár, L., Gergely, P.: Effect of treatment with glutaurine on human antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity (ADCC). *Immunol.Communic.* 10, 499-509, 1981.
5. Kalmár, L., Gergely, P.: Enhancement of mitogen-induced lymphocyte proliferation after preincubation is due to the altered sensitivity to prostaglandins. *Immunol. Lett.* 4, 179-183, 1982.
6. Láng, I., Nékám, K., Gergely, P., Petrányi, Gy.: Effect of in vivo and in vitro treatment with dialyzable leukocyte extracts on human natural killer cell activity. *Clin.Immunol.Immunopathol.* 25, 139-144, 1982.
7. Perl, A., Gonzalez-Cabello, R., Gergely, P.: Stimulation by carrageenan of lectin-dependent cytotoxicity against adherent HE-2 cells. *Clin.Exp.Immunol.* 54, 567-571, 1983.
8. Kalmár, L., Gergely, P.: Effect of prostaglandins on polymorphonuclear leukocyte motility. *Immunopharmacology*, 6, 167-175, 1983.
9. Perl, A., Gonzalez-Cabello, R., Láng, I., Gergely, P.: Effector activity of OKT4 and OKT8+ T cell subsets in lectin-dependent cell-mediated cytotoxicity against adhered HEp-2 cells. *Cell. Immunol.* 84, 185-193, 1984.
10. Gergely, P., Nékám, K., Láng, I., Kalmár, L., Gonzalez-Cabello, R., Perl, A.: Ketoconazole in vitro inhibits mitogen-induced blastogenesis, antibody-dependent cellular cytotoxicity, natural killer activity and random migration of human leukocytes. *Immunopharmacology*, 7, 167-170, 1984.
11. Perl, A., Gonzalez-Cabello, R., Nékám, K., Gergely, P., Fehér, J.: Stimulation by thymopoietin oligopeptides of lectin-dependent cell-mediated cytotoxicity in patients with systemic lupus erythematosus. *J.Clin.Lab.Immunol.* 18, 119-122, 1985.
12. Perl, A., Láng, I., Gonzalez-Cabello, R., Filep, J., Nékám, K., Gergely, P., Fehér, J.: Indomethacin abrogates the suppression by cyclosporin A of lectin-dependent cell-mediated cytotoxicity to HEp-2 cells. *Immunopharmacology*, 11, 39-45, 1986.
13. Perl, A., Gonzalez-Cabello, R., Onody, K., Bodó, I., Gergely, P.: Independence of depressed lectin-dependent cell-mediated cytotoxicity from interleukin-2 production in patients with systemic lupus erythematosus. *Clin.Exp.Immunol.* 65, 286-292, 1986.

14. Perl, A. Gonzalez-Cabello, R., Laskay, T., Benczur, M., Láng, I., Onody, K., Nékám, K., Gergely, P., Fehér, J.: Lectin-dependent cell-mediated cytotoxicity and blastogenesis by large granule-enriched and depleted lymphocytes. *Clin. Exp. Immunol.* 63, 171-178, 1986.
15. Láng, I., Nékám, K., Deák, Gy., Müzes, Gy., Gonzalez-Cabello, R., Kádár, J., Perl, A., Gergely, P., Fehér, J.: Effect of (+)cyanidazol-3 on cellular immune reactions and on superoxide dismutase activity in vitro. *Free Rad.Res.Comms.* 4, 51-60, 1987.
16. Gergely, P., Vallent, K., Bodó, I., Fehér, J., Kaneko, Y.: Effects of lentinan on cytotoxic functions of human lymphocytes. *Immunopharmacol.Immunotoxicol.* 10, 157-163, 1988.
17. Vien, C.V., Gonzalez-Cabello, R., Bodó, I., Gergely, P.: Effect of vitamin A treatment on the immune reactivity of patients with systemic lupus erythematosus. *J. Clin. Lab. Immunol.* 26, 33-35, 1988.
18. Phi, N.C., Takáts, A., Bihn, V.H., Vien, C.V., Gonzalez-Cabello, R., Gergely, P.: Cyclic AMP level of lymphocytes of patients with systemic lupus erythematosus. *Immunol. Lett.* 23, 61-64, 1989.
19. Müzes, Gy., Deák, Gy., Láng, I., Gonzalez-Cabello, R., Gergely, P., Fehér, J.: Depressed production of interleukin-1 and tumor necrosis factor-alpha in patients with alcoholic liver cirrhosis. *Liver*, 9, 302-306, 1989.

B/Kísérletes nefrológia/Experimental Nephrology

1. Bencsáth, P., Asztalos, B., Szalay, L., Takács, L.: Renal handling of sodium after chronic renal sympathectomy in the anesthetized rat. *Amer.J.Physiol.* 236, F513-F518, 1979.
2. Bencsáth, P., Fekete, M.I., Kanyicska, B., Szénási, G., Takács, L.: Renal excretion of sodium after bilateral renal sympathectomy in the anesthetized and conscious rat. *J.Physiol.* 331-350, 1982.
3. Bencsáth, P., Kottra, G., Takács, L.: Intratubular and peritubular capillary hydrostatic and oncotic pressures after chronic renal sympathectomy in the anesthetized rat. *Pflügers Arch.* 398, 60-63, 1985.
4. Bencsáth, P., Szénási, G., Takács, L.: A tubulusfunkciók neurális szabályozásának újabb eredményei.(New data on the neural regulation of tubular functions) *Az Orvostudomány Aktuális Problémái*, 50, 206-210, 1985 (in Hungarian).
5. Bencsáth, P., Szénási, G., Takács, L.: Renal nerves and sodium conservation in conscious rats. *Amer.J.Physiol.* 248, F616-617, 1985.
6. Bencsáth, P., Szénási, G., Takács, L.: Water and electrolyte transport in Henle's loop and distal tubule after renal sympathectomy in the rat. *Amer.J.Physiol.* 249, F308-F312, 1985.
7. Fejes-Tóth, G., Szénási, G.: The effect of vasopressin on renal tubular 22Na efflux in the rat. *J.Physiol.* 318, 1-7, 1981.
8. Kottra, G., Turchányi, B., Takács, L.: Renorenal vasomotor reflex. *Acta Physiol.Hung.* 57, 123-130, 1981.
9. Szénási, G., Kottra, G., Bencsáth, P., Takács, L.: Effect of renal denervation on free flow proximal tubular potential difference in the rat. *Acta Physiol.Hung.* 57, 131-135, 1981.

10. Szénási, G., Bencsáth, P., Lehoczky, E., Takács, L.: Tubular transport of phosphate after renal denervation in the anesthetized rat. *Amer.J.Physiol.* 240, F481-F486, 1981.
11. Szénási, G., Bencsáth, P., Takács, L.: Water and sodium excretion in unilaterally denervated normal and sodium depleted rats before and after plasma volume repletion. *Pflügers Arch.* 393, 131-138, 1982.
12. Szénási, G., Bencsáth, P., Takács, L.: Proximal tubular transport and urinary excretion of sodium after renal denervation in sodium depleted rats. *Pflügers Arch.* 403, 146-150, 1985.
13. Szénási, G., Bencsáth, P., Szalay, L., Takács, L.: Fasting induces denervation natriuresis in the conscious rat. *Amer.J.Physiol.* 249, F753-F758, 1985.
14. Szénási, G., Bencsáth, P., Takács, L.: Supersensitivity of the renal tubule to catecholamines in the chronically denervated canine kidney. *Pflügers Arch.* 406, 57-59, 1986.
15. Szénási, G., Kottra, G., Bencsáth, P., Takács, L.: Renal nerves in exaggerated water and sodium excretion by hypertrophised kidney of anesthetized rats. *Amer.J.Physiol.* 254, F32-F38, 1988.

C/ Kólinikai endokrinológia/Clinical Endocrinology

1. Rácz, K., Wolf, I., Kiss, R., Lada, Gy., Vida, S., Gláz, E.: Corticosteroidogenesis by isolated human adrenal cells: effect of serotonin and serotonin antagonists. *Experientia*, 35, 1532-1533, 1979.
2. Rácz, K., Gláz, E., Kiss, R., Lada, Gy., Varga, I., Vida, S., Medzihradsky, K., Lichtwald, K., Vecsei, P.: Adrenal cortex - a newly recognized peripheral site of action of enkephalins. *Biochem.Biophys.Res.Commun.* 97, 1346-1353, 1980.
3. Gláz, E., Rácz, K., Varga, I., Kiss, R., Vida, S., Lada, Gy., Lichtwald, K., Vecsei, P.: Somatostatin inhibits corticosteroid production in human dispersed aldosteronoma cell system. In: *Neuropeptides, neurotransmitters and regulation of endocrine process.* Eds: Endrőczy, E. et al. Akadémiai Kiadó, Budapest, pp. 519-526, 1983.
4. Rácz, K., Gláz, E., Kiss, R., Lada, Gy., Varga, I., Vida, S.: Metenkephalin inhibits mineralocorticoid production in isolated human aldosteronoma cells. *J.Clin.Endocrinol.Metabol.* 54, 656-660, 1982.
5. Rácz, K., Varga, I., Kiss, R., Gláz, E.: ACTH sensitivity of isolated human pathological adrenocortic cells: variability of responses in aldosterone, corticosterone, deoxycorticosterone and cortisol production. *J. Steroid Biochem.* 20, 1187-1194, 1984.
6. Rácz, K., Buu, N.T., Kuchel, O., DeLean, A.: Dopamine 3-sulfate inhibits aldosterone production in cultured bovine adrenal cells. *Am. J. Physiol.* 247, E431-E435, 1984.
7. Gláz, E., Varga, I., Kiss, R., Rácz, K.: Modulatory actions of alpha-MSH and beta-endorphin on corticosterone production in isolated human aldosteronoma cells. In: *The adrenal gland and hypertension.* Eds: Mantero et al. Raven Press, New York, 27, 83-88, 1985.
8. Gláz, E., Kuchel, O., Cartin, M., DeLean, A.: Atrial natriuretic factor inhibits the early pathway of steroid biosynthesis in bovine adrenal cortex. *FEBS Lett.* 192, 19-22, 1985.

9. Sergev, O., Rácz, K., Kiss, I., Varga, I., Fütő, L., Vecsei, P., Gláz, E.: Hypotensive effect of human atrial natriuretic peptide in patients with primary aldosteronism. *J. Hypertension*, 4, 573-575, 1986.
10. Gláz, E., Rácz, K., Kiss, R., Varga, I., Sergev, O., Fütő, L., Schaff, Zs., Vecsei, P., Gutkowska, J.: Mineralocorticoid producing adrenal neoplasia. In: *Endocrine aspects of malignancies*. Eds: Lapis, K., Eckhardt, S., Akadémiai Kiadó, Budapest, 12, 121-134, 1987.
11. Rácz, K., DeLean, A., Buu, N.T., Kuchel, O.: Adrenomedullary mechanisms in aldosterone regulation. In: *Corticosteroids and peptide hormones in hypertension*. Eds: Mantero, Vecsei, P. Raven Press, New York, 39, 77-91, 1987.
12. Schaff, Zs., Rácz, K., Gutkowska, J., Sergev, O., Kiss, R., Varga, I., Szende, B., Lapis, K., Fehér, J., Gláz, E.: Immunohistochemical localization of atrial natriuretic peptide in primary aldosteronism. *J. Exp. Pathol.* 3, 229-241, 1987.
13. Rácz, K., Varga, I., Kiss, R., Sergev, O., Fütő, L.: Modulatory actions of opioid peptides on corticosteroid production. Eds: Illás, Farsang, VHC Press, Weinheim, 313-327, 1988.
14. Gláz, E., Rácz, K., Varga, I., Kiss, R., Sergev, O., Fütő, L., Szécsényi, A., Schaff, Zs.: Atrial natriuretic peptide directly inhibits corticosteroid biosynthesis in human aldosterone-producing adenoma. *Acta Med.Hung.* 45, 377-386, 1988.
15. Gláz, E., Rácz, K., Kiss, R., Varga, I., Sergev, O., Fütő, L., Fehér, J.: Glucocorticoid and mineralocorticoid induced hypertension. In: *Progress in endocrinology 1988*, Eds: Imura et al. *Internat. Congress series No. 799*, Elsevier, Amsterdam-New York, 2, 1103-1110, 1988.
16. Rácz, K., Schaff, Zs., Varga, I., Sergev, O., Kiss, R., Fütő, L., Gutkowska, J., Gláz, E.: Atrial natriuretic peptide is present in human aldosteronoma tissue. In: *The adrenal and hypertension: from cloning to clinic*. Raven Press, New York, 57, 445-453, 1989.

III. Nemzetközi kapcsolatok/International connections

1. Pharmacological Institute of University of Heidelberg
A kortikoszteroid bioszintézis és elválasztás szabályozása (Regulation of corticosteroid biosynthesis and secretion)
2. Clinical Research Institute of Montreal (Canada)
Az aldosteron termelés szabályozása (Regulation of aldosterone production) (1983-1985)

3.

MIKROBIOLÓGIAI ÉS VIROLÓGIAI RÉSZLEG
Cím: Semmelweis OTE, Mikrobiológiai Intézet
1089, Budapest, Nagyvárad tér 4.

DEPARTMENT OF MICROBIOLOGY AND VIROLOGY

Address: Institute of Microbiology,
Semmelweis University of Medicine,
1089, Budapest, Nagyvárad square 4.

Telefon/Phone: 113-7070, 113-4880

I. A kutatások résztvevői/Research Participants

1. Részlegvezető/Department Head

Dr.Nász István (M.D.), akadémikus/Member of the Academy

2. Akadémiai kutatók/Academic Staff

Idő/time [%]

a./ Tudományos tanácsadó/Scientific Adviser

Dr.Berencsi György (M.D.), kandidátus/C.Sc. (1979-) 70

b./ Tudományos főmunkatárs/Senior Research Fellow

Dr.Lengyel Anna (M.D.) (1979-) 70

c./ Tudományos segédmunkatársak/Junior Research Fellows

Dr.Ascher Zoltán (Ph.D.) (1983-1987) 60

Dr.Barna Zsuzsa (M.D.) (1989-) 50

Bánrévi Andrea (Phar.Gr.) (1987-1988) 50

Dr.Molnár Árpád (M.D.) (1985-) 50

Dr.Orsós Márta (M.D.) (1988-) 50

Dr.Takács Mária (Ph.D.) (1982-1988) 70

3. Egyetemi kutatók/University Staff

a./ Professzor/Professor

Dr.Szeri Ilona (M.D.), tud.doktora/D.Sc. (1986-) 20

b./ Docensek/Associate Professors

Dr.Anderlik Piroska (M.D.), kandidátus/C.Sc. (1986-) 20

Dr.Ádám Éva (M.D.), kandidátus/C.Sc. (1979-) 30

Dr.Kulcsár Gizella (M.D.), tud.doktora/D.Sc. (1979-) 30

c./ Tudományos főmunkatárs/Senior Research Fellow

Dr.Báros Zsuzsanna (M.D.), kandidátus/C.Sc. (1986-) 20

d./ Adjunktusok/Senior Assistants

Dr.Dán Pál (M.D.) (1979-) 20

Dr.Geck Péter (M.D.) (1979-) 25

Dr.Horváth József (M.D.) (1979-1985) 25

Dr.Medveczky Péter (M.D.) (1979-1981) 30

Dr.Ongrádi József (M.D.) (1979-) 30

e/ Tanársegédek/Assistants

idő/time [%]

Dr.Fejér György (M.D.) (1984-)	30
Dr.Szomolányi Éva (M.D.) (1979-1985)	30

f/ Gyakornokok/Junior Assistants

Dr.Farkas Judit (M.D.) (1985-)	20
Dr.Kiss Alexi (M.D.) (1987-)	30
Dr.Palkonyai László (M.D.) (1979-1983)	20

4. Laboratóriumi asszisztensek/Laboratory Assistants

Dr.Baksay Zoltánné
 Bakonyi Zsuzsanna
 Bedecs Katalin
 Budainé Turczer Katalin
 Illyésné Réz Gabriella
 Kazi Róbert
 Lázár Márta
 Márványkövi Istvánné
 Sümeghy Györgyné
 Szőke Ferencné
 Végh Mária

5. Adminisztrátor/Associated Staff

Stuber Györgyné

II. Tudományos eredmények (1979-1989).

Az adenovírusok kapszidfehérjéinek vizsgálata során az 1-es típusú humán adenovírus (Ad h 1) hexonját kristályosítottuk (1) és meghatároztuk a két- és háromdimenziós hexonkristályok szerkezetét (2,3,39,41). A kristályosodás folyamatának elektronmikroszkópos követése során összekötő elemeket mutattunk ki a komplett hexont alkotó három polipeptid-alapegység, valamint a szomszédos hexonok polipeptidjei között (4,5). Az elektronmikroszkópos vizsgálatok alapján leírtuk a hexon polipeptidek kapcsolódásának törvényszerűségeit (6,41), és eredményeink alapján új adenovírus kapszidszerkezeti modellt szerkesztettünk (9,30,41).

A hexon-fehérje antigénszerkezetének vizsgálatához hibridoma módszerrel monoklonális ellenanyag-sorozatokot állítottunk elő különböző emberi és állati adenovírusok hexonja ellen (7,10,12,13,15,16). Az antigén determinánsok illetve az epitopok vizsgálatát több modern, részben általunk kidolgozott módszerrel végeztük számos tisztított humán illetve állati eredetű adenovírus hexonnal (9,14,37). Kimutattuk, hogy a hexon-fehérjét számos epitoppal lehet jellemezni (genus, subgenus, intersubgenus, intertípus és típus-specifikus epitopok). Megállapítottuk, hogy az azonos epitopok a hexon polipeptideken több kópia-számban fordulnak elő (11).

Az Ad h1 hexon elleni monoklonális ellenanyag sorozattal meghatároztuk az epitopok számát az egyes csoportokban ("cluster"-ekben), melyek az antigén területeket ("site") alkotják, és megállapítottuk, hogy az epitopok különálló vagy részben átfedő antigén-területeken helyezkednek el (12,30,41,42).

Az 1-es típusú adenovírus különböző inkomplett víruspartikuláiban oligopeptid térképezéssel vizsgáltuk a különböző peptidok jelenlétét és immunreaktivitását, és különbségeket találtunk az egyes prekursor fehérjékben, míg a hexon reaktivitása azonosnak bizonyult (19). A sorozatos víruspasszázsok során viszont a hexonok tulajdonságaiban változásokat mutattunk ki (22).

Genetikai vizsgálataink során egy új restrikciós endonukleázt izoláltunk, és a vírusnukleinsavak és enzimek tisztítására új módszereket dolgoztunk ki (32,33,41). Meghatároztuk számos, különböző emberi és állati adenovírus-típus DNS-ének fizikális (restrikciós) térképét több különböző restrikciós enzimmel, és vizsgáltuk az egyes DNS fragmentumok tulajdonságait (17,18,30,38,41,50). DNS-hibridizációs kísérletekkel összehasonlítottuk több különböző emberi és állati adenovírus-típus genomját, és meghatároztuk az egyes DNS-szakaszok tulajdonságait. Így többek között megállapítottuk, hogy az adenovírus-genom Elb jelű onkogén régiója homológiát mutat az Ad h 1 és Ad h 5 típus esetében, míg az Ad h 35 típus onkogén régiójának e része ettől teljesen eltérő géneket tartalmaz. A három adenovírus-típus genomjának más régióiban viszont néhány DNS frakció teljes, mások pedig részleges homológiát mutattak, de a teljes vírusgenomok összehasonlítása több homológia hiányt mutatott ki az Ad h 35 és az Ad h 1 és 5 között. Számítógépes analízissel megállapítottuk, hogy az adenovírus-genom prokarióta és eukarióta jellegű DNS töredékek mozaikszerű összekapcsolódásának révén épült fel (30,40,41). A különböző vírus-DNS részeket baktériumokban klónoztuk plazmidok felhasználásával, s az így nyert rekombinánsok vizsgálata, az előbbieken felsorolt kísérletekkel együtt számos gyakorlati és elméleti jelentőségű következtetésre vezetett, köztük a típus-specifititás genetikai hátterére, a daganatkeltő hatásra és AIDS-betegek esetleges kezelésének alapelveire vonatkozóan (17,18,20,21,23,40,41,46,49).

A vírusfertőzések patomechanizmusának és immunbiológiai hátterének tanulmányozása során emberi limfocitákkal végzett széleskörű vizsgálatok arra mutattak, hogy többféle krónikus recidiváló betegségben, meddőségben és bizonyos daganatokban szenvedő betegek sejtjeinek kis százalékában látens adeno- és herpesvírus-fertőzés mutatható ki limfocita-transzformációk

és immunfluoreszcens módszerrel (27,31,41). Ez károsíthatja az immunfunkciókat és különböző belső vagy külső tényezők hatására aktiválódhat. Ezt in vitro kísérletekkel is igazoltuk, melyek során kimutattuk, hogy egészséges emberek limfocitáiban, adenovírus fertőzés hatására, csökken az E-rozetta-képző aktivitás és a fitohemagglutinin stimulálhatóság, továbbá olyan limfokinek termelődnek, amelyek csökkentik a polymorphonuclearis granulocyták phagocytáló képességét. Sejttenyésztésben a mutáns és vad adenovírus törzsekkel mesterségesen létrehozott látens fertőzést különböző baktérium-endotoxin preparátumokkal és prostaglandin F kezeléssel reaktiválni tudtuk (34,35,41,43,44,48).

Nagyszámú, urogenitális tumorban szenvedő beteg komplex vizsgálata során az esetek több mint felében adenovírus-antigéneket találtunk a tumorsejtekben és a keringő limfocitákban és egyes esetekben más vírusokat (herpes-, papilloma-, retrovírusok) is kimutattunk elektronmikroszkópos vizsgálatokkal. Ugyanezen betegek vérsavójában 54%-ban találtunk az adenovírusok koral, non-virion antigénjeivel ragáló antitesteket is (24,25,36,47). Ezen eredményeket komplementációs kísérletekkel is igazoltuk, melyeket a tumorsejtek és limfociták kivonataival és defektív adenovírus mutánsokkal végeztünk. Ezek során kimutattuk, hogy a hőérékeny adenovírus-mutánsok, sejtkivonatok jelenlétében, restriktív hőmérsékleten is képesek replikálódni (26,45). Ez arra utal, hogy az említett sejtek tartalmazhatják az adenovírus DNS valamely részletét, de nem a teljes genomot, miután komplett fertőző vírus nem replikálódik bennük (41).

Vírusok immunmoduláns hatásának fejlett immunrendszerű konvencionális (Kv) felnőtt, illetve elégtelen immunfunkciójú csírámentes (Gf) felnőtt és Kv szopós egereken történt in vivo vizsgálata során kimutattuk, hogy élő, attenuált Infectious Bursal Disease vírust, valamint Newcastle Disease vírust (NDV) tartalmazó vakcinák immunstimuláns hatásúak, míg ugyanezen vírusok inaktivált vakcinái nincsenek hatással a Kv szopós egerek limfocitás chorlomeningitis vírus (LCMV) fertőzésre adott celluláris immunválaszára (28). Ezzel szemben az élő, attenuált NDV vakcina sem Gf, sem Kv felnőtt egerek celluláris immunválaszát nem befolyásolta. Ezek szerint az immunmoduláns hatások irányát az életkor befolyásolhatja.

Az élő, attenuált NDV vakcina-előkezelés, a Gf felnőtt egerek alacsony fibronectin (FN) szintjét az azonos korú Kv egerek FN szintjére emelte, a Kv egerek FN szintjét azonban nem befolyásolta (29). Így feltételezhető, hogy a Gf egerek alacsony FN szintjének oka a természetes mikrobióta FN-termelést stimuláló hatásának hiányára vezethető vissza.

A kalmodulin-antagonista chlorpromazin egyszeri nagy adagja szuppresszálta, míg kis dózisa stimulálta mind a fejletlen, mind a fejlett immunrendszerű egerek LCMV fertőzésre adott celluláris immunválaszát, így feltételezhető, hogy e szer terápiás hatásában immunmoduláns tényező is szerepet játszik.

Research Review (1979-1989)

In studies on the capsid proteins of adenoviruses, the hexon of human type 1 (Ad h 1) was crystallized (1), and the structure of the two- and three-dimensional crystalline arrays was determined (2,3,39,41). The process of crystallization was followed by electron microscopy and connective elements were revealed between the three polypeptide subunits constituting the complete hexon as well as between the polypeptides of the neighbouring hexons (4,5). Based on the results obtained by electron microscopy, the arrangement and the mutual orientation of the linking components and of the hexon polypeptide was described (6,41) and a new model of the capsid structure of adenoviruses was developed (9,30,41).

For examination of the antigenic structure of hexon protein, panels of monoclonal antibodies were produced against hexons of different human and animal adenovirus types (7,10,12,13,15,16). The investigation of antigenic determinants and epitopes was carried out with the purified hexons of several human and animal adenoviruses, using different, up-to-date methods developed partly by

us (8,14,37). It was found that the hexon protein can be characterized by a number of epitopes of different (genus, subgenus, intersubgenus, intertype and type) specificities. It was shown that identical epitopes can be found in multiple copies on the hexons (11). Using a series of monoclonal antibodies directed against Ad h 1 hexon, the number of epitopes in the epitope clusters constructing the antigenic sites was determined, and the epitopes proved to be localized on distinct, or on partly overlapping antigenic sites (12,30,41,42).

The different incomplete Ad h 1 particles were examined by oligopeptide mapping for the presence and immunoreactivity of different peptides. Differences were found in certain precursor proteins, while the reactivity of hexon was not altered (19). After serial passages of the virus, however, alterations were found in the properties of hexons (22).

In the course of genetic experiments, a new restriction endonuclease was isolated and new methods were developed for the purification of nucleic acids and enzymes (32,33,41). The restriction site maps of the DNAs of several different human and animal adenovirus types were determined and the properties of the DNA fragments were examined (17,18,30,38,41,50). The genomes of different human and animal adenovirus types were compared in DNA hybridization experiments and the homology of DNA regions as well as the characteristics of the oncogenic genes were determined. The E1b DNA region of Ad h 1 and Ad h 5 was shown to be homologous, while the same part in the oncogenic site of Ad h 35 genome was found to contain completely different genes. In other regions of the DNAs of the three afore-mentioned types, some fragments displayed total, others partial homology, but the comparison of complete genomes revealed the lack of homology in a few regions between Ad h 35 and Ad h 1 and 5 DNA. On computer analysis the construction of the adenovirus genome was found to be a mosaic-like combination of DNA fragments having prokaryotic and eukaryotic character (30,40,41). Different viral DNA fragments were cloned in bacteria by the use of plasmids and the examination of recombinants obtained, together with the experiments mentioned, resulted in a number of practical and theoretical deductions concerning the genetic background of type-specificity, the oncogenicity, and the principles of a potential control of AIDS-patients, etc. (17,18,20,21,23,40,41,46,49).

In studies on the pathomechanism and immunological background of viral infections, large-scale examinations of human lymphocytes with lymphocyte-transformation test and Immunofluorescent method have shown latent adenovirus and/or herpesvirus infection in cells of some patients afflicted with different chronic, recurrent diseases, infertility and certain tumors (27,31,41). These latent infections may lead to the damage of immunological functions and may be activated by different endogenous or exogenous factors. In vitro experiments with lymphocytes of healthy persons supported these presumptions, as the adenovirus infection reduced the E-rosette - inducing activity of the cells and their responsiveness to the stimulatory effect of phytohemagglutinin, and also the production of lymphokines, which decreased the phagocytosing ability of the polymorphonuclear granulocytes. Latent infection of cell cultures with wild and mutant adenovirus strains could be reactivated by bacterial endotoxin preparations and prostaglandin F (34,35,31,44,48).

Large-scale complex examination of patients having urological tumors, revealed adenovirus antigens in the tumor cells and lymphocytes in more than 50% of the cases, and in some instances other viruses (herpes, papilloma, retroviruses) were found by electron microscopy. Sera obtained from the same patients also contained antibodies reacting with the early, non-virion adenovirus antigens in 54% of cases. Complementation experiments, performed with the extracts of tumor cells and lymphocytes and with defective adenovirus mutants supported these findings. Temperature-sensitive (ts) adenovirus mutants were found to replicate at restrictive temperature in the presence of the cell extracts mentioned (26,45). These findings indicate that the cells may contain some fraction of the adenoviral DNA, but not the complete genome, since replication of infective complete virus did not occur (41).

The immunomodulatory effect of viruses was examined in vivo in experiments performed with conventional (Cv) adult mice having effective immune system and with germfree (Gf) adult and

Cv suckling mice having defective Immunological functions. Vaccines containing live, attenuated Infectious Bursal Disease virus, or Newcastle Disease virus (NDV) were found to have an immunostimulatory effect, while inactivated vaccines of the same viruses had no effect on the cellular immune response to Lymphocytic Choriomeningitis virus (LCMV) infection of Cv suckling mice (28). In contrast to this finding live, attenuated NDV vaccine failed to influence the cell-mediated immune response both of Gv and Cv adult mice. Accordingly, the immunomodulatory effect may be influenced by age.

Pretreatment with live, attenuated NDV vaccine raised the low fibronectin level of adult Gf mice to that of the Cv mice of the same age, but did not influence the fibronectin level of Cv mice (29). Thus, it may be supposed that the cause of low fibronectin level of Gf mice is the lack of stimulatory effect on fibronectin production by the normal microbial flora.

A single large dose of the calmodulin - antagonist chlorpromazine suppressed, while a small dose stimulated the cellular immune response to LCMV infection of mice, with both perfect and defective immune system, thus presumably also an immunomodulatory influence is part of the therapeutic effect of this compound.

Irodalmi hivatkozások/List of References

1. Ádám, É., Nász, I.: Two- and three dimensional hexon crystals, *Acta Microbiol. Acad.Sci.Hung.* 26, 15-21, 1979.
2. Ádám, É., Nász, I.: Electron microscopic studies on the crystallization of adenovirus hexon capsomers, *Intervirology* 13, 1-6, 1980.
3. Ádám, É., Nász, I.: Electron microscopic studies on the arrangements of hexon polypeptides in a two dimensional crystalline array, *Intervirology* 15, 37-42, 1981.
4. Ádám, É., Nász, I.: Inter- and intrahexonal connections between adenovirus hexon polypeptides in the two dimensional crystalline array, *Virology* 114, 265-267, 1981.
5. Ádám, É., Nász, I.: Mutual orientation of peripentonal hexons and polypeptide subunits in the adenovirus capsid, *Arch. Virol.* 79, 299-305, 1984.
6. Ádám, É., Nász, I.: Electron microscopic studies on the connections between capsomers in the adenovirus capsid, *Virology* 134, 233-237, 1984.
7. Ádám, É., Erdei, J., Lengyel, A., Berencsi, Gy., Fachel, J., Nász, I.: Delineation of antigenic determinants of adenovirus hexons by means of monoclonal antibodies. *Intervirology* 23, 222-227, 1985.
8. Ádám, É., Nász, I., Lengyel, A., Erdei, J., Fachel, J.: Differentiation of adenovirus hexon epitopes with monoclonal antibodies by gel diffusion assay. *Molec. Immunol.* 22, 967-971, 1985.
9. Ádám, É., Nász, I.: Mutual spatial orientation of hexons in the adenovirus capsid by electron microscopy and modelling, *Acta Microbiol. Hung.* 32, 399-412, 1985.
10. Ádám, É., Lengyel, A., Takács, M., Erdei, J., Fachel, J., Nász, I.: Grouping of monoclonal antibodies to adenovirus hexons by their cross-reactivity, *Arch.Virol.* 61-71, 1986.

11. Ádám, É., Nász, I., Lengyel, A., Erdei, J., Fachel, J.: Multiple copies of identical epitopes on the adenovirus hexon, *Molec. Immunol.* 23, 755-759, 1986.
12. Ádám, É., Nász, I., Lengyel, A., Erdei, J., Fachel, J.: Determination of different antigenic sites on the adenovirus hexon using monoclonal antibodies. *Arch.Virol.* 93, 261-271, 1987.
13. Ádám, É., Erdei, J., Lengyel, A., Fejér, Gy., Fachel, J., Nász, I.: Monoclonal antibodies to adenovirus type 35 hexon, *Intervirology* 27, 9-16, 1987.
14. Ádám, É., Dán, P., Nász, I., Lengyel, A., Erdei, J., Fachel, J.: Distribution pattern of adenovirus hexon epitopes in infected cells determined with monoclonal antibodies by immunofluorescence analysis, *Acta Microbiol., Hung.* 34, 247-254, 1987.
15. Ádám, É., Lengyel, A., Kerékgyártó, Cs., Erdei, J., Fachel, J., Nász, I.: Characterization of monoclonal antibodies to adenovirus type 35 hexon, *Acta Virol.* 32, 393-402, 1988.
16. Ádám, É., Rusvai, M., Lengyel, A., Belák, S., Nász, I.: Antigenic relationship between human and animal adenovirus hexons determined by means of monoclonal antibodies directed against bovine adenovirus type 2 hexons, *Arch.Virol.* 100, 9-15, 1988.
17. Belák, S., Berencsi, Gy., Rusvai, M., Lukács, K., Nász, I.: DNA structure and hemagglutination properties of bovine adenovirus type 2 strains which bypass species specificity, *Arch. Virol.* 77, 181-194, 1983.
18. Belák, S., Virtanen, A., Zabielski, J., Rusvai, M., Berencsi, Gy., Petterson, U.: Subtypes of bovine adenovirus type 2 exhibit major differences in region E3, *Virology* 153, 262-271, 1986.
19. Berencsi, Gy., Lengyel, A., Dyachenco, N.S., Nász, I.: Polypeptides and immunoreactivity of empty adenovirus type 1 particles, *Acta Microbiol.Hung.* 30, 189-197, 1983.
20. Berencsi, Gy., Nász, I.: Adenoviruses and human tumors: regulation of eukaryotic chromatin structure? *Arch. Geschwulstforsch.* 53, 239-252, 1983.
21. Berencsi, Gy., Palkonyai, L., Takács, M., Geck, P., Anderlik, P., Bános, Zs., Szeri, I., Nász, I.: Sztruktúra i funkcii klonirovannoj DNK adenovirusza, *Vopr.Viruszol.* 31, 346-351, 1986.
22. Berencsi, Gy., Dyachenko, N.S., Tarassishin, L.A., Vantsak, N.P., Kovalishin, G.G., Kiseleva, E.K., Zhovnovataya, V.Z., Ádám, É., Nász, I.: Changes of adenovirus hexon associated with different passage history of Ad h 1, *Acta Microbiol. Hung.* 33, 233-243, 1986.
23. Berencsi, Gy., Minárovits, J., Nász, I., Földes, I.: Prospects for the control of AIDS patients by introducing defective-HIV harbouring leukocytes, *Med.Hypotheses* 30, 223-228, 1989.
24. Csata, S., Kulcsár, G., Horváth, J., Nász, I., Ongrádi, J., Verebélyi, A.: Study of antibodies to adenoviruses in patients with tumours of the urogenital system, *Internat.Urol. Nephrol.* 14, 115-119, 1982.
25. Csata, S., Kulcsár, G., Dán, P., Horváth, J., Nász, I., Verebélyi, A., Ongrádi, J.: Immunological and virological studies of patients with tumours of the urogenital system. *Acta Chirurg.Hung.* 26, 119-123, 1985.

26. Csata, S., Ongrádi, J., Kulcsár, G., Farkas, J., Nász, I.: The effect of cell extracts of urological tumours on adenovirus mutants. *Acta Chirurg.Hung.* 28, 155-159, 1987.
27. Csata, S., Kulcsár, G., Dán, P., Nász, I., Verebélyi, A.: Latent virus-carrying lymphocytes of patients with urological tumours, *Acta Chirurg.Hung.* 28, 321-325, 1987.
28. Csatáry, L.K., Szeri, I., Bános, Zs., Anderlik, P., Nász, I.: Effect of attenuated viral vaccines on suckling mice infected with LCMV, *Acta Microbiol. Hung.* 33,325-331, 1986.
29. Cseh, K., Anderlik, P., Szeri, I., Bános, Zs., Jakab, L., Kalabay, L.: Plasma fibronectin concentration in germ-free and conventional mice of various age. *Acta Microbiol.Hung.* 36, 3-6, 1989.
30. Dyachenko, N.S., Nász, I., Berencsi, Gy., Nosach, L.N., Vantsak, N.L., Tarassishin, L.A., Ádám, É.: Adenovirusz kletka organyizm, *Naukova Dumka, Kiev*, pp.232, 1988.
31. Fekete, G., Kulcsár, G., Dán, P., Nász, I., Schuler, D., Dobos, M.: Immunological and virological investigations in Down's syndrome *Eur.J.Pediatr.* 138, 59-62, 1982.
32. Geck, P., Nász, I.: Concentrated digestible DNA after hydroxyl apatite chromatography with cetylpyridium bromide precipitation, *Analyt. Biochem.* 135, 264-268, 1983.
33. Geck, P., Molnár, Á., Nász, I.: Elimination of non-specific nucleases from restriction endonuclease preparations by different binding on free DNA ligand, *Acta Microbiol.Hung.* 34, 241-245, 1987.
34. Horváth, J., Kulcsár, G., Ugyumov, J.P., Dán, I., Barinsky, I.F., Simon, Gy., Ongrádi, J.: Effect of adenovirus infection on human peripheral lymphocytes, *Acta Microbiol. Hung.* 30, 203-210, 1983.
35. Horváth, J., Kulcsár, G., Dán, P., Nász, I.: Cytotoxicity of human peripheral leukocytes on adenovirus-transformed cell culture, *Acta Microbiol.Hung.* 33, 173-176, 1986.
36. Kulcsár, G., Dán, P., Csata, S., Horváth, J., Nász, I., Verebélyi, A., Ongrádi, J.: Virological studies of malignant tumours of the urogenital system, *Acta Microbiol.Hung.* 30, 199-204, 1983.
37. Lengyel, A., Ádám, É., Nász, I., Erdei, J., Facht, J.: A sensitive method for detection of polyclonal and monoclonal antibodies againts the adenovirus hexon, *Acta Virol.* 29, 362-372, 1985.
38. Medveczky, P., Zavizion, B.A., Berencsi, Gy., Chaplygina, N.M., Szomolányi, É., Naroditsky, B.S., Nász, I., Tikhonenko, T.I.: Hind III restriction site map of the human adenovirus type 1 DNA, *Arch.Virol.* 67,85-90, 1981.
39. Nász, I., Ádám, É.: Arrangement of hexons and polypeptide subunits in the adenovirus capsid, *Acta Microbiol.Hung.* 30, 169-178, 1983.
40. Nász, I., Szomolányi, É., Berencsi, Gy.: Az adenovírusok daganatkeltő génjeinek szerkezete és működése (Structure and function of the oncogenic genes of adenoviruses). In: *Biol.Akt.Probl.* 32, 39-68, Medicina, Budapest, 1985. (in Hungarian)
41. Nász, I.: Az adenovírusok patológiai jelentősége és molekuláris szerkezete (Pathological significance and molecular structure of adenoviruses). *Akadémiai Kiadó, Budapest*, pp. 58, 1988. (in Hungarian)

42. Nász, I.: The composed antigenic structure of the adenovirus hexon protein. *Rev. Roum.Méd.Virol.* 39, 267-280, 1988.
43. Ongrádi, J., Kulcsár, G., Dán, P., Nász, I., Horváth, J.: Activation of adenovirus type 5 latent infections of tissue culture, *Intervirology* 14, 310-315, 1980.
44. Ongrádi, J., Sallay, K., Kulcsár, G.: The decreased antibacterial activity of oral polymorphonuclear leukocytes coincides with the occurrence of virus-carrying oral lymphocytes and epithelial cells, *Folia Microbiol.* 32, 438-447, 1987.
45. Ongrádi, J., Farkas, J., Csata, S.: Complementability of temperature-sensitive adenovirus mutants with extracts of urogenital tumour cells, *Acta Microbiol.Hung.* 34, 187-196, 1987.
46. Palkonyai, L., Berencsi, Gy., Geck, P., Nász, I.: Possible causes of the loss of specific pBR322-Ad h 1 DNA recombinants following transfection, *Acta Microbiol.Hung.* 30, 179-188, 1983.
47. Poszevaja, T.A., Kulcsár, G., Horváth, J., Dán, P., Nász, I., Koszjakova, N.P., Barinsky, I.F.: Obnaruzsenyje virusz-szpecificheskikh antigenov adenovirusov i virusza prosztovto gerpesza u bolnich szo elokacsesztvennimi zabojevaniami genitalij, *Vopr.Viruszol.* 6, 727-730, 1984.
48. Schranz, V., Kulcsár, G., Dán, P., Horváth, J., Nász, I., Barinsky, I.F., Ugyumov, E.P.: In vitro investigation of the interaction of human lymphocytes and viruses, *Acta Microbiol. Hung.* 26, 1-9, 1979.
49. Szomolányi, Á., Nász, I.: Recombinant DNA technology in adenovirus research, *Acta Virol.* 28, 84-92, 1984.
50. Takács, M., Berencsi, Gy., Lengyel, A., Nász, I.: Restriction site maps of the human adenovirus type 8 DNA, *Acta Virol.* 27, 289-298.

III. Szabadalmak/Patents

Restriktációs endonukleáz (Restriction endonuclease) (SmuCI)

IV. Nemzetközi kapcsolatok/International Connections

1. SZUOTA D.I. Ivanovszkij Viruskutató Intézet, Moszkva (D.I. Ivanovskij Institute of Virus Research, Academy of Medical Science of USSR, Moskau)
 - a/ Génsebészet alkalmazása vírusgenomok tanulmányozására (Studies on virus genomes by means of genetic engineering) (1979-1989)
 - b/ Lymfociták szerepe a vírusos megbetegedések patogenezisében (The role of lymphocytes in the pathogenesis of viral diseases) (1979-1989)
2. Department of Pharmacology, University of Massachusetts Medical School, Worcester, USA
DNS vírusok genetikai vizsgálata; (Genetic Investigation of DNA viruses) (1979-1989)
3. Deutsches Krebsforschungszentrum, Institut für Virologie, Heidelberg, FRG
Gátlószerek hatása DNS vírusok expressziójára (Effect of inhibitory agents on the expression of DNA viruses) (1980-1981)

4. Uppsalai Állatorvostudományi Egyetem, Mikrobiológiai Tanszék, Uppsala, Svédország
(Department of Microbiology, Veterinary School, Uppsala, Sweden)
Állati és emberi adenovírusok genomjának tanulmányozása
(Studies on the genomes of animal and human adenoviruses) (1986-1989)
5. Institute of Microbiology, University School of Medicine, Hanoi, Vietnam
Immunológiai vizsgálatok humán adenovírusokkal fertőzött egerekben (Immunological investigations on mice infected with human adenoviruses) (1980-1983)
6. Az Ukrán Tudományos Akadémia Mikrobiológiai és Vírológiai Intézete, Kiev, Szovjetunió
(Institute of Microbiology and Virology, Ukrainian Academy of Science, Kiev, USSR)
Humán adenovírus genom által kódolt polipeptidok biológiai tulajdonságai (Biological properties of polypeptides encoded by the genome of human adenoviruses) (1981-1989)
7. A Glasgow-i Egyetem Víruskutató Intézete, Nagybritannia (Institute for Virus Research, Glasgow University, GB.)
Vírusfehérjék transzkripciójának és vírusmutánsok fehérjéinek vizsgálata (Investigation of the transcription of viral proteins and of the proteins of mutant viruses) (1982-1989)
8. Institute of Experimental Biology, Korean Academy of Sciences, Pyongyang, Korea
Emberi adenovírusok genomjának vizsgálata (Studies on the genome of human adenoviruses) (1983-1986)
9. Département de Microbiologie, Faculté de Médecine, Université de Sherbrooke, Québec, Canada
Emberi fehérvérsejtek és adenovírusok kölcsönhatásának és az adenovírus DNS-szintézisének tanulmányozása (Studies on the interaction of human leukocytes and adenoviruses, and on DNA synthesis of adenoviruses) (1982-1985)

4.

MOLEKULÁRIS PATOLÓGIAI RÉSZLEG

**Cím: Semmelweis OTE Patológiai és Kísérletes Rákkutató Intézet
1089, Budapest, Üllői út 26.**

DEPARTMENT OF MOLECULAR PATHOLOGY

**Address: Institute for Pathology and Experimental Cancer
Research,
1089, Budapest, Üllői street 26.**

Telefon/Phone: 113-8667, 113-8669

I. A kutatások résztvevői/Research Participants

1. Részlegvezető/Department Head

Dr.Lapis Károly (M.D.), akadémikus/Member of the Academy

2. Akadémiai kutatók/Academic Staff

time/Idő [%]

a/ Tudományos munkatársak/Research Fellows

Dr.Divald András (Ph.D.) (1982-) 100
Dr.Major Jenő (Ph.D.) (1980-1989) 100

b/ Tudományos segédmunkatársak/Junior Research Fellows

Dörömbözl Mária (1989-) 100
Dr.Fekete Ferenc (M.D.) (1979-1982) 100
Dr.Paku Sándor (T.D.) (1982-) 100
Dr.Pál Katalin (Ph.D.) (1982-1985) 100
Pogány Gábor (1986-) 100
Tóth Éva (1986-1987) 100

3. Egyetemi kutatók/University Staff

a/ Professzorok/Professors

Dr.Jeney András (M.D.), tud.doktora/D.Sc. (1979-) 60
Dr.Kopper László (M.D.), tud.doktora/D.Sc. (1979-) 30
Dr.Schaff Zsuzsa (M.D.), tud.doktora/D.Sc. (1979-) 30
Dr.Szende Béla (M.D.), tud.doktora/D.Sc. (1979-) 30

b/ Adjunktusok/Senior Assistants

Dr.Nagy Péter (M.D.), kandidátus/C.Sc. (1980-) 30
Dr.Simon Károly (M.D.), kandidátus/C.Sc. (1979-1988) 30
Dr.Timár József (M.D.), kandidátus/C.Sc. (1979-) 30
Dr.Vajta Gábor (M.D.), kandidátus/C.Sc. (1979-1989) 30
Dr.Zalatnai Attila (M.D.) (1983-) 20

c/ Tanársegédek/Assistants

Dr.Bánfalvi Ágnes (M.D.) (1985-) 30
Dr.Bencsáth Márta (M.D.) (1979-1982) 100
Dr.Elek Jenő (M.D.) (1980-1986) 10
Dr.Hegedüs Csaba (M.D.) (1979-1980) 30
Dr.Magyarossy Edina (M.D.) (1979-1986) 30
Dr.Szendről Miklós (M.D.),kandidátus/C.Sc. (1979-1983) 30

e/ Tudományos munkatárs/Research Fellow	time/Idő [%]
Dr.Kovalszky Ilona (M.D.) (1989-)	100

f/ Tudományos segédmunkatársak/Junior Research Fellows

Dr.Gyapay Gábor (Ph.D.) (1979-1981)	90
Jánossy László (1982-1987)	100
Dr.Timár Ferenc (Vet.D.) (1981-)	100
Dr.Ujhelyi Eszter (Ph.D.) (1979-1983)	100

4. Tudományos ösztöndíjasok/Full-time Ph.D. Students

Dr.Kovalszky Ilona (M.D.) (1985-1989)	100
Ladányi Andrea (1987-)	100
Rajnai Judit (1983-1986)	100

5. Laboratóriumi asszisztensek és technikusok/Laboratory Assistants and Technicians

Constantin Miklós
 Németh Alexandra
 Oláh Lászlóné
 Ruck Edina
 Sebők Andrea
 Szigetli Éva
 Tokh Gabriella

6. Adminisztrátorok/Associated Staff

Keve Ildikó
 Lantos Róbertné
 Molnár Éva

II. Tudományos eredmények 1979-1989.

A tudományos munka célkitűzése a hepatológiai és onkológiai megbetegedések patogenezisének közelebbi megismerése, továbbá e megbetegedések gyógyítására alkalmas új gyógyszerek kutatása. Vizsgáltuk az e megbetegedésekben előforduló patobiológiai elváltozásokat: sejtkárosodás, sejtszaporodás, extracelluláris matrix-felhalmozódás, intercelluláris kapcsolat.

A./ Hepatológiai kutatások

Tanulmányoztuk a vegyszeresen (alill-alkohol, CCl_4 , galactozamin) létrehozott akut májkárosodás molekuláris patológiájának sajátosságait in vitro és in vivo körülmények között (1,20,48,49). Kimutattuk az Ito-sejtek A-vitamin tartalmának csökkenését és degeneratív változásait, majd a körülöttük meginduló fibrogenesist (48). A fibrosis során speciálisan átalakult sejteket figyeltünk meg, melyek magas glycosaminoglikán-, zsír- és lipofuscin-tartalommal jellemezhetők (41). Új hepatoprotektív gyógyszer kifejlesztése céljából, 55 különböző kémiai vegyületet tanulmányoztunk. Prostacyclin kezeléssel gátolni lehetett az akut májkárosodás cirrhosissá történő átalakulását. A már kifejlődött cirrhosis regresszióját pedig amino-imidazol-karboxamid-foszfáttal (AICA-P), vagy egyes flavon származékokkal végzett kezeléssel lehetett elősegíteni (20). Az AICA-P-t, mint a cirrhosist kedvezően befolyásoló új vegyületet, szabadalmaztattuk. In vitro hepatocytáknak tenyésztésben a prostacyclin csökkentette a sejtkárosodás morfológiai és biokémiai jeleit, különösképpen a foszfatidil-inozitol rendszer és a zsírsavanyagcsere változásait (1,20,48,49).

Az emberi májszövet hisztokémiai és ultrastrukturális vizsgálatával javítani kívántuk a májbetegségek diagnosztikai lehetőségeit (16,17,22,24,31,33). In vivo a hepatitis-vírus- fertőzés akut szakaszában a plazmában Interferont (IFN), és a mesenchymális sejtekben tubuloreticuláris zárványokat mutattunk ki (32,34). Igazoltuk, hogy az IFN szint vírus-fertőzés hatására bekövetkező emelkedése és az ultrastrukturális kép a HBV, és a transfúzióhoz társuló nonAnonB hepatitis (HCV) okozta fertőzés esetén különbözik egymástól (34,35,36). Csimpánzokon végzett kollaborációs kísérletben, valamint saját májbiopsziás anyagainkban, specifikus ellenanyag használatával, a fertőzés csúcspontján HCV-asszociált antigént mutattunk ki. HCV-specifikus próbát használva, a fertőzött májszövetben, in situ hibridizációval vírus-specifikus génszekvencia volt kimutatható (35). Az emberi májdaganatok vizsgálatában a marker enzimek (glükóz-6-foszfátáz, ATPáz, GGT) változásai jól tükrözték a neoplasias folyamat progresszióját a májban. Míg a marker-enzimek adenomában a normálshoz hasonlóan működtek, és gócos noduláris hyperplasiában is csak a vizsgált esetek felében mutattak változást, addig hepatocelluláris carcinomában már jelentős eltérések voltak megfigyelhetők. A szimultán enzimváltozások azonban primer hepatocelluláris carcinomában nagyobb variabilitást mutattak, mint gócos noduláris hyperplasiában (22,33,43).

B./ Daganatkutatások és daganat-kemoterápiás kutatások

A karcinogenezis folyamatát tanulmányoztuk szövettenyészetekben, továbbá halakban és patkányokban kémiai anyagok, adagolása után, csirkékben pedig MC-29 vírusfertőzést követően (26,27,37). A májdaganatok keletkezése kapcsán beszámoltunk a cirrhosis promotor szerepéről és a Kupffer sejtek számának csökkenéséről számoltunk be (2,50).

Az MC-29 vírus-indukálta, transzplantálható hepatoma (VTH) és a normális csirkemáj összehasonlításakor megállapítottuk, hogy hepatomában a májspecifikus működések (glükoneogenezis, gyógyszermetabolizmus) eltűnése mellett, a sejtsztódással kapcsolatos

enzimek (DNS-polimeráz, timidinkináz), működése kerül előtérbe és, hogy a sejtnyagcsere szabályozási zavarok mechanizmusában szerepet játszik a kromatin állomány összetételének és mennyiségének, valamint a szteroid receptor és a DNS közötti interakció változása (7,16).

Mintegy 20 féle emberi daganatból alakítottunk ki xenotransplantált vonalakat, amelyek megtartják eredeti szövettani szerkezetüket, azonban a klonális heterogenitása megváltozik, és metasztatizáló képességük csökken (9,11,13,14,25,30). Három xenotransplantált diffúz non-Hodgkin lymphomában megállapítható volt a B-lymphocytá jelleg, az emberi eredet, a kromoszóma-transzlokáció (t:8-14), valamint a lektin kötődés nagyfokú heterogenitása (14).

A rosszindulatú daganatos megbetegedések progressiójának egyik meghatározó eseménye az áttétképzés, amely a macrophagokat károsító carringheenan-kezeléssel fokozhatónak bizonyult (8). Új kísérleti modelleket vezettünk be az egér és az emberi xenotransplantált daganatok áttétképzése komplex mechanizmusának tanulmányozására (10,28). Megfigyeltük, hogy a fokozott áttétképző sajátosságú sejtek ellenállóbbak a szervezet immunvédekezésével szemben, jelentősen módosul sejtfelszíni fenotípusuk, fokozódik a heparánszulfát termelése és a sejtfelszínen csökken a galaktóz végcsoportú glikánok mennyisége (19,29,44,45,46,47). Megállapítottuk, hogy a fokozott áttétképzésre hajlamos sejteken nagy affinitású elastin receptor található. Ez a receptor közreműködik a sejt migrációban, amelyet alátámaszt az a megfigyelés, hogy az elastin-peptidek ezekre a sejtekre kemotaktikus hatást gyakorolnak. Heparánszulfát-receptorok mind a fokozottan, mind a kevésbé metasztatizáló tumorsejteken kimutathatók. Más, egészséges sejtektől eltérően, a heparánszulfát e tumorsejtek szaporodását serkentette.

A daganatok molekuláris-pathológiai jellemzése során szerzett tapasztalatok hasznosíthatók voltak a kísérleti daganatkemoterápiál kutatásainkban is. Hatásában is újszerű, és a daganatok molekuláris sajátosságaira (pl. magas glikozaminoglikán tartalom) ható gyógyszerek fejlesztésére törekedtünk. Több új kémiai anyag daganatgátló hatását állapítottuk meg, és tanulmányoztuk azok hatásmódját. Olyan gyógyszerek, illetve kombinált kezelések alkalmazására tettünk javaslatokat, amelyek, a gyógyszerátalakulás kedvezőbbé tételével, a károsított, nem daganatos szövetek regenerációjának fokozásával, vagy az immunrendszer serkentésével elősegítik a daganatellenes gyógyszerek hatását (3,4,5,6,9,12,18,30,38,39,40). Az áttétképzés komplex mechanizmusának ismeretében kidolgoztuk az áttétképzés terápiás befolyásolásának különböző módjait: sejtostódás gátlás, intercelluláris kapcsolatok módosítása, az immunrendszer stimulálása (15). Megállapítottuk, hogy az 5-hexil-2"-deoxirididin, a tlazofurin, a trentál és a prostacyclin vegyületek eltérő mechanizmus útján képesek a daganatos sejtek áttétképzését csökkenteni (15,21).

A kemoterápiás kezelések új lehetőségeit tárják fel a programozott sejtthál útján ható anyagok (pl. LH-RH és somatostatin) tanulmányozása (42).

Research Review (1979-1989)

This is a review of studies on the pathomechanism of two human diseases: chronic liver disease and malignant tumours. The pathobiological events presenting the basic alterations in these diseases were investigated, i.e. cell injury, cell proliferation and accumulation of extracellular matrix components. Information obtained from these studies were used to develop new drugs against chronic liver disease and cancer.

A./ Hepatological research

It has been reported (48) that in hepatotoxin induced liver damage there is not only an alteration of the hepatocytes but also a degeneration of the Ito cells, including the loss of their Vitamin A-storing capacity, and consequently the first step to fibrogenesis around these cells. During

the fibrogenesis there appeared some mesenchymal cells characterized by high glycosaminoglycan, lipid and lipofuscin content (41). In order to find a new hepatoprotective drug 55 chemical compounds were screened for cytoprotective potency in hepatocyte cultures and the most active ones were tested also *in vivo*. The cytoprotective prostacyclin was found to be efficient in preventing the transition of fibrosis to cirrhosis. Aminoimidazol-carboxamide-phosphate and different flavonoids stimulated the regeneration of the damaged liver (20). The cytoprotective action of prostacyclin was accompanied by the reversal of the elevated phosphatidylinositol-diphosphate hydrolysis in the injured hepatocytes. In addition, triglyceride catabolism was also stimulated by prostacyclin (1,20).

Ultrastructural examination of the liver is of great value in the differential diagnosis of various chronic liver diseases (16,17,22,24,31,33). In the acute phase of hepatitis, interferon was detected in the blood plasma of chimpanzees infected with hepatitis B virus. Since it is known that interferon can induce the formation of tubuloreticular structures it is of interest that such structures are identified also in the mesenchymal cells of liver in hepatitis (32,34). It was shown that both the interferon levels and the ultrastructural features were different in HBV and HCV hepatitis patients (34,35,36). In a collaboration study HCV-associated antigen was detected with labeled specific antibody in chimpanzees at the peak of infection. HCV specific gene sequences were detected in liver cells by *in situ* hybridization technique (34,35).

Changes in the levels of marker enzymes (glucose-6-Pase, ATPase, GGT) and of fibronectin in human livers were found to characterize the progression of neoplastic processes (22,33,43). It is of interest that these marker enzyme level changes were not detectable in adenomas, and were present only in half of the focal nodular hyperplasia cases examined. The concept of sequential phenotypic changes parallel to tumour progression appeared to be supported by the observation that the simultaneous changes of the marker enzymes were more marked in the malignant than in the focal nodular hyperplasia (22).

B./ Experimental tumour research and antineoplastic drug research

Malignant transformation was studied *in vitro* in cell cultures, and *in vivo* in rats and in fish after administration of chemical carcinogens, and also in chicken infected with MC-29 virus (2,7,26,37). The promoter role of cirrhosis and the reduction of Kupffer cells during hepatocarcinogenesis were reported (2,7,50).

The comparative studies on MC-29 virus-induced transplantable hepatoma (VTH) and normal chicken liver revealed some of the molecular features of malignant liver tumours. The loss of the liver-specific functions, i.e. gluconeogenesis, drug metabolism, was accompanied by an exalted activity of enzymes involved in cell proliferation (thymidine kinase, DNA polymerase). It was found that changes in the amount and composition of chromatin and the reduced steroid receptor-binding of DNA may play a role in the abnormal gene regulation in VTH (7,16).

More than 20 human tumours were maintained as xenotransplants in immunosuppressed mice. The tumours preserved the histological features of the original surgically removed tumour samples. On the contrary, their clonal heterogeneity was shown to be subject of remarkable changes and their metastatic capacity was also reduced.

In three xenotransplanted non-Hodgkin lymphomas the B lymphocyte character, the human origin, the t:8-14 chromosome translocation and the highly heterogenic lectin-binding pattern could be documented (14,15).

Appearance of metastases represents a sign of tumour progression. Application of the macrophage-damaging agent, carrageenan, was found to stimulate metastatization (8). New model was developed for the study of liver metastasis, and highly metastatic variants of murine and human tumours were selected (10,27,28). Comparing tumour cell lines from the same parent tumour it was found, that some critical morphological and molecular features were related to the altered metastatic capacity. The high metastatic capacity of the tumour cells may be due to the lack of

sensitivity to the effector cells of the immune system. The elevated metastatic capacity was accompanied with the higher production and secretion of heparane sulphate (19,29,44,45,46,47). It was shown that the high metastatic cell line contained an elastin receptor of high affinity. This receptor most probably participates in the mechanism of cell migration. This concept was supported by the data showing that elastin-derived peptides had chemotactic activity towards the 3LL tumour cells. The heparane sulphate receptor was present in both the high and the low metastatic lines of the 3LL tumour. It is noteworthy that heparane sulphate - contrary to its action on normal cells (myoblast) - stimulated the proliferation of this tumour.

Experience accumulated from the characterization of molecular-pathological features of tumours was utilized in experimental chemotherapeutic studies. The antitumour activity of several new compounds and their mode of action were reported (3,5,6,12,18,30). Trimethyl-lysine, a compound enhancing tissue regeneration, was found to act synergistically with the cytostatic antitumour drugs (4,38). The immunostimulant activity of the thymus-related oligopeptides was observed (39,40).

The various exploitable approaches to prevent tumour metastasis were investigated. The antimetastatic action of 5-hexyl-2'-deoxyuridine, tiazofurine, trental, prostacyclin, thymus peptides and lentinan was demonstrated (15,21).

Investigation of new hormon derivatives capable of inducing programmed cell death is now regarded as a new perspective in antitumour drug design (42).

Irodalomjegyzék/List of References

1. Divald, A., Ujhelyi, E., Jency, A., Lapis, K., Institoris, L.: Hepatoprotective effects of prostacyclins on CCl_4 -induced liver injury in rat. *Exp.Molec.Pathol.* 42, 163-166, 1986.
2. Jánossy, L., Zalatnai, A., Lapis, K.: Quantitative light microscopic study on the distribution of Kupffer cells during chemical hepatocarcinogenesis in the rat. *Carcinogenesis* 7, 1365-1369, 1986.
3. Jency, A., Dzurillay, É., Lapis, K., Valkó, É.: Chromatin proteins as a possible target for antitumor agents: alterations of chromatin proteins in Dibromodulcitol-treated Yoshida tumors. *Chem.Biol.Interact.* 26, 349-361, 1979.
4. Jency, A., Gyapay, G., Lapis, K., Szende, B., Bursics, L., Tyihák, E.: Methylation-like reaction of (^3H -methyl)-3-N-5-trimethyl-lysine (TML) to chromatin components. *Biochem.Pharmacol.* 29, 2729-2732, 1980.
5. Jency, A., Kopper, L., Lapis, K., Süli-Vargha, H., Medzihradsky, K.: Antitumor action of N-(2-chloroethyl)-N-nitrosocarbamoyl derivatives of biologically active polypeptide hormone fragments. *Cancer Chemother.Pharmacol.* 16,129-132, 1986.
6. Jency, A., Barrie, S.E., Taylor, G.A., Newell, D.R., Harrap, K.R.: 5-ethyl-2-deoxyuridine: an explanation for its lack of cytotoxic action in vivo. *Eur.J.Cancer Clin.Oncol.* 22, 557-562, 1986.
7. Jency, A.: Trends in pathobiochemical studies of tumor development and progression. *Acta Morphol.Hung.* 34, 311-323, 1986.
8. Kopper, L., Tran Van Hanh, Lapis, K., Timár, J.: Increased take rate of human tumour xenografts after Carrageenan treatment. *Eur.J.Cancer Clin.Oncol.* 16, 671-678, 1980.
9. Kopper, L.,Lapis,K., Hegedüs, Cs.:Chemotherapeutic sensitivity of human colorectal tumor xenografts. *Oncology*, 37, 42-50, 1980.

10. Kopper, L., Tran Van Hanh, Lapis, K.: Experimental model for liver metastasis formation using Lewis lung tumor. *J.Cancer Res.Clin.Oncol.* 103, 31-38, 1982.
11. Kopper, L., Magyarossy, E., Nagy, P., Lapis K., Számel, I., Eckhardt, S., Csata, S., Wabrosch, G., Répássy, D.: Renal cell carcinoma - xenotransplantation into immuno-suppressed mice. *Oncology*, 41, 19-24, 1984.
12. Kopper, L., Magyarossy, E., Jeney, A., Lapis, K., Szabolcs, A., Ötvös, L.: Potentiation of the antitumor action of 5-fluorouracil with 5-ethyl-2'-deoxyuridine in human colorectal tumor xenografts. *Oncology*, 41, 155-158, 1984.
13. Kopper, L., Timár, J., Bánkfalvi, A.: Lectin-binding pattern in human non-Hodgkin lymphoma xenografts. *Anticancer Res.* 8, 1429-1434, 1988.
14. Kopper, L., Bánkfalvi, A., Mihalik, R., Pálóczi, K., Benczur, M., Lapis, K.: Phenotypic characteristics of three human non-Hodgkin lymphoma lines: flow cytometric analysis after longterm maintenance. *Clin.Exp.Immunol.*, 74, 295-299, 1988.
15. Kopper, L., Timár, J., Jeney, A., Lapis, K.: Glycosaminoglycan (GAG) metabolism as a potential target to prevent metastasis formation. In: *Cancer Metastasis. Biological and Biochemical Mechanisms and Clinical Aspects.* (Eds. G.Prodi, L.A.Liotta) *Advances in Experimental Medicine and Biology*, vol. 233, Plenum, New York, London, pp. 367-375, 1988.
16. Lapis, K., Johannessen, J.V.: *Liver carcinogenesis.* Hemisphere Publishing Corporation, Washington, 1979.
17. Lapis, K.: *The Liver* vol 8. *Electron Microscopy in Human Medicine.* Ed.: J.V. Johannessen. Mc Graw-Hill International Book Company. New York 1979.
18. Lapis, K., Jeney, A.: *Regulation and Control of Cell Proliferation.* Akadémiai Kiadó 1984.
19. Lapis, K., Timár, J., Timár, F., Kopper, L.: Differences in cell surface characteristics of poorly and highly metastatic Lewis lung tumor variants. In: *Biochemistry and Molecular Genetics of Cancer Metastasis.* (Eds. K. Lapis, L.A.Liotta, A.S.Rabson), Nijhoff, Boston, pp. 225-235, 1985.
20. Lapis, K., Jeney, A., Divald, A., Vajta, G., Zalatnai, G., Schaff, Zs.: Experimental studies on the effect of hepatoprotective compounds. *Tokai J.Exp.Clin.Med.*, 11, suppl. 135-145, 1986.
21. Lapis, K., Timár, J., Pál, K., Jeney, A., Timár, F., Kopper, L.: Membrane properties of Lewis lung tumor cells with "low" and "high" metastatic capacity: antimetastatic effect of a glycosaminoglycan biosynthesis-blocking agent, 5-hexyl-2'-deoxyuridine (HUdR). In: *Cancer Biology and Therapeutics.* (Eds. J.G.Cory, A. Szentiványi), Plenum, New York, London, pp. 79-94, 1987.
22. Lapis, K., Jeney, A., Schaff, Zs., Zalatnai, A., Kovalszky, I., Szécsényi, A.: Enzyme pattern changes in preneoplastic and neoplastic lesions of the liver. In: *Assessment and Management of Hepatobiliary Disease.* (Eds.: L. Okolicsányi, G. Csomos, G. Crepaldi) Springer Verlag, Berlin, pp. 171-186. 1987.
23. Lapis, K., Paku, S., Liotta, L.A.: Endothelialization of embolized tumor cells during metastasis formation. *Clin.Exp.Metast.* 6, 73-89, 1988.

24. Lapis, K., and Schaff Zs.: Liver cancer incidence and its relation to alcoholic liver cirrhosis in Hungary. In: Liver cell carcinoma. (Eds: Bannasch P., Keppler, D., Weber, G.) Falk Symposium 51. pp. 47-53, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 1989.
25. Lapis, P., Kopper, L., Bodrogi, I., Sugár, J., Lapis, K., Eckhardt, S.: Characteristics and chemotherapeutic sensitivity of a human testicular cancer grown in artificially immunosuppressed mice. *Oncology* 42, 112-118, 1985.
26. Major, J., Szende, B., Lapis, K., Thész, Zs.: Increased SCE inducibility by low doses of methylcholanthrene in lymphocytes obtained from patients with Down's disease. *Mutat.Res.*, 149, 51-55, 1985.
27. Paku, S., Rot, A., Ladányi, A., Lapis, K.: Demonstration of the organ preference of liver selected "high metastatic" Lewis lung tumor cell line. *Clin.Exp.Metast*, 7, 599-607, 1989.
28. Pál, K., Kopper, L., Lapis, K.: Increased metastatic capacity of Lewis lung tumor cells by in vivo selection procedure. *Invasion Metastasis*, 3, 174-182, 1983.
29. Pogány, G., Moczar, E., Jeney, A., Timár, F., Timár, J., Ditrói, K., Lapis, K.: Comparative study on Lewis lung tumour lines with "low" and "high" metastatic capacity. III. Glycosaminoglycan synthesis, transport and degradation in cell lines. *Clin.Exp.Metast*, 7, 659-669, 1989.
30. Rajnay, J., Kopper, L., Lapis, K.: Chemotherapeutic response of squamous cell carcinoma xenografts (subcutaneous and subrenal capsule assay). *Oncology*, 44, 307-311, 1987.
31. Schaff, Zs., Pohl, Ö., Bencsáth, M., Brojnás, J., Lapis, K., Kopper, L., Hollós, I.: HBsAg-like structures in immunosuppressed mice inoculated with human hepatitis B virus. *Virchows Arch. B.40*, 249-261, 1982.
32. Schaff, Zs., Lapis, K.: Occurrence of tubuloreticular inclusion in acute viral hepatitis. *Ultrastructural Pathol.*, 3, 169-173, 1982.
33. Schaff, Zs., Lapis, K., Henson, D.E.: Liver. In: *The Pathology of Incipient Neoplasia*. (Eds. D.E. Henson, J. Albores-Saavedra), Saunders, Philadelphia, pp. 167-202, 1986.
34. Schaff, Zs., Hoofnagle, J.H., Grimley, P.M.: Hepatic inclusions during interferon therapy in chronic viral hepatitis. *Hepatology*, 6, 966-970, 1986.
35. Schaff, Zs., Seto, B., Coleman, W.G. Jr., Lapis, K.: Morphology, Immunohistochemistry and In Situ Hybridization of Experimental and Human Non-A, Non-B Hepatitis. In: *Viral Hepatitis and Liver Disease*. Proc.Internat.Symp.Liver Disease. London, 1987. (ed.: A.J. Zuckerman) New York, Alan R. Liss. pp. 580-587, 1988.
36. Schaff, Zs., Lapis, K.: Liver Cancer and Viruses. In: *Experimental Hepatocarcinogenesis*. (Eds: M.B. Robertfroid, V. Preat.) Universite Cathologique de Louvain Brussels, Belgium. Plenum Press, New York, London pp. 63-76. 1988.
37. Simon, K., Lapis, K.: Carcinogenesis studies on guppies. In: *Use of small fish species in carcinogenicity testing*. National Cancer Institute Monograph No. 65. (Ed.: P. Greenwald), Bethesda US. Dept. Health and Human services. pp. 71-81, 1984.

38. Szende, B., Lapis, K., Simon, K.: Combined effect of cytostatic drugs and E-N-L-trimethyl-lysine on healthy and transplantable tumour bearing mice. *Neoplasma*, 29, 427-439, 1982.
39. Szende, B., Kisfaludy, L., Lapis, K., Dénes, L., Szporny, L., Nyéki, O., Schön, I., Hajós, Gy., Ember, J., Constantin, M., Paku, S., Jánossy, L.: The effect of TP-5 and its analogs on skin grafts in mice. *J. Immunopharmacol.*, 7, 67-78, 1985.
40. Szende, B., Lapis, K., Pál, K., Sipos, L., Dénes, L., Kisfaludy, L.: The effect of TP-3 (Arg-Lys-Asp), TP-4 (Arg-Lys-Asp-Val), and TP-5 on the metastatic capacity of intravenously injected Lewis lung tumor cells. *Immunopharmacol.Immunotoxicol.*, 9, 19-24, 1987.
41. Szende, B., Lapis, K., Timár, J., Schaff, Zs., Simon, K., Jency, A., Divald, A., Paku, S., Timár, F.: Glycosaminoglycan- containing fat storing cells in hepatic fibrogenesis. *Acta Morphol.Hung.*, 36, 241-251, 1988.
42. Szende, B., Lapis, K., Redding, T.W., Srkalovic, G., Schally, A.V.: Growth inhibition of MXT mammary carcinoma by enhancing programmed cell death (apoptosis) with analogs of LH-RH and somatostatin. *Breast Cancer Research and Treatment*, 14, 307-314, 1989.
43. Szendrői, M., Lapis, K., Zalatnai, A., Robert, L., Labat-Robert, J.: Appearance of fibronectin in putative preneoplastic lesions and in hepatocellular carcinoma during hepatocarcinogenesis in rats and in human hepatomas. *J.Exp.Pathology*, 1, 189-199, 1984.
44. Timár, J., Kopper, L., Pál, K., Lapis, K.: Transmission and scanning-electronmicroscopy of experimental liver metastases derived from intrasplenically growing primary tumor. *Path.Res.Practice*, 177,47-59, 1983.
45. Timár, J., Boldog, F., Kopper, L., Lapis, K.: Flow cytometric measurements and electron microscopy of cell surface glycosaminoglycans using Acridine Orange. *Histochem.J.*, 17, 71-79, 1985.
46. Timár, J., Moczar, E., Timár, F., Pál, K., Kopper, L., Lapis, K.: Comparative study on Lewis lung tumor lines with "low" and "high" metastatic capacity. II. Cytochemical and biochemical evidence for differences in glycosaminoglycans. *Clin.Exp.Metast.*, 5, 79-87, 1987.
47. Timár, J., Moczar, E., Ladányi, A.: Galactose residues on glycans of metastatic cells positively correlate with the recognition by host non-specific effectors. *Acta Paediatr.Hung.*, 29, 59-62, 1989.
48. Vajta, G., Kovács, L., Lapis, K.: Light fluorescence and electron microscopic observations on vitamin A storing cells in allyl-alcohol induced liver damage. *Acta Morphol.Hung.*, 30, 309-317, 1982.
49. Vajta, G., Divald, A., Paku, S., Elek, J., Lapis, K.: Fatty degeneration in cultured hepatocytes. A new experimental model. *Virchows Arch.B.*, 50, 177-184, 1986.
50. Zalatnai, A., Lapis, K.: Diethyl-nitrosamine hepatocarcinogenesis in cirrhotic rats. *Acta Morphol.Hung.*, 35, 211-218, 1987.

III. Szabadalmak/Patents

Az Országos Találmányi Hivatal által megadott szabadalmak.
(Patents approved by the National Patent Bureau)

1. Eljárás klavicepaminok előállítására. (Lajstrom szám: 172.238) (Procedure for producing clavicepamines)
2. Eljárás új E-N-trimetil-L-lizin sók előállítására. (Lajstrom szám 174.503) (Procedure for producing E-N-trimethyl-L-lysine salts)
3. Eljárás tumorgátló hatású bázikus fehérjék előállítására (Lajstrom szám:158.949) (Procedure for producing proteins of basic character with antitumour activity)
4. Eljárás tumorgátló hatású N-nitrozo-N-(béta-kloretil)-karbamoil peptid előállítására. (Lajstrom szám: 187.461) (Procedure for producing N-nitroso-N-(beta-chlorethyl)carbamoil peptid with antitumour activity)
5. Eljárás imidazol-karboxamid származékok előállítására. (Lajstrom szám: 188.182) (Procedure for producing imidazol-carboxamide derivatives)
6. Eljárás szinergetikus gyógyászati készítmény előállítására. (Lajstrom szám: 190.597) (Procedure for producing a synergistic therapeutical preparation)
7. Eljárás szinergetikus hatású citosztatikus gyógyszerkészítmény előállítására. (Procedure for producing a synergistic cytostatic pharmacological preparation)

IV. Nemzetközi kapcsolatok/International Connections

1. International Agency for Research on Cancer (Lyon, France)
Characterization of glycosaminoglycans and other membrane components in human liver and renal tumours
2. Friedrich-Schiller Universität Jena, Institut für Pathologische Anatomie (Jena, DDR)
Tumor recognition receptors on macrophages. Alterations of tumour membrane components during progression
3. Università degli Studi di Trieste, Istituto di Farmacologia e Farmacognosia (Trieste, Italy)
Experimental modulations of tumor-host-relationship during metastasis formation
4. Institut für Pathologische Anatomie, Universität Graz, School of Medicine (Graz, Austria)
Versuchungen des Gen-expressione In Menschlichen Tumoren
5. University of Pennsylvania, School of Medicine, Dept. of Pathology and Laboratory Medicine (Philadelphia, USA)
The role of proteoglycans in the metastatic capacity of human tumors
6. Moszkvai I. Szecsenov Orvostudományi Egyetem Patológiai Intézete. (Moszkva, SzU). (Institute for Pathology, Sechenov Medical University, Moscow)
A rák előtti állapot morfológiai kritériumainak meghatározása a hepatitis és a májzsugorodás morphogenesisének tanulmányozása alapján (Determination of morphological criteria of the precancerous state based on studies concerned with the morphogenesis of hepatitis and cirrhosis)
7. Creteil Laboratoire de Biochimie du Tissu Conjuntif, CNRS (Paris, Franciaország)

A sejtfelszíni glükokonjugatok összehasonlító vizsgálata különböző mértékben metastázáló tumorsejtekben (Comparative study of cell surface glycoconjugates in tumour cells having different metastasizing capability)

8. Institute of Cancer Research, Royal Cancer Hospital, Chester Beatty Laboratories (London, U.K.)
Kiskorúak emlőszövetének ultrastrukturális és Immunocyto kémiai vizsgálata (Ultrastructural and immunocytochemical investigation of infants' mammary tissue)

9. Kievi Urológiai és Nefrológiai Tudományos Kutató Intézet (Kiev, SzU) (Urological and Nephrological Research Institute, Kijev, USSR)
Prostata rák és rákmegelőző állapotok korai diagnosztikájában alkalmazható klinikai-morfológiai kritériumok kidolgozása (Elaboration of clinical/morphological criteria for early diagnosis of the prostate cancer and the precancerous states)

10. Szovjet Orvostudományi Akadémia Összszövetségi Onkológiai Tudományos Központja (Moszkva, SzU) (All Union Oncological Scientific Center of the Soviet Academy of Medical Science, Moscow, USSR)
Human daganatok ultrastruktúrája és immunhistokémiája (Ultrastructure and immunohistochemistry of human tumours)

5.

NEUROBIOLÓGIAI RÉSZLEG

**Cím: Semmelweis OTE, I. Anatómiai, Szövet- és Fejlődéstani
Intézet**

1094, Budapest, Tűzoltó u. 58.

DEPARTMENT OF NEUROBIOLOGY

**Address: 1st Institute of Anatomy, Histology and Embryology,
Semmelweis University of Medicine,
1094, Budapest, Tűzoltó street 58.**

Telefon/Phone: 133-6920

I. A kutatások résztvevői/Research Participants

1. Részlegvezető/Department Head

Dr.Szentágothai János (M.D.), akadémikus/Member of the Academy

2. Laboratórium vezető/Laboratory Director

Dr.Hármori József (Ph.D.), tud.doktora/D.Sc.

3. Akadémiai kutatók/Academic Staff

Idő/time [%]

a./ Tudományos főmunkatársak/Senior Reserach Fellows

Dr.Fülöp Zoltán (Ph.D.), kandidátus/C.Sc. (1979-)	80
Dr.Lábos Elemér (M.D.), kandidátus/C.Sc. (1979-)	100
Dr.Mezey Éva (M.D.), kandidátus/C.Sc. (1979-)	100
Dr.Somogyi József (Ph.D.), kandidátus/C.Sc. (1980-)	100
Dr.Somogyi Péter (Ph.D.), tud.doktora/D.Sc (1979-1985)	100

b./ Tudományos munkatársak/Research Fellows

Dr.Freund Tamás (Ph.D.), kandidátus/C.Sc. (1983-1990)	100
Dr.Klupp Tibor (M.D.) (1983-1986)	100
Dr.Kisvárdy Zoltán (Ph.D.), kandidátus/C.Sc. (1983-)	100
Dr.Léránth Csaba (M.D.), kandidátus/C.Sc. (1979-1985)	100
Takács József (Ph.D.) (1986-)	100

c./ Tudományos segédmunkatársak/Junior Research Fellows

Dr.Nógrádi Erika (Ph.D.) (1980-1989)	100
Orzó László (1989-)	100

4. Tudományos ösztöndíjasok/Full-time Ph.D. Students

Gulyás Attila (1987-)	100
Jakab Róbert (1987-)	100
Légrády Gábor (1989-)	100
Soltész István (1988-)	100

5. Laboratóriumi asszisztensek és technikusok/Laboratory Assistants and Technicians

Árvey Antal
Boczkó Lászlóné
Borók Erzsébet
Csáti Margit
Kánal Judit
Kovács Jánosné
Nagy Anikó
Rigler László
Szabó Zsuzsa
Szliget Klára
Tóth Éva

6. Adminisztrátorok/Associated Staff

Ádám Sándorné
Pusztai Ferencné

II. Tudományos eredmények (1979-1989)

A./ Szinaptikus szerveződés funkciós morfológiája a központi idegrendszer különböző területein (kéreg, hippocampus, thalamus, striatum és kisagykéreg)

1./ A látókéreg komplex serkentő és gátló neuronhálózatainak vizsgálata macska, patkány és majom látókéregben.

- Azonosították az agykéreg gátló Interneuronjait nyúlványrendszerük, bemeneti és kimeneti sajátosságait, használt neurotranszmittereik (elsősorban GABA), neuropeptid tartalmuk és elektrofiziológiai választulajdonságuk alapján (5,6,13,36,37,44,12).
- Azonosították a kérgi kimenőpályák egyik legfontosabb kontrolláló, gátló idegsejtjét, az axo-axonikus szinapsziszokat képező, GABAerg interneuront (38,43).
- Leírták az agykéreg kolumnális szerkezetének kialakításáért felelős vertikális és horizontális, serkentő és gátló, projekciós rendszereket (24,25,26,27,28,35,36,37,42, 46,47,48).
- Meghatározták a látókéreg specifikus thalamikus aktivációjának anatómiai és fiziológiai alapjait, a kérgi típusú receptív mezőtulajdonságok generációs mechanizmusát (7,8).
- Új módszereket dolgoztak ki a neuronhálózatok komplex anatómiai, neurokémiai és elektrofiziológiai vizsgálatára (26,28,35,36,41,44,45).

2./ A hippocampus subcorticalis kontroll-mechanismusai; helyi gátló neuronhálózatok szelektív modulációja

Új GABAerg gátló Interneuron típusokat írtak le a hippocampusban, igazolták a cholecystokinint és somatostatint tartalmazó sejtek GABAerg mivoltát és összeköttetéseiket (38).

Igazolták, hogy a septum GABA-GABAerg dezinhibíció útján kontrollálja a hippocampális információ-processzálást. Meghatározták az Innervált Interneuron típusokat Ca^{2+} -kötő fehérje- és neuropeptid-tartalmuk valamint összeköttetéseik alapján. Igazolták az előrecsatolós gátlás szelektív szerotonerg modulációját, és a principális sejtek elsődleges noradrenerg innervációját a hippocampusban (3,43).

3./ Hippocampális neuronhálózatok plaszticitása és pathológiája.

Igazolták, hogy a transzplantált embrionális hippocampus spontán epileptikus aktivitásáért egy speciális axo-axonikus gátlás hiánya és egy abnormális kollaterális serkentés jelenléte a felelős. Leírták a hippocampális sejtpusztulás mintázatát ischémia és epileptikus aktivitás után, valamint az egyes sejt típusok szelektív rezisztenciája és neuropeptid- illetve Ca^{2+} -kötő fehérjetartalma közötti összefüggéseket.

Igazolták a csökkent agyhőmérséklet és anesztézia neuroprotektív hatását ischémiában (1,4).

4./ A neostriatum helyi neuronhálózatainak valamint afferens és efferens kapcsolatainak anatómiai-immunohisztokémiai vizsgálata.

Igazolták a striatonigrális sejtek monoszináptikus kérgi, és dopaminerg nigrális innervációját, valamint ezek specializált asszociációját dendrit-tüskéken.

Bizonyították, hogy az embrionális középagy-transzplantátumból eredő dopaminerg afferensek reinnerválják a denervált neostriátumot, és az eredeti funkciót normállistól eltérő effereus összeköttetéseken keresztül valósítják meg.

Jellemezték a GABAerg, kollinerg, somatostatlin-, enkefalin- és Substance P-tartalmú striatális sejtek nyúlványrendszerét és szináptikus kapcsolatait (8a).

5/ Majom, macska és patkány corpus geniculatum laterale (CGL) elektronmikroszkópos és immuncitokémiai vizsgálata.

Meghatározták a majom CGL magno- és parvocelluláris rétegeiben a kéregbe vetülő és lokális interneuronok arányát, és azok kapcsolási viszonyait. Ujjonnan kifejlesztett GABA-antiszérum segítségével meghatározták mindhárom fajban, és prenatalis humán CGL-ben is, a magban található GABAerg interneuronok számát; kombinált Golgi-impregnáció és immunocyto kémia segítségével azonosították a lokális interneuronokat, és azok jellemző morfológiail (nyúlványrendszer) sajátosságait (9,11,15,22,31,40,41,50). Modellezés segítségével leírták a CGL-re is jellemző szináptikus triádok valószínű működési jellegzetességét is (29,30).

6/ Kisagykéreg

Kísérletes EM vizsgálatokkal azonosították a nucleocorticális afferenseket, s igazolták, hogy azok moharostokként végződnek a szemcsés rétegben.

Elektronmikroszkópos, immunogold technikával igazolták, hogy a nucleocorticális moharostok egy része - eltérően a zömében glutamaterg, serkentő, extracerebelláris mohavégződésektől - GABAerg, gátló tulajdonságú. Kimutatták, hogy a GABAerg moharostokban a szináptikus vezikulák - szemben az axioma-szerűen elfogadott Uchizono teoriával - kerek és nagyobbak, mint a glutamát-tartalmú végződések vezikulái. A kisagyi glomerulusokban végződő Golgi-terminálisok jelentős hányadában a GABA és a glicin együttesen fordul elő. A kisagyi szináptikus glomerulus kvantitatív elektronmikroszkópos, sztereológiai vizsgálatával meghatározták a pre- és poszt-sináptikus elemek, valamint a serkentő és gátló szináptikus kapcsolódások számát és térbeli elhelyezkedését, s így a komplex szinapszisműködés modellezését készítették elő. Elvégezték a GABAerg neuronok és végződések kvalitatív feltérképezését a kisagykéregben (10,14,21,23,32,39).

B./ Fejlődő és érett idegrendszeri központok morfológiai plaszticitása

1/ Kisagykéreg posztnatalis differenciálódása.

A moharost-szinapszis ontogenetikus differenciálódását vizsgálták kvantitatív elektronmikroszkópiával. Megállapították, hogy a kezdeti poszt-sináptikus túlkínálat után, a fejlődés harmadik hetére, a moharost szináptikus perimétere a felnőttre jellemző értéken (6%) stabilizálódik, s azt is, hogy a túlkínálat csökkenése a szináptikus kapcsolatokban nem hasznosuló poszt-sináptikus receptorok eliminációjának a következménye. Kísérletes vizsgálatokban igazolták a kosáresejtek irányító szerepét a Purkinje-sejt- monolayer kialakulásában; kosáresejtek hiányában nem alakul ki a kisagykéreg jellegzetes háromrétegű szerkezete (2,19).

Először szemcsarnokba együttesen transzplantált kisagy- és nagyagykéreg elektronmikroszkópos és immuncitokémiai vizsgálata azt mutatta, hogy mindkét kéreg-féleség jellemző szerkezete az agyi kapcsolatoktól függetlenül is kialakul. Ugyanakkor a kéregből a kisagykéregbe benövő axonok morfológiáját a kisagyi, poszt-sináptikus neuronok határozzák

meg, azaz, a szemcsesejtekkel érintkező, serkentő piramidális axonok "moharostokká", míg a Purkinje-dendritekkel szinaptizáló "paralel", vagy "kúszórostokká" differenciálódnak, ugyanúgy, mint a kéregből származó nem-piramidális, GABAerg gátló axonok. E megfigyelések a posztzinaptikus szerkezetek alapvető szerepére utalnak a szinaptogenetikus folyamatokban (20, 49).

2/ Szinaptogenezis az egér vibrissa-deprivált thalamikus ventrobasalis (VB) komplexében.

Újszülött egérben történt vibrissa-folliculus lézióját követően, a ventro-basalis komplexben, az eredeti vibrissa afferensek helyét kérgi és retinális afferensek, valamint a gátló reticuláris magból származó rostok végződésel veszik át. E végzódések morfológiailag az eredeti (vibrissális) specifikus afferensekként jelentkeznek (bár transzmitter-tartalmuk különböző lehet), ami igazolja a posztzinaptikus neuronok morfordifferenciációját irányító szerepét. E szinapszisek működőképesei, csak az eredetileg különböző érzésváltásokat szállítanak a VB-be, illetve annak a szomatoszenzoros kérgébe (16).

3/ Szinaptikus plaszticitás felnőtt állatok kisagykérgében és CGL-jében.

Részleges (corpus geniculatum laterale), illetve teljes deafferenciációt követően a posztzinaptikus idegsejtek, axonális hypertrophia híján, dendritjeiken fejlesztenek ki posztzinaptikus lókuszeket az új szinaptikus kapcsolatok számára. Az egyébként kizárólag posztzinaptikus dendritek "axonizációja" révén, az idegsejtek új szinapsziseket, illetve szinaptikus organizációt alakítanak ki, amelyek a CGL-ben végzett vizsgálatok szerint, új működő hálózatot képeznek. E megfigyelések azt igazolják, hogy egyes neurontípusok a "stabilizált", érett hálózatokban is megtartják reaktivitásukat, kompenzatórikus szinaptogenetikus potenciáljukat (17,18,33,34).

Research Review (1979-1989)

A/ Functional morphology of synaptic organization in different regions of the central nervous system

1/ Studies on complex excitatory and inhibitory neuronal circuits in the visual cortex of rat, cat and monkey.

- Inhibitory interneurons of the neocortex were identified on the basis of their electrophysiological response properties, axonal and dendritic arborisations, input-output characteristics, and neurotransmitter or neuropeptide content (5,6,12,13,36,37,44).
- The inhibitory, GABAergic interneuron, controlling output of the cortex by forming axo-axonal synapses on pyramidal initial axonal segment was identified (38,43).
- Vertical and horizontal, inhibitory and excitatory intracortical connections, responsible for the formation of the columnar architecture of the neocortex, were described (24,25,26,27,28,35,36,37,42,46,47,48).
- The anatomical and physiological basis of the thalamocortical transmission of visual impulses, and the possible mechanism of generation of "cortical-type" receptive fields was determined (7,8).

- New methods were developed for the complex anatomical, neurochemical and electrophysiological analysis of neuronal networks (26,28,35,36,41,44,45).

2/ Subcortical control mechanisms of the hippocampus; selective modulation of local inhibitory circuits.

New types of GABAergic inhibitory interneurons and their connectivity were described in the hippocampus, and the coexistence of GABA with somatostatin and cholecystokinin in two distinct subpopulations of interneurons was discovered (38).

It was shown that the septum can effectively control the hippocampal information-processing via GABA-GABAergic disinhibition. The types of innervated interneurons were identified on the basis of their neuropeptide and Ca^{2+} -binding protein content.

A GABAergic projection from the basal forebrain to the neocortex was described, and the postsynaptic targets were identified as local GABAergic neurons, most of which contain somatostatin. This pathway is likely to have a disinhibitory effect on neocortical activity.

The structural basis of a selective serotonergic modulation of feed forward inhibition, and a noradrenergic innervation of principal cells in the hippocampus was described (3,43).

3/ Plasticity and pathology of hippocampal neuronal circuits.

It was shown that the lack of a specific axo-axonic inhibition and the presence of an abnormal collateral excitation was primarily responsible for the spontaneous epileptic activity in hippocampal transplants. The pattern of neuronal death after ischemia and epileptic activity was described, and the relationship between neuronal vulnerability and Ca^{2+} -binding protein or neuropeptide content was determined. It was demonstrated that lowered brain temperature and anesthesia have neuroprotective effects in ischemia (1,4).

4/ Anatomical-immunohistochemical investigation of the local neural network and the afferent and efferent connections of the neostriatum.

The monosynaptic cortical and dopaminergic nigral innervation of the striatonigral cells and their specialized association on dendritic spines were demonstrated.

It was shown, that the dopaminergic afferents originating from embryonic midbrain-transplant reinnervate the denervated neostriatum, accomplishing the original function through efferent connections of abnormal character.

The connectivity and the synaptic connections of the GABAergic, cholinergic and those of the somatostatin-, enkephalin- and Substance-P-containing striatal cells were characterized (8a).

5/ Electron microscopic and immunocytochemical investigation of Lateral Geniculate Nucleus (LGN) in monkey, rat and cat.

The number and connectivity of extrinsic and intrinsic inhibitory neurons and interneurons in magnocellular and parvocellular layers of monkey LGN were established. With the aid of a newly produced GABA antibody, the number of GABA-ergic interneurons was determined in the LGN of cat, rat and monkey as well as in prenatal human LGN; using a combination of Golgi impregnation and GABA immunostaining, the morphological characteristics and connectivity of inhibitory interneurons was analyzed (9,11,15,22,31,40,41,50).

By means of simulation modelling, the probable operational features of synaptic triads, characteristic for LGN was described (29,30).

6/ Cerebellar cortex.

Using experimental morphological methods, the nucleocortical afferents were identified as special mossy endings terminating in the granular layer. Studies using electron microscopic, immunogold GABA-staining methods revealed that some of the nucleocortical mossy terminals - in contrast to the majority of extracerebellar glutamaterg mossy terminals - are GABAergic. It was demonstrated furthermore, that the GABAergic nucleocortical mossy terminals contain large spheroid synaptic vesicles. This observation clearly contradicts previous textbook data, according to which terminals containing large spheroid vesicles are of excitatory character. It was also shown, that in many axon terminals of local Golgi neurons, GABA and glycine were colocalized. Quantitative electron microscopic and stereological methods were used to determine the number and spatial distribution of synaptic junctions within the cerebellar glomerulus. This provided the morphological basis for simulation modelling of the operational modes of this complex synapse. Number and distribution of GABA-containing neurons and their terminals in the cerebellar cortex were established (10,14,21,32,39).

B./ Morphological plasticity in the developing and adult nervous system

1/ Postnatal differentiation of cerebellar cortex.

Ontogenetic differentiation of the mossy fiber synapse was investigated by quantitative electron microscopy. It was found, that the synaptic perimeter of developing mossy terminals, following an initial over-production of postsynaptic junctions will be stabilised at the adult value (6%) by the 3rd postnatal week. The decrease of the initially high value of synaptic loci is due to the selective disappearance of postsynaptic receptoric structures which failed to establish functioning junctions (contacts) with the presynaptic mossy terminal. The role of cerebellar basket cells in the formation of normal architecture and of Purkinje cell monolayer was demonstrated in experimental studies using chemical destruction of the prospective basket neurons (2,19).

Electron microscopic and immunocytochemical investigation of cerebellar and cerebral cotransplants to the anterior eye chamber has shown that the characteristic structure of both cortical types develop in the absence of connections with the brain. It was also found, that axons growing from the neocortical transplant to the transplanted cerebellar cortex develop a morphology similar to mossy, parallel or climbing fibers in the intact cerebellum. These observations provide evidence for the inductive role of postsynaptic (i.e. cerebellar) neurons in the morphodifferentiation of terminals of incoming, foreign afferent fibers.

2/ Synaptogenesis in the thalamic ventrobasal (VB) complex of mouse, following vibrissa destruction in the newborn.

The follicles of vibrissae in newborn mice were destroyed and the development of synaptic organization in VB was studied by quantitative light- and electron microscopy and immunocytochemistry. It was found that the specific vibrissal afferents are replaced by morphologically identical (or similar) axon terminals of cortical, retinal origin, or by axons coming from the inhibitory reticular nucleus of the thalamus. This observation is a further indication of the importance of postsynaptic VB neurons in the morphodifferentiation of presynaptic elements (16). Other authors (e.g.D.Forst) have also shown that the foreign afferents and their synaptic endings are operational.

3/ Synaptic plasticity in the cerebellar cortex and in LGN of adult animals.

Complete deafferentation in adult cerebellar cortex of the rat was shown to lead to a compensatory synaptic reorganization in the granular layer. However, in the absence of axonal sprouting by local interneurons (Golgi + granule cells), the new synapses were formed by dendrites and even somata of the mossy fiber-deprived nerve cells. Similarly, chronic decortication of the thalamic LGN, i.e. the partial deafferentation of this nucleus, lead to a synaptic reorganization through the development of presynaptic sites on the otherwise classical, exclusively postsynaptic dendritic processes of relay neurons. The newly developed synapses were shown to be operational. Retinal deafferentation of the LGN similarly lead to a synaptic reorganization through a (relative) increase of density of cortical endings on the shortened, shrunken dendritic arbor of relay cells. - These findings supply evidence for the maintainance of synaptic reactivity and synaptogenetic potential of "stabilised" neuronal elements in the adult nervous system.

Irodalmi hivatkozások/List of References

1. Buzsáki, G., Freund, T.F., Bayardo, F., Leon, A., Somogyi, P.: Ischaemia-induced changes in the electrical activity of hippocampus. *Exp.Brain Res.*, 78, 268-278, 1989.
2. De Barry, J., Gombos, G., Klupp, T., Hátori, J.: Alteration of mouse cerebellar circuits following meythylazoxymethanol treatment during development: immunohistochemistry of GABAergic elements and electron microscopic study. *J.Comp.Neurol.*, 261, 253-265, 1987.
3. Freund, T.F. and Antal, M.: GABA-containing neurons in the septum control inhibitory interneurons in the hippocampus. *Nature*, 336, 170-173, 1988.
4. Freund, T.F. and Buzsáki, Gy.: Alterations in excitatory and GABAergic inhibitory connections in hippocampal transplants. *Neuroscience*, 27, 373-385, 1988.
5. Freund, T.F., Magloczky, Zs., Soltész, I., Somogyi, P.: Synaptic connections, axonal and dendritic patterns of neurons immunoreactive for cholecystokinin in the visual cortex of the cat. *Neuroscience*, 19, 1133-1159, 1986.
6. Freund, T.F., Martin, K.A.C., Smith, A.D., Somogyi, P.: Glutamate decarboxylase-immunoreactive terminals of Golgi-impregnated axoaxonic cells and of presumed basket cells in synaptic contact with pyramidal neurons of the cat's visual cortex. *J.Comp.Neurol.*, 221, 263-278, 1983.
7. Freund, T.F., Martin, K.A.C., Soltész, I., Somogyi, P., Whitteridge, D.: Arborisation pattern and postsynaptic targets of physiologically identified thalamocortical afferents in striate cortex of the macaque monkey. *J.Comp.Neurol.*, 289, 315-336, 1989.
8. Freund, T.F., Martin, K.A.C., Somogyi, P., Whitteridge, D.: Innervation of cat visual areas 17 and 18 by physiologically identified X- and Y-type thalamic afferents. II. Identification of postsynaptic targets by GABA immunocytochemistry and Golgi impregnation. *J.Comp.Neurol.*, 242, 275-291, 1985.

- 8a. Freund, T.F., Bolam, J.P., Bjorklund, A., Stenevi, U., Dunnett, S.B. and Smith, A.D.: Efferent synaptic connections of grafted dopaminergic neurons reinnervating the host neostriatum: A tyrosine hydroxylase immunocytochemical study. *J.Neurosci.*, 5, 603-616, 1985.
9. Gabbott, P.L.A., Somogyi, J., Stewart, M.G., Hámori, J.: GABA-immunoreactive neurons in the dorsal lateral geniculate nucleus of the rat: characterisation by combined Golgi-impregnation and immunocytochemistry. *Exp. Brain Res.*, 61, 311-322, 1986.
10. Gabbott, P.L.A., Somogyi, J., Stewart, M.G., Hámori, J.: GABA-immunoreactive neurons in the rat cerebellum: A light and electron microscopic study. *J.Comp.Neurol.*, 251, 474-490, 1986.
11. Gabbott, P.L.A., Somogyi, J., Stewart, M.G., Hámori, J.: The orientation of interneurons in the dorsal lateral geniculate nucleus of the rat: a quantitative study. *Brain Res.*, 438, 379-384, 1988.
12. Gabbott, P.L.A., Somogyi, P.: Quantitative distribution of GABA-immunoreactive neurons in the visual cortex (area 17) of the cat. *Exp. Brain Res.*, 61, 323-331, 1986.
13. Garey, L.J., Takács, J., Revischin, A.V., Hámori, J.: Quantitative distribution of GABA-immunoreactive neurons in cetacean visual cortex is similar to that in land mammals. *Brain Res.*, 485, 278-284, 1989.
14. Hámori, J., Mezey, E., Szentágothai, J.: Electron microscopic identification of cerebellar nucleocortical mossy terminals in the rat. *Exp. Brain Res.*, 44, 97-100, 1981.
15. Hámori, J., Pasik, P., Pasik, T.: Differential frequency of P-cells and I-cells in magnocellular and parvocellular laminae of monkey lateral geniculate nucleus. *Exp. Brain Res.*, 52, 57-66, 1983.
16. Hámori, J., Savy, C., Madarász, M., Somogyi, J., Takács, J., Verley, R., Farkas-Bargeton, E.: Morphological alterations in subcortical vibrissal relays following vibrissal follicle destruction at birth in the mouse. *J.Comp.Neurol.*, 254, 166-183, 1986.
17. Hámori, J., Solakov, V.L.: Plasticity of relay neurons in dorsal lateral geniculate nucleus of the adult cat: morphological evidence. *Neuroscience*, 5, 2073-2077, 1980.
18. Hámori, J., Somogyi, J.: Presynaptic dendrites and perikarya in deafferented cerebellar cortex. *Proc.Natl.Acad.Sci. USA*, 79, 5093-5096, 1982.
19. Hámori, J., Somogyi, J.: Differentiation of cerebellar mossy fiber synapses in the rat: A quantitative electron microscopic study. *J.Comp.Neurol.*, 220, 365-377, 1983.
20. Hámori, J., Takács, J.: Morphological study of cerebellar transplant cocultivated with cerebral cortical graft in the anterior eye chamber. II. Purkinje cells and molecular layer. *Anat.Embryol.*, 177, 557-569, 1988.
21. Hámori, J., Takács, J.: Two types of GABA-containing axon terminals in cerebellar glomeruli of cat: an immunogold-EM study. *Exp. Brain Res.*, 74, 471-479.
22. Hodgson, A.J., Penke, B., Erdei, A., Chubb, I.W., Somogyi, P.: Antisera to G-aminobutyric acid. I. Production and characterization using a new model system. *J.Histochem.Cytochem.*, 33, 229-239, 1985.
23. Jakab, R.L., Hámori, J.: Quantitative morphology and synaptology of cerebellar glomeruli in the rat. *Anat.Embryol.*, 179, 81-88, 1988.

24. Kisvárday, Z.F., Cowey, A., Somogyi, P.: Synaptic relationships of a type of GABA-immunoreactive neuron (clutch cell), spiny stellate cells and lateral geniculate nucleus afferents in layer IVC of the monkey striate cortex. *Neuroscience*, 19, 741-761, 1986.
25. Kisvárday, Z.F., Cowey, A., Smith, A.D., Somogyi, P.: Interlaminar and lateral excitatory amino acid connections in the striatal cortex of monkey. *J.Neurosci*, 9, 667-682, 1989.
26. Kisvárday, Z.F., Martin, K.A.C., Freund, T.F., Magloczky, Z.S., Whitteridge, D., Somogyi, P.: Synaptic targets of HRP-filled layer III pyramidal cells in the cat striate cortex. *Exp. Brain Res.*, 64, 541-552, 1986.
27. Kisvárday, Z.F., Martin, K.A.C., Friedlander, M.J., Somogyi, P.: Evidence for interlaminar inhibitory circuits in the striate cortex of the cat. *J.Comp.Neurol.*, 260, 1-19, 1987.
28. Kisvárday, Z.F., Martin, K.A.C., Whitteridge, D., Somogyi, P.: Synaptic connections of intracellularly filled clutch cells: A type of small basket cell in the visual cortex of the cat. *J.Comp.Neurol.*, 241, 111-137, 1985.
29. Lábos, E.: Asynchronous versus synochronous computation in the nervous system and their models. *J.Molec. Electronics*, 4, 67-77, 1988.
30. Lábos, E., Hámori, J. and Isomura, G.: On the functional significance of axonal triads in medial cuneate nucleus. *J.Hirnforsch.*, 21, 569-572, 1980.
31. Madarász, M., Somogyi, J., Somogyi, G., Hámori, J.: Numerical estimation of G-aminobutyric acid (GABA)-containing neurons in three thalamic nuclei of the cat: direct GABA immunocytochemistry. *Neurosci.Let.*, 61, 73-78, 1985.
32. Ottersen, O.P., Strom-Mathisen, J., Somogyi, P.: Colocalization of glycine-like and GABA-like immunoreactivities in Golgi cell terminals in the rat cerebellum: a postembedding light and electron microscopic study. *Brain Res.*, 450, 342-353, 1988.
33. Somogyi, J., Eysel, U., Hámori, J.: A quantitative study of morphological reorganization following chronic optic deafferentation in the adult cat dorsal lateral geniculate nucleus. *J.Comp.Neurol.*, 255, 341-355, 1987.
34. Somogyi, J., Hámori, J., Silakov, V.L.: Synaptic reorganization in the lateral geniculate nucleus of the adult cat following chronic decortication. *Exp. Brain Res.*, 54, 485-498, 1984.
35. Somogyi, P., Cowey, A.: Combined Golgi and electron microscopic study on the synapses formed by double bouquet cells in the visual cortex of the cat and monkey. *J.Comp.Neurol.*, 195, 547-566, 1981.
36. Somogyi, P., Cowey, A., Halász, N., Freund, T.F.: Vertical organization of neurons accumulating ^3H -GABA in the visual cortex of the Rhesus monkey. *Nature*, 294, 761-763, 1981.
37. Somogyi, P., Cowey, A., Kisvárday, F., Freund, T.F., Szentágothai, J.: Retrograde transport of G- ^3H amino butyric acid reveals specific interlaminar connections in the striate cortex of monkey. *Proc.Natl.Acad.Sci. USA*, 80, 2385-2389.
38. Somogyi, P., Freund, T.F., Hodgson, A.J., Somogyi, J., Beroukas, D., Chubb, I.W.: Identified axo-axonic cells are immunoreactive for GABA in the hippocampus and visual cortex of the cat. *Brain Res.*, 332, 143-149, 1985.

39. Somogyi, P., Halassy, K., Somogyi, J., Strom-Mathisen, J., Ottersen, O.P.: Quantification of immunogold labelling reveals enrichment of glutamate in mossy and parallel fibre terminals in cat cerebellum. *Neuroscience*, 19, 1045-1050, 1986.
40. Somogyi, P., Hodgson, A.J.: Antisera to G-aminobutyric acid. III. Demonstration of GABA in Golgi-impregnated neurons and in conventional electron microscopic sections of cat striate cortex. *J.Histochem.Cytochem.*, 33, 249-257, 1985.
41. Somogyi, P., Hodgson, A.J., Chubb, I.W., Penke, B., Erdei, A.: Antisera to G-aminobutyric acid. II. Immunocytochemical application to the central nervous system. *J.Histochem.Cytochem.*, 33, 240-248, 1985.
42. Somogyi, P., Kisvárdy, Z.F., Martin K.A.C., Whitteridge, D.: Synaptic connections of morphologically identified and physiologically characterized large basket cells in the striate cortex of cat. *Neuroscience*, 10, 261-294, 1983.
43. Somogyi, P., Nunzi, M.G., Gorio, A., Smith, A.D.: A new type of specific interneuron in the monkey hippocampus forming synapses exclusively with the axon initial segment of pyramidal cells. *Brain Res.*, 259, 137-142, 1983.
44. Somogyi, P., Soltész, I.: Immunogold demonstration of GABA in synaptic terminals of intracellularly recorded, horseradish peroxidase-filled basket cells and cluth cells in the cat's visual cortex. *Neuroscience*, 19, 1051-1065, 1986.
45. Somogyi, P., Takagi, H., Richards, J.G., Mohler, H.: Subcellular localization of benzodiazepine/GABA-A receptors in the cerebellum of rat, cat and monkey using monoclonal antibodies. *J.Neurosci.*, 9, 2197-2209, 1989.
46. Szentágothai, J.: Local neuron circuits of the neocortex. In: *Neurosciences: Fourth Study Program.* (F.O. Schmitt and F.G. Worden eds) The MIT Press, Cambridge, Mass. and London, pp. 399-415, 1979.
47. Szentágothai, J.: The modular architectonic principles of neural centers. *Rev.Physiol.Pharmacol.*, 98, 11-61, 1983.
48. Szentágothai, J.: Downward causation? *Ann.Rev.Neurosci.*, 7, 1-11, 1984.
49. Takács, J., Hámori, J.: Morphological study of cerebellar transplant cocultivated with cerebral cortical graft in the anterior eye chamber. I. Granular layer. *Anat.Embryol.*, 177, 543-556, 1988.
50. Wadhwa, S., Takács, J., Bijlani, V., Hámori, J.: Numerical estimates of GABA immunoreactive neurons in the human lateral geniculate nucleus in the prenatal period. *Human Neurobiol.*, 6, 261-272, 1988.

III. Nemzetközi kapcsolatok/International Connections

1. Oxford University, Pharmacological Department, MRC Anatomical-Pharmacological Unit
Kérgi hippocampális és striális vizsgálatok (Studies on hippocampal and striatal cortex) (1979-
folyamatos)
2. University of Lund, Department of Histology and Neurology
Striális transplantátumok (Striatal transplants) (1982-1985)
3. Department of Neurology, Mount Sinai School of Medicine, New York
Synaptic organization of lateral geniculate nucleus (1979-folyamatos)
4. Institute for Neurochemistry (CNRS), Strassbourg
Development of a granular cerebellum (1986-1987)
5. Pavlov Institute, Leningrad
Partial deafferentation of LGN (1979-folyamatos)

6.

NEUROENDOKRINOLÓGIAI RÉSZLEG

**Cím: Semmelweis OTE,
II. Anatómiai, Szövet- és Fejlődéstan Intézet
1094, Budapest, Tűzoltó u. 58.**

DEPARTMENT OF NEUROENDOCRINOLOGY

**Address: 2nd Institute of Anatomy, Histology and Embryology,
Semmelweis University of Medicine,
1094, Budapest, Tűzoltó street 58.**

Telefon/Phone: 113-6920

I. A kutatások résztvevői/Research Participants

1. Részlegvezető/Department Head	
Dr.Halász Béla (M.D.), akadémikus/Member of the Academy	
2. Akadémiai kutatók/Academic Staff	Idő/time [%]
a./ Tudományos főmunkatársak/Senior Research Fellows	
Dr.Kiss József (M.D.), kandidátus/C.Sc. (1979-1985)	70
Dr.Vlgh-Teichmann Ingeborg (M.D.), kandidátus/C.Sc. (1979-1981,1985-)	50
3. Egyetemi kutatók/University Staff	
a./ Docensek/Associate Professors	
Dr.Köves Katalin (M.D.), kandidátus/C.Sc. (1979-1986)	20
Dr.Vlgh Béla (M.D.), tud.doktora/D.Sc. (1979-)	20
Dr.Wenger Tibor (M.D.), kandidátus/C.Sc. (1979-1981, 1985-1988)	20
b./ Adjunktusok/Senior Assistants	
Dr.Gerendal Ida (M.D.), kandidátus/C.Sc. (1979-1981, 1983-)	20
Dr.Molnár Judit (M.D.) (1979-)	20
Dr. Nagy György (M.D.) (1979-1984,1988-)	20
Dr.Nemeskéri Ágnes (M.D.) (1979-1982,1984-)	20
c./ Tanársegédek/Assistants	
Dr.Bánky Bulcsúné (M.D.) (1979-)	60
Dr.Kacsóh Bálint (M.D.) (1984-1985)	20
4. Laboratóriumi asszisztensek/Laboratory Assistants	
Balázs Istvánné	
Berecz Lászlóné	
Grófné Voigt Ágnes	
Kutasl Ferenc	
Mészáros Mária	
Nagy Beatrix	
Dr.Petrányi Győzőné	
Dr.Salamon Antalné	
Szemere Lászlóné	
Takács Tivadarné	
5. Adminisztrátorok/Associated Staff	
Böröcz Sándorné	
Dr.Pleskó Kálmánné	

II. Tudományos eredmények (1979-1989)

Vizsgálva a hypothalamus-adenohypophysis rendszer ontogenezisét patkányban, több megállapítást tettek a rendszer differenciálódására vonatkozóan (31,32,34-36), és kimutatták, hogy szervtenyészetbe vitt, szintetikus tápfolyadékban tartott hypophysis kezdeményben végberemeg a troph-hormon-termelő sejtek differenciálódása (33), hormononként eltérő differenciálódási mintát mutatva (34,35). Ezen megfigyelésükkel elsőként bizonyították, hogy a hypophysis mellő lebeny funkcionális differenciálódásának megindulásához nincs szükség hypothalamikus hypophysiotroph neurohormonokra, a mirigy maga képes a hormonok szintézisére és leadására beindítani. Kimutatták továbbá, hogy a plazma corticosteron- szint jól ismert napszaki ritmusának az ontogenezis során való megjelenéséhez a hypothalamus nucleus suprachiasmaticusának serotoninergerg beidegzése nélkülözhetetlen, ennek hiányában a ritmus nem jelenik meg (1,2).

Szoptató patkány prolactin elválasztását tanulmányozva megállapították, hogy az ilyen állat plazma prolactinszintje napszaki és epizódikus ingadozást mutat, s az utóbbi változás nincsen közvetlen kapcsolatban azzal, hogy az anya aktuálisan szoptat-e vagy sem (28). A noradrenalin bioszintézis gátlásával reverzibilisen gátolni tudták a vérplazma prolactin-koncentrációjának epizódikus változásait. Megfigyelték, hogy az anyák elválasztása kicsinyeiktől azonnali teljes gátlást eredményez a hypophysis prolactin ürítésében, és ezért egy dopaminerg mechanizmus (feltehetően a tuberoinfundibuláris dopaminerg-rendszer) a felelős (26). A néhány órás elkülönítést követő szopási inger hatására létrejövő, igen gyors és nagymértékű plazma prolactinszint emelkedéséhez a nucleus paraventricularis nélkülözhetetlen. A vasopressin rendszer, s ezen keresztül a só- és vízháztartás szabályozásának épsége alapfeltétele a laktáció során történő, normális prolactin-elválasztásnak (29).

Folytatták a hypophysis gonadotroph hormon elválasztás szabályozásának vizsgálatát patkányban (13). Megállapították, hogy az eminentia mediana gonadotroph hormon releasing hormon (GnRH) tartalmának kevesebb mint 50%-a származik a praеоpticus és suprachiasmaticus areából, a további kb. 50% előbbi területtől rostralis és dorsalis irányban elhelyezkedő struktúrákból ered (11,23). Különböző hypothalamikus deafferenciációkat végezve kimutatták többek között, hogy a GnRH pályák felének épsége, az eminentia mediana GnRH tartalmának 40%-a elegendő az ovuláció létrejöttéhez (21). Leírták, hogy a folyamatosan oestrusban lévő patkányok hypophysisében a GnRH receptorok mennyisége értékelhetően nem változik (19). Kísérleti adatokat gyűjtöttek, melyek arra utalnak, hogy a harmadik agykamra körül egyik ependyma szerv, az organon vasculosum laminae terminalis, szerepet játszhat a gonadotroph hormonok ciklikus elválasztásának szabályozásában (48,49). Kimutatták, hogy a marihuana hatóanyaga, a tetrahydrocannabinol, feltehetően az idegrendszeren keresztül hatva, jelentősen károsítja a reprodukciós folyamatokat (47,50). Több olyan megfigyelést tettek (10,14,22), melyek alapján elsőként között vetették fel, hogy a pubertás a hypophysis gonadotroph működését szabályozó idegi struktúrák szerkezeti és funkcionális differenciálódásával függ össze, és akkor jelentkezik, amikor az idegi szabályozó mechanizmus megfelelő érettségi szintet ér el.

Behatóan elemezték az oploid peptidok hatását a hypophysis troph hormon funkciójára. Leírták többek között: a (D-Met², Pro⁵)-enkephalinamid (enkephalin analóg) blokkolja patkányban az ovulációt (20); naloxonnal fel lehet függeszteni a pentobarbitállal létrehozott ovulációgátlást (24) és gátolni lehet a vérplazma prolactin szintjének az elkülönítést követő szopási ingerre létrejövő emelkedését (27). Több más észlelet alapján is arra a következtetésre jutottak, hogy az ACTH, a növekedési hormon és a prolactin elválasztásának fokozódása azonos receptorokon keresztül valósul meg (12,25).

Vizsgálataikkal nemzetközi viszonylatban elsőként hívták fel a figyelmet arra, hogy a herében szintetizálódó oploidok, a szervben belül hatva, szerepet játszanak a hereműködés

szabályozásában. Megfigyelték továbbá, hogy újszülött patkányban az oploid receptor-antagonista naloxon és nalmefen intratesticularis adagolását követően (5 nap) a Sertoli-sejt aktivitása (sejtproliferáció, androgén-kötő fehérje-szekréció) fokozódik, míg a szérum tesztoszteron koncentrációja és a tesztoszteron in vitro mért bazális szekréciója csökken (7,8). Ivaréretlen patkányban hasonló kezelés nem befolyásolja a Sertoli-sejt funkcióit, gátolja azonban a tesztoszteron szekréciót (9).

Folytatták korábbi, úttörő jellegű vizsgálataikat, melyek arra utaltak, hogy a perifériás endokrin szervek és a hypothalamus között közvetlen idegi kapcsolatot áll fenn, s hogy e szervek működése közvetlen idegi szabályozás alatt áll. Kimutatták, hogy félordall vagotomia, valamint a hypothalamus félordall deafferentációja gátolja a kompenzatórikus petefészkek hypertrophia kialakulását (4). Hemiovariektomizált patkányban, hypophysectomiát követően, a petefészkek atrophijája kevésbé kifejezett, mint hypophysectomizált, két ováriummal bíró állatban (3). A nemzetközi irodalomban elsőként több olyan megfigyelést tettek, melyek egyértelműen arra utalnak, hogy a perifériás endokrin szervek szabályozásában résztvevő bizonyos idegi struktúrák funkcionális aszimmetriát mutatnak (egyik oldall beavatkozás befolyásol bizonyos endokrin funkciókat, a másik oldalon végzett hasonló beavatkozás hatástalan, vagy eltérő eredményt ad 5,6).

Az autoradiográfia és az immuncitokémia elektronmikroszkópos szinten való kombinált alkalmazásával megállapították (15-18), hogy serotoninerg axonok szinaptizálódnak hypophysiotroph neurohormonokat termelő idegsejtekkel. Ezek az adatok morfológiai alapot szolgáltatnak azon feltételezéshez, hogy serotonin tartalmú idegelemek a hypophysis mellső lebeny működésére gyakorolt hatásukat, legalábbis részben, a hypophysiotroph neuronokra közvetlenül hatva fejthetik ki.

A corpus pineale immuncitokémiai vizsgálata során megállapították, hogy a submammillák fotoreceptor pinealocytáinak kültagjában, immuncitokémiai módszerekkel rodopsin mutatható ki (37-38). A korábban csapoknak tartott sejtek között antlopsin reakcióval két fő típus: pálcika- és csapjellegű receptor különíthető el (37,40), s közöttük altípusok is előfordulnak (42). A retina pálcikákra jellegzetes S-antigén immunreakció szintén a pálcika-jellegű pinealocytákban mutat pozitívítást, sőt emlősök pinealocytáinak egy része is S-antigén pozitív, így e szempontból szintén pálcikajellegű (40,41). A szerv fotoreceptor működését támasztja alá a corpus pineale A-vitamin tartalma is, amit immuncitokémiailag mutattak ki (42) mind submammillákban, mind emlősökben. Ezen felül részletesen vizsgálták a liquor térrel közvetlenül érintkező ún. liquorkontakt neuronok finomszerkezeti sajátosságait (43-46).

Research Review (1979-1989)

Studying the ontogenesis of the hypothalamoadenohypophyseal system of the rat, several observations were made concerning the development of the system (31,32,34-36). It was demonstrated that differentiation of the troph hormone-producing cells occurred in pituitary primordia cultured in synthetic medium (33). The developmental patterns of releasing activity displayed by the various hormone-synthesizing cells in vitro show several characteristic features (34,35). These observations provided the first experimental evidence for the assumption that the anterior pituitary does not require hypothalamic hypophysiotropic neurohormones for the initiation of functional differentiation. The gland itself is capable to initiate synthesis and release of hormones. Further, it was shown that the serotonergic innervation of the hypothalamic supra-chiasmatic nucleus was indispensable for the onset of the well-known diurnal fluctuations in plasma corticosterone levels. The rhythm did not appear in the absence of this innervation (1,2).

The study of prolactin secretion of lactating rats had shown circadian and episodic changes of plasma prolactin levels not closely related to the actual nursing activity of the animal (28). The episodic prolactin level changes could be blocked by a drug inhibiting norepinephrine biosynthesis. Separation of the mother from her litter resulted in an immediate and full blockade of prolactin

release from the pituitary. A dopaminergic mechanism (presumably the tubero-infundibular dopaminergic system) appeared to be responsible for this effect (26). The hypothalamic paraventricular nucleus is essential for the suckling-induced rapid and marked increase in plasma prolactin levels. The intact control of salt- and waterhousehold through the vasopressinergic system is a prerequisite for normal prolactin secretion during lactation (29).

Previous studies on the control of pituitary gonadotrophic hormone secretion of the rat were continued (13), and furnished further quantitative data about the origin of the gonadotrophic hormone-releasing hormone (GnRH) content of the median eminence (11,23). It was demonstrated that half of the GnRH pathway and 40% of the GnRH content of the median eminence is sufficient for the induction of ovulation (21). It was reported that the number of GnRH receptors in the pituitary did not show appreciable alterations in constant estrous rats (19). Experimental data suggested that the organon vasculosum laminae terminalis, an ependymal organ in the wall of the third ventricle, may play a role in the control of cyclic secretion of gonadotrophic hormone (48,49). In addition, it was also demonstrated that tetrahydrocannabinol, the biologically active substance of marijuana, causes presumably via the central nervous system, significant alterations in reproductive functions (47,50). Present authors were among the first ones to postulate (10,14,22) that puberty was primarily related to the structural and functional differentiation of the nervous structures controlling the pituitary gonadotrophic function, and that the onset of puberty started when the neural control mechanism reached the required level of differentiation.

The effect of opioid peptides on pituitary trophic hormone secretion was also intensively studied. The results obtained are listed below: (D-Met², Pro⁵)-enkephalinamid, an enkephalin analog, blocked ovulation (20); the pentobarbital-induced blockade of ovulation could be released by naloxone (24); naloxone blocked the suckling-induced prolactin release (27). Further it was shown (12,25) that the ACTH, growth hormone and prolactin-releasing effect of opioids was mediated through one type of opioid receptors.

Authors were the first to demonstrate that opioid peptides synthesized in the testis and having a local action affect the testicular function. It was shown that in neonatal animals intratesticular administration of the opiate receptor antagonist naloxone or nalmeferne (5 days posttreatment) stimulated Sertoli cell activity (proliferation, androgen-binding protein secretion) and reduced serum testosterone concentration and basal testosterone secretion in vitro (7,8). In immature rats, similar treatment had no effect on Sertoli cell functions but inhibited testosterone secretion (9).

Previous studies from this laboratory provided the first experimental evidence concerning the direct neural connections between the target endocrine glands and the hypothalamus and the control of the glands by the peripheral innervation. Unilateral vagotomy and hemi-deafferentiation of the hypothalamus was shown to prevent the development of compensatory ovarian hypertrophy (4). In hemiovariectomized and hypophysectomized rats the atrophy of the remaining ovary was less marked than in animals with hypophysectomy alone (3). A number of pioneering observations have firmly indicated that certain neural structures involved in the regulation of target endocrine glands display functional asymmetry (e.g., while a given left-sided neural intervention may consistently elicit certain changes in endocrine functions, a similar but right-sided intervention may be either ineffective or may elicit endocrine changes different from those characteristic of left-sided intervention, 5,6).

It was demonstrated by combined electron microscopic autoradiography and immunocytochemistry that there were synaptic connections between serotonergic axons and neurons producing various hypophysiotrophic neurohormones (15-18). These observations may be interpreted as morphological evidence for the view that serotonergic nerve elements exert, at least partly, their influence on the anterior pituitary by acting directly on the hypophysiotrophic neurons.

Light and electron microscopic immunocytochemical study of the pineal body revealed the presence of rhodopsin in the outer segment of the submammalian photoreceptor pinealocytes (37-39). Among the photoreceptor cells described earlier as uniform cones, two main types could be distinguished by antiopsin immunoreaction: rod-type and cone-type photoreceptors (37,40). Each of

them may comprise further subtypes (42). Similarly, the S-antigen immunoreaction specific for retinal rods, was also positive in the rod-type pinealocytes (40,41). Moreover, some of the mammalian pinealocytes were S-antigen-positive indicating their rod-like nature from this point of view (40,41). The concept concerning the photoreceptor function of the pineal organ was supported by the demonstration of vitamin A (42) not only in the submammalian but also in the mammalian pineal organ. Detailed studies were performed on the ultrastructure of the so-called CSF (cerebrospinal fluid)-contacting neurons communicating directly with the CSF space by their perikarya, dendrites or axons (43-46).

Irodalmi hivatkozások/List of References

1. Bánky, Zs., Halász, B. and Nagy, Gy.: Circadian corticosterone rhythm did not develop in rats seven weeks after destruction with 5,7-DHT of the serotonergic nerve terminals in the suprachiasmatic nucleus at the age of 16 days. *Brain Res.*, 369, 119-124, 1986.
2. Bánky, Zs., Molnár, J., Csernus, V. and Halász, B.: Further studies on circadian hormone rhythms after local pharmacological destruction of the serotonergic innervation of the rat suprachiasmatic region before the onset of the corticosterone rhythm. *Brain Res.*, 445, 222-227, 1988.
3. Gerendai, I.: Less severe ovarian atrophy in hypophysectomized hemiovariectomized rats than in hypophysectomized animals with two ovaries. *Neuroendocrinology*, 29, 346-349, 1979.
4. Gerendai, I.: Unilateral isolation of the medio-basal hypothalamus interferes with compensatory ovarian growth following unilateral ovariectomy. *Neuroendocrin.Lett.*, 2, 39-43, 1980.
5. Gerendai, I.: Lateralization of neuroendocrine control. In: *Cerebral Dominance, the Biological Foundations*. N. Geschwind and A.M. Galaburda (eds), Harvard University Press, Cambridge, MA, 1984. pp. 167-178.
6. Gerendai, I.: Laterality in the neuroendocrine system. In: *Quality and Unity of the Brain*. Vol. 47. D. Ottoson (ed), McMillan Press, 1987. pp. 17-28.
7. Gerendai, I., Nemeskéri, Á. and Csernus, V.: Naloxone has a local effect on the testis of immature rats. *Andrologia* 15, 398-403, 1983.
8. Gerendai, I., Shaha, I., Gunsalus, G.L. and Bardin, C.W.: The effect of opioid receptor antagonists suggest that testicular opiates regulate Sertoli and Leydig cell function in the neonatal rat. *Endocrinology*, 118, 2039-2044, 1986.
9. Gerendai, I., Shaha, C., Thau, R. and Bardin, C.W.: Do testicular opiates regulate Leydig cell function? *Endocrinology*, 115, 1645-1648, 1984.
10. Gerőcs, K., Réthelyi, M. and Halász, B.: Quantitative analysis of dendritic protrusions in the medial preoptic area through postnatal development. *Dev.Brain Res.*, 26, 49-57, 1986.
11. Halász, B.: Hypothalamo-anterior pituitary system and pituitary portal vessels. In: *The Pituitary Gland*. H. Imura (ed). Raven Press, New York, 1985. pp. 1-23.

12. Halász, B.: A 1985 view of the hypothalamic control of the anterior pituitary. In: Neuroendocrine Perspectives, E.E. Müller and R.M. MacLeod (eds), vol. 5., Elsevier, Amsterdam-New York-Oxford, 1986. pp. 1-10.
13. Halász, B., Köves, K. and Molnár, J.: Neural control of ovulation. *Human Reproduction*, 3, 35-37, 1988.
14. Halász, B., Köves, K., Molnár, J., Balika, K., Stoll, V. and Kovács, G.: Hypothalamus and puberty. *Brain Res.Bull.*, 20, 709-712, 1988.
15. Kiss, J., Csáki, Á. and Halász, B.: Demonstration of serotonergic axon terminals on somatostatin-immunoreactive neurons of the anterior periventricular nucleus of the rat hypothalamus. *Brain Res.*, 442, 23-32, 1988.
16. Kiss, J. and Halász, B.: Demonstration of serotonergic axons terminating on LH-RH neurons in the preoptic area of the rat using a combination of immunocytochemistry and high resolution autoradiography. *Neuroscience*, 1, 69-78, 1985.
17. Kiss, J. and Halász, B.: Synaptic connections between serotonergic axon terminals and tyrosine hydroxylase immunoreactive neurons in the arcuate nucleus of the rat hypothalamus. A combination of electron microscopic autoradiography and immunocytochemistry. *Brain Res.*, 364, 284-294, 1986.
18. Kiss, J., Léránth, Cs. and Halász, B.: Serotonergic endings on VIP-neurons in the suprachiasmatic nucleus and on ACTH-neurons in the arcuate nucleus of the rat hypothalamus. A combination of high resolution autoradiography and electron microscopic immunocytochemistry. *Neuroscience Lett.*, 44, 119-124, 1984.
19. Köves, K., Kerdelhue, B., Molnár, J., Csernus, V. and Halász, B.: Pituitary gonadotropin-releasing hormone binding sites in persistent estrous rats. *Neuroendocrinology*, 48, 489-494, 1988.
20. Köves, K., Marton, J., Molnár, J. and Halász, B.: (D-Met²,Pro⁵)-enkephalinamide-induced blockade of ovulation and its reversal by naloxone in the rat. *Neuroendocrinology*, 32, 82-86, 1981.
21. Köves, K. and Molnár, J.: Effect of various hypothalamic deafferentations injuring different parts of the GnRH pathway on ovulation, GnRH content of the median eminence and plasma LH and FSH levels. *Neuroendocrinology*, 44, 172-183, 1986.
22. Köves, K., Molnár, J., Balika, K., Stoll, V., Kovács, G. and Halász, B.: Transitory increase in plasma FSH and LH levels induces early vaginal opening and corpus luteum formation in ovarian transplants of rats ovariectomized at 20 days of age. *Acta Physiol. Hung.*, 73, 489-498, 1989.
23. Köves, K., Molnár, J., Marton, J. and Halász, B.: Further data on the origin of gonadotropin releasing hormone in the median eminence of the rat hypothalamus. *Acta Physiol.Hung.*, 67, 247-255, 1986.
24. Marton, J., Molnár, J., Köves, K. and Halász, B.: Naloxone reversal of the pentobarbital-induced blockade of ovulation in the rat. *Life Sci.*, 28, 737-743, 1981.
25. Molnár, J., Marton, J. and Halász, B.: Effects of naloxone on the (D-Met²,Pro⁵)-enkephalin-induced ACTH, GH and prolactin release. In: Neuropeptides, Neurotransmitters and Regulation of Endocrine Processes. Integrative Neurohumoral Mechanisms. E. Endrőczy, L. Angelucci, V. Scapagnini, D. DeWied (eds), Akadémiai Kiadó, Budapest, 1983, pp. 379-383.

26. Nagy, Gy. and Halász, B.: Time course of the litter removal-induced depletion in plasma prolactin levels of lactating rats. An immediate full blockade of the hormone release after separation. *Neuroendocrinology*, 37, 459-462, 1983.
27. Nagy, Gy., Kacsóh, B. and Halász, B.: Effect of naloxone on the suckling-induced prolactin release in rats. *Endocrinol. Experiment*, 16, 239-246, 1982.
28. Nagy, Gy., Kacsóh, B. and Halász, B.: Episodic prolactin and growth hormone secretion not related to the actual suckling activity in lactating rats. *J. Endocrinol.*, 111., 137-142, 1986.
29. Nagy, Gy., Neill, J.D., Makara, G.B. and Halász, B.: Lack of the suckling-induced prolactin release in homozygous Brattleboro rats: the vasopressin-neurophysin-glycopeptide precursor may play a role in prolactin release. *Brain Res.*, 5-4, 165-167, 1989.
30. Nagy, Gy., Takács, L. and Halász, B.: (D-Met²,Pro⁵)-enkephalinamide causes a decrease in plasma prolactin levels of lactating rats continuously suckled and increase in those deprived of their litter. *Regul. Peptides*, 8, 321-326, 1984.
31. Nemeskéri, Á., Detta, A. and Clayton, R.N.: Hypothalamic GnRH and pituitary gonadotroph relationships during rat fetal life. *Exp. Clin. Endocrinol.*, 88, 275-284, 1986.
32. Nemeskéri, Á., Grouselle, D., Faivre-Bauman, A. and Tixier-Vidal, A.: Developmental changes of thyroliberin (TRH) in the rat brain. *Neuroscience Lett.* 53, 279-284, 1985.
33. Nemeskéri, Á. and Halász, B.: Cultured fetal rat pituitaries kept in synthetic medium are able to initiate synthesis of trophic hormones. *Cell Tissue Res.*, 255, 645-650, 1989.
34. Nemeskéri, Á., Halász, B. and Kurcz, M.: Ontogenesis of the rat hypothalamo-hypophyseal system and inherent capacity of the fetal pituitary to differentiate into hormone- synthesizing and releasing cells. In: *The Anterior Pituitary*, A.S. Bhatnagar (ed), Raven Press, New York, 1983. pp. 341-354.
35. Nemeskéri, Á., Kurcz, M. and Halász, B.: Changes in hypophyseal luteinizing hormone (LH) content during fetal and early postnatal life and capacity of fetal and early postnatal pituitaries to synthesize and release LH in vitro. *Neuroendocrinology*, 38, 393-396, 1984.
36. Nemeskéri, Á., Sétáló, G. and Halász, B.: Ontogenesis of the three parts of the fetal rat adenohypophysis. A detailed immunocytochemical analysis. *Neuroendocrinology*, 48, 534-543, 1988.
37. Vigh-Teichmann, I., Korf, H.W., Nürnberger, F., Oksche, A., Vigh, B. and Olsson, R.: Opsin-immunoreactive outer segments in the pineal and parapineal organs of the lamprey (*Lampetra fluviatilis*), the eel (*Anguilla anguilla*) and the rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Cell Tissue Res.*, 230, 289-307, 1983.
38. Vigh-Teichmann, I., Röhlich, P., Vigh, B. and Aros, B.: Comparison of the pineal complex, retina and cerebrospinal fluid-containing neurons by immunocytochemical antirhodopsin reaction. *Z. Mikr. Anat. Forsch.*, 94, 623-640, 1980.
39. Vigh-Teichmann, I. and Vigh, B.: The system of the cerebrospinal fluid-contacting neurons. *Arch. Histol. Jap.*, 46, 427-468, 1983.

40. Vigh-Teichmann, I. and Vigh, B.: Electron microscopic localization of opsin in the pineal organ. In: Pineal and Retinal Relationships. O'Brien, P., Klein, D.C. (eds). Academic Press, New York, 1986. pp. 401-413.
41. Vigh-Teichmann, I., Vigh, B., Gery, I. and Van Veen, T.: Different types of pinealocytes as revealed by immunoelectron microscopy of anti-S-antigen and antiopsin-binding sites in the pineal organ of toad, frog, hedgehog and bat. *Exp.Biol.*, 45, 27-43, 1986.
42. Vigh-Teichmann, I., Vigh, B. and Wirtz, G.H.: Immunoelectron microscopy of rhodopsin and vitamin A in the pineal organ and lateral eye of the lamprey. *Exp.Biol.*, 48, 203-213, 1989.
43. Vigh, B. and Vigh-Teichmann, I.: Comparative neurohistology and immunocytochemistry of the pineal complex with special reference to CSF-contacting neuronal structures. *Pineal Res.Rev.*, 6, 1-65, 1988.
44. Vigh, B. and Vigh-Teichmann, I.: The pinealocyte-forming receptor and effector endings: Immunoelectron microscopy and calcium-histochemistry. *Arch.Histol.Cytol.*, 52, Suppl., 433-440, 1989.
45. Vigh, B., Vigh-Teichmann, I., Manzano e Silva, M.J. and Van den Pol A.N.: Cerebrospinal fluid-contacting neurons of the central canal and terminal ventricle in various vertebrates. *Cell Tissue Res.*, 231, 615-621, 1983.
46. Vigh, B., Vigh-Teichmann, I., Röhlich, P. and Oksche, A.: Cerebrospinal fluid-contacting neurons, sensory pinealocytes and Landolt's clubs of the retina as revealed by means of electron-microscopic immunoreaction against opsin. *Cell Tissue Res.*, 233, 539-548, 1983.
47. Wenger, T., Croix, D. and Tramu, G.: The effect of chronic prepubertal administration of marihuana (delta-9-tetrahydrocannabinol) on the onset of puberty and postpubertal reproductive function in female rats. *Biol.Rep.*, 39, 540-545, 1989.
48. Wenger, T., Kerdelhué, B. and Halász, B.: Does the organon vasculosum of the lamina terminalis play a role in the regulation of reproduction? *Acta Physiol.Hung.*, 58, 257-267, 1981.
49. Wenger, T. and Leonardeli, J.: Circadian and cyclic LHRH variations in the organon vasculosum of the lamina terminalis of female and male rats. *Neuroendocrinology*, 31, 331-337, 1980.
50. Wenger, T., Rettori, V., Snyder, G., Dalterio, S. and McCann, S.M.: Effects of delta-9-tetrahydrocannabinol (THC) on the hypothalamic-pituitary control of LH and FSH secretion in adult male rats. *Neuroendocrinology*, 46, 488-493, 1987.

III. Nemzetközi kapcsolatok/International Connections

1. Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, University of Catania, Catania, Italy
 Neuroendokrin szabályozó mechanizmusok vizsgálata, különös tekintettel az endokrin mirigyek közvetlen idegi szabályozására, illetve a szabályozásban résztvevő idegi struktúrák funkcionális aszimmetriájára. (Neuroendocrine control mechanisms with special emphasis on the direct neural control of endocrine glands and on the functional asymmetry of neural structures involved in regulation) (1979, 1982)

2. The Population Council New York, USA

A here-működés autokrin és parakrin szabályozása a szervben termelődő opioid peptidek által. (Autocrine and paracrine control of testicular function by opioid peptides produced in the testis) (1983, From 1985-)

3. Instituto di Endocrinologia, Università di Milano, Milano, Italy

A gonadotroph hormon-szekréció vagus által történő szabályozása. (Participation of the vagus in the control of gonadotroph hormone secretion) (1986)

4. Institute for Experimental Endocrinology and Hormone Chemistry, Moscow, USSR

Az endokrin pancreas idegi szabályozása. (Neural control of endocrine pancreas) (From 1987-)

5. Department of Medicine, Queen Elizabeth Hospital Edgbarton, Birmingham, England

Hypothalamikus LHRH, hypophyseális LHRH receptor ontogenezis (Ontogenesis of the hypothalamic LHRH and hypophyseal LHRH receptors) (1983-1984)

6. Collège de France, Paris, France

A hypothalamikus TRH és a hypophyseális prolactin ontogenezise (Ontogenesis of hypothalamic TRH and hypophyseal prolactin) (1979-1989)

7. Laboratoire d'Histologie, Faculté de Médecine, Université de Lille II, Lille, France

A gonadokban lévő enkephalinok immunhisztokémiája. Az LHRH ciklikus és diurnális változásai patkány hypothalamusban (Immunohistochemistry of enkephalins in the gonads; Circadian and cyclic variations of LHRH in rat hypothalamus) (From 1979-)

8. Unité 156, INSERM (Unité de la Recherche Hypothalamique 59045, Lille, France

Hypothalamikus LHRH neuronok immunhisztokémiája. A marihuana hatása a terhességre és pubertásra (The effect of marijuana on puberty and pregnancy; Immunohistochemistry of hypothalamic LHRH neurons) (From 1979-)

9. Laboratoire des Hormones Polypeptidiques C.N.A.S. Gif/Yvette, France

Az organon vasculosum laminae terminalis sértésének hatása a hypophysis gonadotroph működésére (Effects of organon vasculosum laminae terminalis lesions on gonadotrophic function of the pituitary) (1979-1982)

10. Department of Physiology, University of Texas, Health Science at Dallas, Dallas, Texas, USA

A tachykininek hatása a hypophysis gonadotroph működésére (Effects of tachykinins on pituitary gonadotrophic function) (1985-1987)

7.

PEPTIDKÉMIAI RÉSZLEG

**Cím: Semmelweis OTE,
I. Kémiai és Biokémiai Intézet
1082, Budapest, Puskin u. 9.**

DEPARTMENT OF PEPTIDE CHEMISTRY

**Address: 1st Institute of Chemistry and Biochemistry,
Semmelweis University of Medicine,
1082, Budapest, Puskin street 9.**

Telefon/Phone: 138-2755

I. A kutatások résztvevői/Research Participants

1. Részlegvezető/Department Head

Dr. Antoni Ferenc (M.D.), akadémikus/Member of the Academy
 Dr. Teplán István (Ph.D.), akadémikus/Member of the Academy

2. Akadémiai kutatók/Academic Staff

Idő/time [%]

a./ Tudományos főmunkatárs/Senior Research Fellow

Dr. Kéri György (Ph.D.), kandidátus/C.Sc. (1979-) 100

b./ Tudományos munkatársak/Research Fellows

Balogh Ágnes (1985-) 100
 Dr. Horváth Anikó (Ph.D.) (1979-1980, 1983-1985, 1989-) 100
 Dr. Mező Imre (Ph.D.) (1980-1982, 1985-) 100
 Dr. Nikolics Károly (Ph.D.) (1979-1984) 100
 Dr. Seprődi János (Ph.D.) (1979-) 100
 Dr. Soóki-Tóth Ágnes (Ph.D.) (1979-) 60
 Dr. Szőke Balázs (Ph.D.) (1980-1983, 1986-) 100
 Dr. Tenke Éva (Ph.D.) (1988-) 100
 Vadász Zsolt (1983-) 100

c./ Külső tanácsadó/Part-time Scientific Adviser

Dr. Oláh Imre (M.D.) (1985-) 60

3. Egyetemi kutatók/University Staff

a./ Adjunktus/Senior Assistant

Dr. Csuka Ildikó (Ph.D.), kandidátus/C.Sc. (1979-) 40

b./ Tudományos főmunkatárs/Senior Research Fellow

Dr. Bánfalvi Gáspár (M.D.), tud.doktora/D.Sc.
 (1982-1983, 1984-1987, 1988-) 60

4. Laboratóriumi asszisztensek /Laboratory Assistants

Dr. Bökönyi Istvánné
 Dr. Hegedűs Lászlóné
 Menczel Ottilia
 Tanai Gyuláné
 Dr. Tóvári Istvánné
 Verbényi Ágnes

II. Tudományos eredmények (1979-1989)

A peptidkémiai kutatócsoport egyik témája a tricummal jelzett peptidok előállítás, új jelzési módszerek kidolgozása volt. Hazai és külföldi kollaborációkban előállítottunk, és néhány biológiai kísérletben alkalmaztunk tricummal jelzett bradikint, Substance-P-t, vazopresszint, enkefalint, angiotenzin II-t és GnRH-t. Valamennyi esetben a korábban alkalmasnak talált "prekurzoros" tricummal jelzési eljárást használtunk (7,23,47).

A csoport fő kutatási programja peptidhormon származékok előállítása, karakterizálása és hatásmechanizmusának vizsgálata.

Ezek egyike a gonadotropin hormone-releasing hormone (GnRH). Száznál több antagonistá hatású származékát szintetizáltuk, elsősorban szilárdfázisú peptid-szintézissel, részben amerikai együttműködésben. A hatásos dózist mg-os nagyságrendről néhány ug-ra csökkentettük, és orálisan hatékony származékokat is előállítottunk. Az anyagok in vivo ovulációgátló hatását hazai kollaborációban, in vitro, hipofízis sejt kultúrában történő tesztelését laboratóriumunkban végezzük. Ezen munka eredményeként sikerült olyan hazai előállítású vegyülethez jutnunk, amely - tartós adagolás esetén - világviszonylatban is az egyik leghatékonyabb ovulációgátló (11,24,25,28,29,34,46).

Előállítottunk számos "szuperaktív" agonista származékot, amelyek ovulációt kiváltó hatásukkal a nagyüzemi állattenyésztésben jelentős termelékenységnövekedést hoztak. Előállításukra üzemeltetésre alkalmas eljárást dolgoztunk ki. Ezeket MTA szolgálati találmányként bejelentettük, valamint hazai és külföldi hasznosításukra szerződést kötöttünk a Reanallal. A bejelentés szabadalmi oltalmat kapott, a szabadalom tárgyát képező egyik analógot "OVURELIN" néven a Reanal forgalomba hozta (Szab.1).

Szerkezetiileg újszerű szuperaktív agonista származékokat is előállítottunk. A GnRH származékokban -(béta) hatásfokozó 6.pozíciójú D-aminosav helyett L-béta-aszpartil szubsztitúciót alkalmazva, rendkívül hatékony vegyületcsaládot szintetizáltunk. Két találmányi bejelentés született (Szab.10,11), egyikük már szabadalmi védeltséget nyert, melynek hasznosítási joga a Kőbányai Gyógyszerárúgyáré. Ezen vegyületek hatásmechanizmusát jelenleg is vizsgáljuk, e célból elkészítettük az egyik analóg tricummal jelzett származékát (42,43,49,50).

Az említett szuperaktív vegyületek különböző gazdasági használatok (szarvasmarha, sertés, prémállatok, szárnyasok) szaporításában kerültek alkalmazásra, amit kollaboráló intézmények végeztek. Az egyik együttműködés eredményeként ugyancsak találmányi bejelentés született (Szab.9).

A GnRH 6-os helyzetében elvégzett aromás aminokarbonsav szubsztitúció egy másik originális biológiailag aktív vegyületcsalád előállítását eredményezte, ezt MTA szolgálati találmányként bejelentettük (Szab.5).

Fajspecifikus szuperaktív GnRH analógjainkkal megoldottuk igen értékes halfajták szezonon kívüli szaporítását (12,17). Ezen származékokat és alkalmazásukat ugyancsak szabadalmi bejelentéssel védjük (Szab.2,3), mindkét bejelentés szabadalmi védeltséget kapott. A leghatékonyabbnak bizonyult analóg a Folligén márka-nevet kapta. Alkalmas szexuálisan éretlen állatokban a follikulus-érés stimulálására, illetve szexuális rendellenességek kezelésére (21). Emlős állatokon való alkalmazása ugyancsak szabadalmat nyert (Szab.4). Sikeresen alkalmaztuk a Folligént in vivo és in vitro, hormon-dependens tumorok kezelésére is a Tenovus Cancer Research Institute-al közös vizsgálatok során. Ezekből az eredményekből is szabadalmi bejelentés született (Szab.6).

Vizsgáltuk a GnRH és különböző származékal in vitro és in vivo hatásának összehasonlítását (15,38,41), valamint hipofízisotrop hatásának mechanizmusait (16). Megállapítottuk, hogy a hipofízis GnRH analógokkal történő tartós kezelése deszenzitizálja a

sejteket a további stimulálással szemben, míg rövid idejű kezelés szenzitivitást vált ki (19,20,36). Korábbi feltevésekkel szemben megállapítottuk, hogy az intakt hipofízis sejtek nem bontják le a hormont (6,18,33,35).

A fotoaffinitás jelzés technikáját alkalmazva olyan GnRH-analógot állítottunk elő, amely fotoaktíválást követően kovalensen kapcsolódik a receptorhoz, ugyanakkor a sejtéből maximális LH-fel szabadulást okoz. Ily módon ez a vegyület alkalmas a receptor lokalizálására, és esetleges izolálására (32,37). Az adrenokortikotrop hormonnal is hasonló vizsgálatokat folytattunk (22).

1984-ben elkezdtük a GH (növekedési hormon) elválasztását befolyásoló peptidok szintézisét, a szerkezet-biológiai hatás összefüggésének kutatása céljából. Távolati célul a hústermelőképesség fokozását, illetve daganatellenes szereket kifejlesztését tűztük ki. A kutatás keretében több, biológiai aktív Growth Hormone Releasing Factor (GRF) és Somatostatin analógot állítottunk elő (27,30,31, Szab.7, Szab.8).

1984-ben kezdtünk el foglalkozni a tumorsejtek szignál transzdukciós mechanizmusainak vizsgálatával, ill. a különböző általunk kifejlesztett antitumor aktivitású peptidok hatásmechanizmusainak vizsgálatával. Szintetikus peptidsubstrát alkalmazásával mérjük a tirozinkináz és a proteinkináz C enzim aktivitását. Beállítottuk a foszfolipid lebontását, valamint az inozitol foszfátok mérésének módszerét is. Ezen technikák felhasználásával az előállított peptidok antitumor aktivitása és szignáltranszdukciót gátló képessége karakterizálható. Az anyagok antitumor aktivitását nemzetközli együttműködések keretében is vizsgáljuk (14, Szab.6).

Antoni professzor által vezetett kutatásaink egyik témája a száj- és körömfájás vírus szintetikus peptid-antigénjének előállítása. Immunológiai vizsgálatokat tengerimalacokon és egereken végeztük. Az általunk előállított peptid fragmentumokról kiderült, hogy azok specifikus ellenanyag-termelésre alkalmasak. Az ellenanyagszint meghatározásán felül, állatainkat virulens SZKF vírus nyelvhámba oltásával fertőztük. Sajnos az ilyen közvetlen fertőzéssel szemben egyelőre nem sikerült védelmet elérni (4).

Az a megfigyelésünk, hogy az emetin kezelés befolyásolja a makromolekuláris funkciókat és az immunválaszt (1,2,3,10,13,26) egy in vivo immunosuppresszív és aktiváló modell kifejlesztéséhez vezetett. Egerek emetin kezelése a makromolekulák szintézisének jelentékeny gátlását okozta a timuszban, ezt néhány nap után egy aktiválási időszak követte, annak jeleként, hogy az immun-suppresszió és aktiválás időben elkülöníthető, így eszközként szolgálhat az egér-timusz sejtösszetételének szabályozásában. Ez a jelenség felfogható egy in vivo AIDS modellnek és egy lehetséges eszközként a kilökődési reakció vizsgálatához. Egerek emetin kezelése után timocitákban először az RNS szintézis gátlása következett be, ezt a DNS szintézis gátlása követte. Jelentékeny késedelem mutatkozott a fehérje bioszintézis idejét illetően. Érdemes megemlíteni a poly-ADP-ribóz bioszintézis (44) gátlásának időpontját, mely megelőzte az RNS szintézis gátlását emetin kezelt egerekben (45). A timusz sejtállományának morfológiai változását is követtük (2,39).

Fontos eredményre vezetett Faragó Anna professzornő témája a protein kináz C enzim tanulmányozása során, mely az általa vezetett munkacsoport és a peptidkémiai kutatócsoport kooperációjában jött létre.

A Ca^{2+} /foszfolipid-dependens proteinkináz (protein kináz C) jelentős szerepe van az extracelluláris jelre adott sejtválasz kiváltásában. Az enzim limitált proteolízissel képződő, katalitikusan aktív fragmentuma szubsztárspecifikitásának analízise alapján előállítottunk egy szintetikus nonapeptidet, amely a proteinkináz C szelektív szubsztarája. E szintetikus szubsztrát segítségével adatokat nyertünk a proteinkináz C mennyiségéről, subcelluláris megoszlásáról és limitált proteolíziséről különböző sejtekben. Sikerült kimutatnunk egy eddig le nem írt izoenzim komponensét patkány agyban, és megfigyeltük az enzimnek egy foszfolipid-dependens, de Ca^{2+} -al gátlható változatát is (8,9,40).

Research Review (1979-1989)

One of the projects of the Peptide Research Group was the production of peptides specifically labelled with tritium. In Hungarian and foreign collaboration bradykinin, substance-P, vasopressin, enkephalin, angiotensin-II and GnRH were produced and used in some biological experiments. In all experiments the precursor-based labelling method with tritium was applied (7,23,47).

The main project of this group was the production and characterization of peptide hormone derivatives as well as the analysis of their mechanism of action.

One of these hormones is the gonadotropin releasing hormone (GnRH). Over 100 antagonistic analogs have been synthesized, mainly by solid phase peptide synthesis, in part in American collaboration. We managed to reduce the effective dose from the mg to a few μ g scale and to produce some derivatives also effective orally. The testing of the *in vivo* ovulation-inhibiting effect of these materials was performed in Hungarian collaboration, while the *in vitro* testing in pituitary cell culture was made in our laboratory. As a result of this work we produced a compound, which is world-wide one of the most effective drug to inhibit ovulation on long-term administration (11,24,25,28,29,34,46).

A number of "superactive" agonistic derivatives was also produced which, owing to their ovulation inducing effect, greatly enhanced the productivity of large-scale animal husbandry. We have invented a new method for mass production of these derivatives. Both the products and their production technologies are under the protection of a pending Hungarian Academy of Sciences in-house patent, and a contract has been also signed with Reanal for their use in and outside Hungary. Our application gained a protection of patent, and one of the patented analogues was marketed by Reanal under the name "OVURELIN" (Pat.1).

Superactive agonistic derivatives of GnRH with entirely new structural features were also produced by the application of L-beta-aspartyl substitution instead of an efficiency-increasing D-amino acid substitution in position 6. These compounds were protected by two patents (Pat.10,11) and one of them had gained a protection of patent, and the right for its exploitation was transferred to "Kőbányai" (G.Richter) Pharmaceutical Co. The examination of the mechanism of action of these compounds is still in progress. For this purpose we have synthesized a tritium-labelled derivative (42,43,49,50).

The superactive compounds referred to above were used for the breeding of different sorts of animals (cattle, pig, fur animals, poultry), in collaboration with other institutions. As a result of one of the collaborations another application for patent took place (Pat.9).

An aromatic amino-carboxylic acid substitution in position 6 in GnRH resulted in the production of another original biologically active family of compounds. Protection of these products by a Hungarian Academy of Sciences in-house patent has been applied for (Pat.5).

Using the species-specific superactive GnRH analogues produced, we solved the problem of out of season propagation of valuable fishes (12,17). These derivatives and the way of their application were patented (Pat.2,3). The most effective analog was given the trade-name Folligen. This drug is able to stimulate follicular maturation and to cure sexual disorders (21). Its application to mammals was also patented (Pat.4). Folligen proved to be efficient for the treatment of *in vivo* and *in vitro* hormone-dependent tumors, partly in collaboration with the Tenovus Cancer Research Institute. These results were also patented (Pat.6).

Comparative examination of the *in vivo* and *in vitro* effects of the GnRH and its different analogs was performed (15,38,41). Their hypophysiotrophic effects were also studied (16). It was found that the prolonged treatment of the pituitary gland with GnRH analogues desensitized the cells to further stimulation, while short application produced sensitization (19,20,36). In contrast to the former hypotheses we concluded that the intact pituitary cells do not metabolize the hormone (6,18,33,35).

By using a photoaffinity labelling technique there was produced a photoreactive GnRH analogue which, after photoactivation, binds covalently to the receptor and at the same time elicits a maximum LH-release from the cells. Consequently this compound seems to be appropriate for the localization and isolation of the receptor (32,37). Similar examinations were performed on binding of the adrenocorticotrop hormone to the adrenal gland (22).

In 1984 we started a programme aimed at synthesising peptides influencing the release of growth hormone (GH) in order to study structure-activity relationships. The ultimate goal of this work is to increase the meat production and to develop anti-tumor drugs. In the scope of this programme, several biologically active analogues of growth hormone releasing factor (GRF) and somatostatin were produced (27,30,31, Pat.7, Pat.8).

In 1984 we started to examine the signal transduction mechanisms of tumor cells and the mechanisms of action of the different peptides of anti-tumor activity developed in this laboratory. We measured the activity of the enzymes tyrosine kinase and protein kinase C using a synthetic peptide substrate, and developed a method for measuring phospholipid metabolism and for quantitating inositol phosphates. With these methods the anti-tumor activity of these peptides and their influence on signal transduction can be characterized. The anti-tumor activity of these substances is also examined in foreign collaborations (14, Pat.6).

One of the projects, supervised by Professor Antoni, is aimed at developing a synthetic peptide antigen of foot-and-mouth disease virus. Immunological tests were carried out in guinea-pigs and mice. The 11 peptide fragments synthesized in this laboratory were found to be suitable for producing specific antibodies. Following determination of the antibody level the animals were infected intralingually with virulent foot-and-mouth disease virus. Unfortunately, the vaccines failed to produce immunity against infection (4).

The observation that emetine affects the macromolecular function and the response of the immune system to extracellular signals (1,2,3,10,13,26) led to the development of a model for in vivo immunosuppression and activation. Emetine treatment of mice caused severe inhibition of macromolecular synthesis in the thymus for a few days followed by an activation period. This shows that immunosuppression and activation are separated temporally. This may represent a means for regulation of the cell composition of the murine thymus. This in vivo system may be used to study AIDS and the tissue rejection reaction in animal model in vivo. After emetine treatment of mice, RNA synthesis in thymocytes was inhibited first, followed by the inhibition of DNA synthesis. Delayed protein synthesis was also observed. It is of mention, that inhibition of poly-ADP-ribose biosynthesis (44) preceded the inhibition of RNA synthesis in thymocytes after emetine treatment of mice (45). The change of cell composition of the thymus was documented morphologically (2,39).

The project of Professor Anna Faragó for the examination of the protein kinase C enzyme led to rather remarkable results which was carried out by the co-operation of her research group and the research group of peptide chemistry.

The Ca^{2+} /phospholipid-dependent protein kinase (protein kinase C) plays an important role in inducing the cell-response to the extracellular signals. On the basis of the analysis of substrate-specificity of the catalytically active fragment of protein kinase C produced by limited proteolysis, a synthetic nonapeptide was produced, which is a selective substrate for protein kinase C. This synthetic peptide-substrate was used to assess the amount, and the subcellular distribution of protein kinase C in different cells. We managed to trace a hitherto unidentified isoenzyme component in the brain of rats, and observed a phospholipid-dependent variant of the enzyme, that can be inhibited by Ca^{2+} (8,9,40).

Irodalmi hivatkozások/List of References

1. Antoni, F., A. Hrabák, I. Csuka: Effect of emetine and chloroquine on phagocytic processes of rat macrophages. *Biochem.Pharmacol.*, 35, 2869-2874, 1986.

2. Antoni, F., N.N. Luat, I. Csuka, I. Oláh, A. Soóki-Tóth, G. Bánfalvi: The immunosuppressive effect of acute dose of emetine on murine thymic cells. *Int.J.Immunopharm.*, 9, 333-340, 1987.
3. Antoni, F., F. Péterffy, M. Puskás: In vitro synthesis of macromolecules in colostrum cells. *Ann.Immunol.Hung.*, 23, 1980.
4. Antoni, F., T. Soós, J. Varga, I. Mécs, L. Buday, J. Sepródi: Experiences on the efficacy of experimental synthetic peptide vaccines against foot and mouth disease. *J. Hung.Vet.Sci.*, 43, 561-566, 1988.
5. Bánfalvi, G., K. Szyfter, F. Antoni: Analysis of the 5'-ends of short DNA fragments excreted by phytohemagglutinin- stimulated lymphocytes. *Biochem.Biophys.Res.Comm.*, 118, 14-146, 1984.
6. Berger, H., K. Nikolics, B. Szöke, B. Mehlis: Proteolytic degradation of GnRH by rat ovarian fractions in vitro. *Peptides*, 4, 821-826, 1983.
7. Bienert, M., E. Klausenz, K. Nikolics, H. Niedrich: Protection of methionine in peptides during iodination by sulfonium salt formation. *Int.J.Peptide Prot.Res.*, 19, 310-314, 1982.
8. Budai, L., J. Sepródi, Gy. Farkas, Gy. Mészáros, T. Romhányi, G. Bánhegyi, J. Mandl, F. Antoni and A. Faragó: Proteolytic activation of protein kinase C in the extracts of cells treated for a short time with phorbol ester. *FEBS Lett.*, 223, 15-19, 1987.
9. Budai, L., Gy. Mészáros, Gy. Farkas, J. Sepródi, F. Antoni and A. Faragó: Two components of type III protein kinase C with different substrate specificities and a phospholipid-dependent but Ca^{2+} -inhibited protein kinase C in rat brain. *FEBS Lett.*, 249, 324-328, 1989.
10. Csuka, I., F. Antoni: The effect of emetine on the immune response of mice. *Biochem.Pharmacol.*, 33, 2061-2063, 1984.
11. Érchevyi, J., D.H. Coy, M.V. Nekola, E.J. Coy, A.V. Schally, I. Mező, I. Teplán: Luteinizing hormone-releasing hormone analogs with increased anti-ovulatory activity. *Biochem.Biophys.Res.Comm.*, 100, 915-920, 1981.
12. Horváth, A., Gy. Kéri, T. Gulyás, S. Vigh, K. Nikolics, I. Teplán: Comparison of in vitro and in vivo effects of different species-specific GnRH and their analogs. *Biochem.Biophys.Res.Comm.*, 138, 419-426, 1986.
13. Hrabák, A., M.T. Szabó, F. Antoni: Characteristic biochemical differences in human T and B lymphocytes separated on nylon wool. *Int.J.Biochem.*, 17, 113-117, 1985.
14. Kéri, Gy., A. Balogh, I. Teplán, O. Csuka: Comparison of tyrosine kinase activity with the proliferation rate in human colon solid tumors and tumor cell lines. *Tumor Biol.*, 9, 315-322, 1988.
15. Kéri Gy., A. Horváth, I. Teplán, J. Molnár: Comparison of GnRH induced LH and FSH release in cultured pituitary cells. In: *Peptides in the Nervous System*. Ed. by M. Bienert and P. Oehme, Academy der Wissenschaftler der DDR, Berlin, 1984. pp. 289-293.
16. Kéri Gy., A. Horváth, K. Nikolics, I. Teplán: The central role of GnRH in the regulation of reproductive functions: mechanism of action and practical results. *J. Steroid Biochem.*, 23, 719-723, 1985.

17. Kéri Gy., A. Horváth, T. Gulyás, I. Teplán: Characterization of novel species-specific GnRH analogs which can be used for the induced artificial propagation of fishes. In: Peptides 1986 Ed. by D. Theodoropoulos, Walter de Gruyter and Co., Berlin, New York, 1987. pp. 513-516.
18. Kéri Gy., B. Szőke, K. Nikolics, A. Horváth, I. Teplán, J. Molnár, A. Gyévai: GnRH-secreting cultured fetal hypothalamic cells do not degrade GnRH. *Biochem.Biophys.Res.Comm.*, 124, 87-89, 1984.
19. Kéri Gy., K. Nikolics, I. Teplán, J. Molnár: Desensitization of Luteinizing Hormone release in cultured pituitary cells by Gonadotropin-Releasing Hormone. *Mol. Cell. Endocrinol.*, 3, 109-120, 1983.
20. Kéri Gy., K. Nikolics, I. Teplán: Desensitization of Luteinizing-Hormone release by Gonadotropin-Releasing Hormone in vitro. In: *Neuropeptides, Neurotransmitters and Regulation of Endocrine Processes*. Eds: Endrőcz E., L. Angelucci, U. Scapagnini, D. De Wied, Akadémiai Kiadó, Budapest, 1983. pp. 209-216.
21. Kéri Gy., T. Gulyás, A. Horváth, Gy. Bökönyi, B. Szőke, Zs. Vadász, I. Teplán: Large-scale synthesis and characterization of a novel GnRH analog which stimulate folliculogenesis and spermatogenesis in various fishes and mammals. *Peptides*, 1988. Ed. by Walter de Gruyter and Co., Berlin, New York, 1989. pp. 655-657.
22. Kéri Gy., V. Parameswaran, J. Ramachandran, P.H. Trunkey: Effect of septic shock plasma on cultured adrenocortical cells. *Life Sci.*, 28, 1917-1923, 1981.
23. Klauschenz E., M. Bienert, U. Pleiss, Niedrich, K. Nikolics: Tritium-labeling of GnRH in its proline and histidine residues. *Peptides*, 2, 445-452, 1981.
24. Kovács, M., I. Mező, B. Flerkó, I. Teplán, K. Nikolics: Long-term inhibition of ovulation by a GnRH antagonist at low dose level. *Biochem.Biophys.Res.Comm.*, 118, 351-355, 1984.
25. Kovács M., I. Mező, J. Seprődi, V. Csernus, I. Teplán and B. Flerko: Effects of long-term administration of a superactive agonistic and antagonistic GnRH analog on the pituitary-gonad system. *Peptides*, 1, 925-931, 1989.
26. Luat N. N., G. Bánfalvi, I. Oláh, F. Antoni: In vitro effect of emetine and chloroquine on macromolecular biosynthesis in murine thymus cells. *Acta Biochem, Biophys.*, 22, 75-83, 1987.
27. Majer Zs., M. Zewdu, M. Hollósi, J. Seprődi, Zs. Vadász, I. Teplán: Solid phase synthesis of a GHRP analog containing C-terminal thioamide group. *Biochem.Biophys.Res.Comm.*, 150, 1017-1020, 1988.
28. Mező I., J. Seprődi, I. Teplán, D.H. Coy, A.V. Schally: Design and synthesis of inhibitory analogues of LHRH with increased antioovulatory potency. In: *Drugs.Biochem.Metab.* Eds. I. Klebovich, I. Laszlovszky, B. Rosdy, Akadémiai Kiadó, Budapest, 1981. pp.1-4.
29. Mező I., J. Seprődi, J. Ércshegyi, I. Teplán, M. Kovács, B. Flerkó: The role of N-acyl groups in the inhibitory activity of LHRH analogues. *Peptides*, 4, 149-151, 1983.
30. Mező I., B. Szőke, Zs. Vadász, I. Teplán, G.B. Makara, M. Kovács, J. Horváth, B. Flerkó: Synthesis of a novel GRF analog. In: *Peptides 1988*. Ed. G. Jung and E. Bayer, Walter de Gruyter and Co., Berlin, 1989. pp. 604-606.

31. Mező, I., J. Érchegeyi, J.A. Seprődi, Zs. Vadász, B. Szőke, I. Teplán, G.B. Makara, S. Vigh, J. Horváth, B. Flerkő: Peptides stimulating Growth Hormone (GH)-release. In: Peptides, Eds. B. Penke and A. Török, Walter de Gruyter and Co., 1988. pp. 377-383.
32. Nikolics K., A. Horváth, I. Teplán, J. Ramachandran: Photoreactive antagonistic analogues of GnRH. In: Peptides 1984. Proc. 18th Eur. Peptide Symp. Ed. U.Ragnarsson, Walter de Gruyter, Berlin, New York, 1984. pp. 411-415.
33. Nikolics K., B. Szőke, Gy. Kéri, I. Teplán: Gonadotropin Releasing Hormone (GnRH) is not degraded by intact pituitary tissue in vitro. *Biochem.Biophys.Res.Comm.*, 114, 10-28-1035, 1983.
34. Nikolics K., C. Bieglmayer, J. Spona, J. Seprődi, I. Teplán: Inhibition of LH release by synthetic analogues of LHRH in rat pituitary cell culture. *Peptides*, 2, 65-73, 1981.
35. Nikolics K., Gy. Kéri, B. Szőke, A. Horváth, I. Teplán: Biodegradation of LHRH. In: *Hormonally Active Brain Peptides: Structure and Function*. Ed. K.W. McKerns, Plenum Press, New York, 1982. pp.426-443.
36. Nikolics K., Gy. Kéri, I. Teplán: Gonadotropin-induced desensitization of LH release in cultured rat pituitary cells. *Biol.Cell*, 45, 449, 1982.
37. Nikolics K., I. Teplán, J. Ramachandran: Preparation and characterization of photoreactive derivatives of GnRH: persistent activation of function by photoaffinity labeling. *Int.J. Peptide Prot.Res.*, 24, 430-436, 1984.
38. Nikolics K., J. Spona: In vitro LH release and cAMP accumulation induced by synthetic GnRH derivatives. *Peptides*, 5, 1001-1006, 1984.
39. Oláh, I., F. Antoni, G. Bánfalvi, I. Csuka, N.N. Luat, I. Törő: Structural changes in the mouse thymus and lymph node after emetine treatment. *J.Develop.Comp.Immunol.*, 12, 385-395, 1988.
40. Romhányi T., J. Seprődi, F. Antoni, Gy. Mészáros, L. Budaiand, A. Faragó: The assay of activity of protein kinase C with the synthetic nonapeptide substrate designed for histone kinase II. *Biochim.Biophys. Acta* 888, 325-331, 1986.
41. Seprődi J., A. Horváth, K. Nikolics, I. Teplán, I. Mező: Synthesis and characterization of oligomeric LHRH analogues of a new type. In: *Peptides 1980, Proc. 16th Eur. Peptides Symp.*, Ed. K. Brunfelt, Scriptor, ApS, Copenhagen, 1981. pp. 591-597.
42. Seprődi J., J. Érchegeyi, Zs. Vadász, I. Teplán: Novel GnRH agonists containing L-beta-aspartic acid derivatives in position six. In: *Peptides 1986*. Ed. D. Theodoropoulos, Walter de Gruyter, Berlin, 1987. pp. 509-512.
43. Seprődi J., J. Érchegeyi, Zs. Vadász, I. Teplán, I. Mező, B. Kanyicska, M. Kovács, S. Vigh: Potent GnRH agonists containing L-amino acid derivatives in the six position. *Biochem.Biophys.Res.Comm.*, 144, 1214-1221, 1987.
44. Soóki-Tóth A., S. Csuzi, H. Altman, F. Antoni, G. Bánfalvi: Poly(ADP-ribose) and replicative DNA synthesis studied in permeable mouse thymocytes. *Acta Biochem.Biophys.*, 21, 313-325, 1986.

45. Soóki-Tóth A., G. Bánfalvi, J. Szöllösi, E. Kristen, M. Staub, F. Antoni, E. Kun.: Cellular regulation of ADP-ribosylation of proteins. III. Selective augmentation of in vitro ADP-ribosylation of histon H3 in murine thymic cells after in vivo emetine treatment. *Exp.Cell Res.*, 184, 44-52, 1989.
46. Spona J., A. Muntz, K. Nikolics, I. Teplán: Action of inhibitory LHRH analogues in rat pituitary and luteal cell cultures. *Endocrinol.Exp.*, 18, 101-108, 1984.
47. Teplán I., I. Mező, K. Nikolics, J. Seprődi, Gy. Kéri, M. Bienert, E. Klausenz: Tritium labeling of brain peptides. In: *Hormonally active brain peptides: structure and function*. Ed. K.W. McKerns, Plenum Press, New York, 1982. pp. 599-624.
48. Teplán I., K. Nikolics, J. Seprődi: New possibilities for the control of ovulation by GnRH. In: *Biomedical significance of peptide research*. Eds. F. László and F. Antoni, Akadémiai Kiadó, 1984. pp. 155-166.
49. Vadász Zs., J. Seprődi, J. Érchegyi, I. Teplán, I. Schön: RP-HPLC detection of epimerization during the synthesis and hidrolisis of aminosuccinyl peptides. In: *Peptides 1988*, Ed. G. Jung and E. Bayer, Walter de Gruyter, Berlin, 1989. pp. 40-42.
50. Vadász Zs., J. Seprődi, J. Érchegyi, I. Teplán, I. Schön: RP-HPLC monitoring of transpeptidation reactions in analogues of gonadotropin-releasing hormone-containing aspartic acid derivatives in position six. *J.Chromatogr.*, 477, 377-385, 1989.

III. A szövegben hivatkozott szabadalmak/Patents referred to in the text

1. Antoni F., J. Érchegyi, A. Horváth, Gy. Kéri, I. Mező, K. Nikolics, J. Seprődi, A. Széll, B. Szőke, I. Teplán: New gonadoliberin derivatives and a procedure for the preparation thereof. Pat. No.: 1692/82, Cat. No.: 185.535, US Pat. No.: 4.552.864, 1982.
2. Gulyás T., A. Horváth, Gy. Kéri, K. Nikolics, B. Szőke, I. Teplán. A procedure for obtaining ready-for-fertilization sexual products from sexually mature fish. Pat. No.: 4457/83, Cat. No.: 189.394, US Pat. No.: 4.647.552, 1983.
3. Gulyás T., A. Horváth, Gy. Kéri, K. Nikolics, B. Szőke, I. Teplán. New gonadoliberin derivatives and process for the preparation thereof. Pat. No.: 4458/83, Cat. No.: 190.207, US Pat. No.: 4.647.553, 1983.
4. Gulyás T., A. Horváth, Gy. Kéri, I. Teplán, Cs. Bánházi, Z. Gráf, E. Kovács. A process for obtaining sexual products from mammals suitable for natural or artificial fertilization. Pat. No.: 2763/85, Cat. No.: 194.913, US Pat. No.: 886.618, 1985.
5. Horváth A., Gy. Kéri, T. Gulyás, I. Teplán, Gy. Bökönyi, S. Vigh. A process for the preparation of new gonadoliberin derivatives containing aromatic amino carboxylic acids in position 6. Pat. No.: 16/86 issued in the US, 1986.
6. Kéri Gy., R.I. Nicholson, I. Teplán, T. Gulyás, A. Horváth, I. Bökönyi, B. Szőke, O. Csuka, A. Balogh. Application of new gonadoliberin derivatives in the treatment of several benign and malignant tumors and clinical conditions. *Hung.Appl.* 2347/88, 1988.

7. Kovács M., J. Horváth, S. Vigh, I. Mező, I. Teplán, B. Szőke, J. Seprődi, Zs. Vadász, E. Hegedűs, G. Makara, Gy. Rappay. Eljárás növekedési hormon elválasztását serkentő hormon (GRF) új analógjainak előállítására. (A procedure for the production of new GRF analogues). Pat. No.: 4498/88, 1988.

8. Kovács M., J. Horváth, S. Vigh, I. Mező, I. Teplán, B. Szőke, J. Seprődi, Zs. Vadász, E. Hegedűs, G. Makara, Gy. Rappay. Eljárás növekedési hormon elválasztását serkentő hormon (GRF) új analógjainak előállítására. (A procedure for the production of new GRF analogues). Pat. No.: 3660/89, 1989.

9. Péczely P., J. Seprődi, I. Györfvári, I. Teplán, T. Muray, J. Érchegyi, Zs. Vadász. An improved process for increasing the sexual activity of birds and useful domestic mammals and for preparing spermatozoa to their propagation. Pat. No.: 1405/85. US Pat. No.: 852.217, 1985.

10. Seprődi J., I. Teplán, I. Schön, J. Érchegyi, Gy. Nyéki, T. Szirtes, A. Selmeczi, Zs. Vadász, B. Kanyicska. Gonadoliberin analogues of high activity. Pat. No.: 4070/85. Cat. No.: 194.280. US Pat. No.: 921.770, 1985.

11. Seprődi J., I. Teplán, I. Mező, J. Érchegyi. Eljárás béta-aszpartil csoportot tartalmazó GnRH származékok előállítására. (A procedure for the production of beta-aspartyl group-containing GnRH derivatives). Pat. No.: 187.508/85, 1985.

A szövegben nem szereplő szabadalmak/Patents not referred to in the text

1. Antoni F., J. Engler. Production of 2-amino-sulfonic acid and its N-acyl derivatives of 6-22 carbon atoms. Pat.No.:187.240, 1983.

2. Antoni F., J. Engler. A method to produce D-fructose of high purity containing more than 95% fructose. Pat. No.: 2251-734/86/4, 1986.

IV. Nemzetközi kapcsolatok/International Connections

1. New Orleans-I Tulan Egyetem Dr. Schally vezette peptidkémiai munkacsoportja. (Department of Peptide Chemistry, Tulan University, New Orleans)

Az együttműködésnek két fő iránya volt. Az egyik Gonadotropin Hormone Releasing Hormon antagonisták tervezése, előállítása és biológiai vizsgálata, a másik, újabb téma Growth Hormone- Releasing Hormone III. Szomatostatlin agonisták tervezése és szintézise. (Design, synthetic production and biological characterization of GnRH, GRH and somatostatin analogues). (1979-cont.)

2. TA Institut für Wirkstoffforschung, NDK/GDR

Az együttműködés témája kezdetben tríciummal jelzett peptidok szintézise volt, ezt később a szilárd fázisú peptidszintézis váltotta fel. (Synthesis of tritium-labeled peptides and solid-phase synthesis of peptides) (1979-cont.)

3. Hormone Research Laboratory, University of San Francisco

Az MTA és az NSF közötti egyezmény alapján folyó együttműködés amerikai partner Intézete, Prof. J. Ramachandran munkacsoportja.

A kutatómunka a hormon receptorok, a hormon szenzitivizáció és deszenzitivizáció tanulmányozására irányult. (Studies on hormonal receptors, sensitisation and desensitisation) (1984-1987)

4. Tenovus Institute for Cancer Research, UK.

Az együttműködés új, tumor-növekedést gátló peptidnek gonadális tumorokon történő tesztelésén és ezen anyagok hatásmechanizmusának a tanulmányozásán alapszik. A vizsgálatok eredményeként közös szabadalmi bejelentés is született. (Biological testing of new synthetic peptides with antitumor activity on gonadal carcinomas; investigation of the mechanism of action of these peptides.) (1987-cont.)

8.

PSZIHONEUROFARMAKOLÓGIAI RÉSZLEG

**Cím: Semmelweis OTE,
Gyógyszertani Intézet**

1089, Budapest, Nagyvárad tér 4.

DEPARTMENT OF PSYCHONEUROPHARMACOLOGY

**Address: Institute of Pharmacology,
Semmelweis University of Medicine,
1089, Budapest, Nagyvárad square 4.**

Telefon/Phone: 113-7070, 113-4880

I. A kutatások résztvevői/Research Participants

1. Részlegvezető/Department Head

Dr.Knoll József (M.D.), akadémikus/Member of the Academy

2. Akadémiai kutatók/Academic Staff

Idő/time [%]

a./ Tudományos tanácsadó/Scientific Adviser

Dr.Knoll Berta (Ph.D.), tud.doktora/D.Sc. (1979-) 80

b./ Tudományos főmunkatársak/Senior Reserach Fellows

Dr.Markó Imréné (Ph.D.), kandidátus/C.Sc. (1979-) 80

Dr.Nagy János (Ph.D.) (1979-) 80

c./ Tudományos munkatárs/Research Fellow

Dr.Zsilla Gabriella (Ph.D.) (1979-) 80

d./ Tudományos segédmunkatárs/Junior Research Fellow

Dr.Rácz Dániel (Ph.D.) (1985-) 30

3. Egyetemi kutatók/University Staff

a./ Professzorok/Professors

Dr.Kalász Huba (Ph.D.), tud.doktora/D.Sc. (1979-) 80

Dr.Kelemen Károly (M.D.), tud.doktora/D.Sc. (1979-) 80

b./ Docensek/Associate Professors

Dr.Dalló János (M.D.), kandidátus/C.Sc. (1979-) 30

Dr.Füst Zsuzsanna (M.D.), kandidátus/C.Sc. (1979-) 30

Dr.Kecskeméti Valéria (M.D.), kandidátus/C.Sc. (1979-) 30

c./ Adjunktusok/Senior Assistants

Dr.Friedman Tamás (M.D.) (1979-) 30

Dr.Gyires Klára (M.D.), kandidátus/C.Sc. (1979-) 30

Dr.Kerecsen László (M.D.) (1979-) 30

Dr.Tímár Júlia (M.D.) (1979-) 30

d./ Tanársegédek/Assistants Idő/time [%]

Dr.Miklya Ildikó (Ph.D.) (1979-)	30
Dr.Sándor Gábor (M.D.) (1979-)	30

e/ Tudományos munkatársak/Research Fellows

Dr.Gyarmati Zsuzsa (Ph.D.) (1979-)	30
Dr.Kovács Ildikó (M.D.) (1988-)	30
Párdutz Katalin (1979-)	80
Dr.Yasar Sevil (M.D.) (1988-)	30

4. Tudományos ösztöndíjas/Full-time Ph.D. Student

Dr.Faragó István (M.D.) (1987-)	30
---------------------------------	----

5. Laboratóriumi asszisztensek és technikusok/Laboratory Assistants and Technicians

Balogh Jenő
Barna Ferencné
Busa Mihály
Birkás Andrea
Dancs Mária
Dóra Tiborné
Gulyás Antal
Kisfaludi Edit
Kovács Katalin
Lóránd Anna
Maszarovics Teréz
Paróczai Mihályné
Parina Katalin
Peszeki Mária
Savanyó László
Dr.Sipos Zoltánné
Szabó Judit
Varga Ferencné
Dr.Zombori Józsefné

6. Adminisztrátorok/Associated Staff

Kisvarga Jenőné
Dr.Konrád Ferencné
Soltiné P. Chrisula
Dr.Wachtl Istvánné

II. Tudományos eredmények (1979-1989)

A Részlegben kidolgozott gyógyszer, a deprenil, a Parkinson-kór kezelésének világszerte elfogadott és használatos eszköze lett (46). A deprenil számos országban törzskönyvezték és forgalmazzák. 1989-ben a Food and Drug Administration is elfogadta és ezzel az Egyesült Államokban törzskönyveztetett első magyar gyógyszeré vált. Az elmúlt évek vizsgálatai kiderítették, hogy a deprenil a MAO-B enzim szelektív bénítása mellett, a nigrostriatális rendszerben gátolja a dopamin újrafelvételét, jelentősen fokozza az impulzusok hatására felszabaduló dopamin mennyiségét, és növeli a szuperoxid-dismutáz aktivitását a nigrostriatális dopaminerg neuronokban (28). Ezzel összhangban, a deprenil fokozza a kísérleti állatok dopamin-függő tanulási képességét és szexuális aktivitását (39), emberben antiparkinson és antidepresszív hatással rendelkezik (1). A deprenil állatkísérletekben gátolja a tanulási és szexuális funkciók korral járó romlását. Deprenil hatására az állatok élettartama jelentősen meghosszabbodik: a két éves koruktól deprenillel kezelt hím patkányok átlagos élettartama 3,8 év volt, (a kontroll csoporté 2,8 év), a leghosszabb élettartam 4,3 év volt (az adott törzsből eddig megfigyelt maximális élettartam 3,5 év volt). Az aktivitás fokozódása és az élettartam meghosszabbodása között szoros mennyiségi korreláció mutatkozott (34-38). Mindez arra utal, hogy egyrészt a genetikusan meghatározott élettartamot funkcionális faktorok (pl. a nigrostriatális dopaminerg neuronok korral járó progresszív pusztulása) korlátozzák, másrészt bizonyos funkciók (pszichés teljesítmény, hangulat, szexuális aktivitás, mozgáskordináció) korral járó hanyatlása gyógyszeresen gátolható, illetve késleltethető.

Az érfal enkefalinokra érzékeny, de opioid antagonistákkal nem bénítható peptiderg értágító receptorainak felfedezése és e receptorok endogén ligandumainak keresése indította el az angliohipotenzin kutatást. Sikertült az emberi vérplazmából kromatográfias módszerekkel egy olyan, értágító és vérnyomáscsökkentő hatású peptidet ("angliohipotenzin") izolálni, mely preszinaptikus támadásponttal, szelektív módon gátolja az ideg-ingerület noradrenalin-felszabadító hatását a perifériás ellenállást fenntartó erekben, miközben az egyéb adrenerg beidegzésű szervekben (pl. szív, bronchusok, pislogóhártya, vas deferens) és a csatornafunkciót betöltő erekben (pl. a.pulmonalis) nem érinti a noradrenalin-felszabadulást. Angliohipotenzin felfedezése elvileg új utat nyithat meg a hipertónia szelektív, mellékhatásmentes gyógyszeres kezelése számára, és ahhoz a munkahipotézishez vezetett, hogy életfontosságú folyamatokban eddig ismeretlen szelektív hatású peptidok játszhatnak regulációs szerepet (18,23,41).

Ez a munkahipotézis vezetett a táplálékfelvételt szabályozó regulátor anyag kutatásához (szatletinkutatás). Már korábbi fiziológiai vizsgálataink igazolták, hogy az állatok táplálékkeresésének és fogyasztásának szabályozása az ismert faktorokkal (gyomorteltség, vércukorszint, stb.) nem magyarázható kielégítően, és e vizsgálatok a "jóllakottság" állapotát szelektív módon jelző hormon létére is utaltak. E fiziológiai módszerek és a korszerű kromatográfias elválasztási technikák kombinálásával sikerült az emberi vérplazmából előállítani egy bonyolult összetételű, aminosavakat, cukrokat és lipidet egyaránt tartalmazó (lipoglikopeptid szerkezetű) anyagot (szatletin), mely minden más perifériás és centrális funkció befolyásolása nélkül, szelektív módon és reverzibilisen gátolja az éheztetett állatok táplálékfelvételét. A szatletin olyan körülmények között is hatékonyan bizonyul (96 órán át éheztetett patkányok), amikor az ismert anorexiás hatású anyagok mindegyike hatástalan. A szatletint és a vele azonos hatású, hasonló szerkezetű, de kisebb molekulatömegű anyagot, a szatletin-D-t sikerült kémiailag és immuno-elektroforetikusan tiszta formában előállítani, és egyes komponenseit meghatározni. A szatletinek nagy biológiai aktivitása, szelektivitása és az emberi plazmában előforduló mennyisége élettani szabályozó szerepük mellett szól, az elhízott betegek egy részében immunreakcióval kimutatott szatletin-anomáliák pedig az elhízásban a szatletin regulációs-zavarok lehetőségére hívják fel a figyelmet. A szatletinek, gyógyszeré fejlesztve egy

teljességgel megoldatlan civilizációs betegségnek, az elhízásnak a terápiájában nyílnak új utakat (19,30,31,40,42).

A szívizomsejt membrán tulajdonságainak elemzése során sikerült megállapítani, hogy a cellulínok mellett (7,9), melyek mind a nátrium-, mind a kalciumkonduktanciát fokozzák, a prostaglandinok is serkentik a nátrium-csatorna aktivitását (10,11). A gyomornyálkahártyát nem károsító gyulladásgátlók (paracetamol, Probon) prosztaglandin-szerű szívelektrofiziológiai hatásal endogén prosztaglandin mobilizációval függnek össze. Felleltem, hogy a catecholaminok analóglájára, melyek a kalcium beáramlás ismert serkentőit a szívizomban, a prosztaglandinok (elsősorban a prosztaciklin) a nátriumbeáramlás endogén stimulátorai, farmakológiai eszközt találtunk a nátriumbeáramlást gátló antiaritmiás szerek szelektív preklinikai vizsgálatára és endogén kardioaktív anyagok hatásmechanizmusának tisztítására (11).

Bebizonyosodott, hogy a pirido-pirimidinek, analgetikus és antiflogisztikus hatásuk mellett, gátolják a különböző típusú nyálkahártya-károsodásokat a gyomor-bélrendszerben, míg az opiátok kettős hatással rendelkeznek, a gyomornyálkahártyát károsító tényezők hatását részben fokozzák (5,6).

Folytattuk az opioid típusú analgetikumok hatás-szerkezeti összefüggéseinek kutatását a receptor szelektivitás, ill. agonista-antagonista reláció vonatkozásában, elsősorban azzal a céllal, hogy kiküszöböljük a nem kívánatos mellékhatásokat. Megállapítottuk, hogy a morfin C-gyűrűjének 6-os pozíciója jelentős az opiát receptorhoz való kapcsolódásban. A 6-os-azid szubsztitúció, egyidejű N-CH₃ elfoglalás esetén elősegíti a mű receptorhoz való szelektív kapcsolódást, és jelentős affinitás növekedéshez vezet, míg az egyidejű N-cyclopropyl-metil szubsztitúció a kappa receptor aktivitás irányába tolja el a spektrumot. A 14-OH-szubsztitúció az agonista molekulák aktivitását nem befolyásolja jelentősen, az antagonisták típusúaknál jelentősen csökkenti az agonista, míg fokozza a mű antagonisták aktivitást. Az N-allyl származék esetén gyakorlatilag tiszta mű antagonisták profil alakul ki. A kappa típusú agonista (analgetikus) hatás kedvező a morfinszerű mellékhatások hiánya miatt, így remény van arra, hogy szisztematikus hatás szerkezeti analízisek klinikailag hasznosítható vegyületekhez is elvezetnek (2,3).

Research Review (1979-1989)

Deprenyl, a drug developed in this Department, has become an accepted drug used worldwide in the treatment of Parkinson's disease (46). Deprenyl has been registered and marketed in many countries of West and East alike. It has been accepted also by the Food and Drug Administration in 1989, thus it became the first original Hungarian drug registered in the United States. Recent studies have revealed that deprenyl, besides selectively blocking the MAO-B enzyme, inhibits dopamine reuptake in the nigrostriatal system, considerably increases the amount of dopamine released by nervous impulses and enhances superoxide dismutase activity in the nigrostriatal dopaminergic neurons (28). In accordance with this mode of action, deprenyl increases dopamine-dependent learning ability and sexual activity of experimental animals (39) and has antiparkinson and antidepressive effect in humans (1). Deprenyl, in animal experiments, prevents age-related impairment of learning and sexual activity. Deprenyl considerably prolongs the life of the animals: life time of male rats submitted to deprenyl-treatment from the 2nd year of age, was 3.8 years (that of the control group 2.8 years) and the maximum life span of the treated animals reached 4.3 years (in contrast to the maximum life span of 3.5 years ever observed in the given strain). There is a close quantitative correlation between the increase of activity and prolongation of life (34-38). All these facts indicate that functional factors (like age-related progressive damage of nigrostriatal dopaminergic neurons) may limit the genetically determined life time and that age-related impairment of certain physiological functions (like psychic performance, mood, sexual activity, motor coordination) may be inhibited or delayed by pharmacological means.

Discovery in the vascular wall of peptidergic vasodilatory receptors sensitive to enkephalins, but not blocked by opioid antagonists, and the search for endogenous ligands of these receptors gave rise to an angiohypotensin research project. A peptide ("angiohypotensin") of vasodilatory and hypotensive effect could be isolated by chromatographic methods from the human plasma. It inhibits selectively by a presynaptic site of action, the release of noradrenaline on nerve impulse in the vessels maintaining peripheral resistance without affecting noradrenaline release in other organs of adrenergic innervation (e.g. heart, bronchi, nictitating membrane, vas deferens) and in vessels of channel function (e.g. pulmonary artery). Angiohypotensin was successfully isolated by HPLC. Discovery of angiohypotensin may open new ways for the selective drug treatment of hypertension without side effects and has led to the working hypothesis that hitherto unknown selective peptides may play a regulatory role in vital functions (18,23, 41).

This working hypothesis prompted us to search for a regulatory substance of food intake (satielin research). Our earlier physiological studies have shown that regulation of feeding behavior of animals cannot be satisfactorily explained by the known factors (fullness of the stomach, blood sugar level, etc.) and indicated the existence of a hormone, selectively signaling the state of "satiety". By the combination of these physiological approaches and the up-to-date chromatographic separation techniques we have successfully isolated a substance of complicated composition containing amino acid, sugar and lipid components (a lipo-glycopeptide, named "satielin"), which selectively and reversibly inhibits food intake of the starved animals without affecting any other peripheral or central functions. Satielin proved to be effective under conditions (rats starved for 96 hours) when all known anorectic substances failed. Satielin and satielin-D, a substance of identical effect and similar structure but of lower molecular mass were successfully isolated in chemically and immunoelectrophoretically pure form and their components were identified. The high biological activity and selectivity of sателиns together with their considerable amount present in the human plasma suggest their physiological regulatory role, while satielin anomalies detected in some obese patients by immune reaction called the attention to the possible existence of pathological disorders of satielin regulation. Sателиns, once developed to drugs, may open new vistas in the therapy of obesity, a fully unsolved disease of civilization (19,30,31,40,42).

Analysis of the cardiac cell membrane revealed that in addition to cellulines increasing both sodium and calcium conductivity (7,9), also prostaglandins, stimulate the activity of the cardiac sodium channel (10,11). Prostaglandin-like effects, on cardiac electrophysiological parameters, of antiinflammatory agents which do not damage gastric mucosa (paracetamol, Probon), are due to endogenous prostaglandin mobilization. Considering that similarly to catecholamines, the well-known stimulators of calcium influx in the heart, prostaglandins (first of all prostacyclin) are the endogenous stimulators of sodium influx, a pharmacological approach has been developed for the selective preclinical study of antiarrhythmic agents, and for the elucidation of the mode of action of endogenous cardio-active substances (11).

Pyrido-pyrimidines were shown to possess, beside their analgetic and antiinflammatory effects also an inhibitory action on different types of mucosal damage in the gastrointestinal system, while opiates have a double effect, partly increasing drug-induced mucosal damage (5,6).

Particular interest was paid to the structure-activity correlations of semi-synthetic morphine derivatives, focusing our attention to the receptor selectivity, and agonist/antagonist profile of newly synthesized compounds, in order to find a possibility to eliminate the adverse actions of morphinomimetics. The results obtained showed, that in the 6-azido-group the ring C and its 6-position play an important role in the interaction of multiple opiate receptors. While the 6-azido substitution with simultaneous -N-CH₃ occupancy enhances the selectivity and affinity of compounds, the simultaneous N-cyclopropylmethyl substitution shifted the spectrum to the direction of kappa agonism. The substitution with 14-OH group failed to influence the agonist profile of mu-drugs, although enhanced the antagonist activity and reduced the agonist potency of N-allyl and N-cyclopropylmethyl derivatives, respectively. The kappa-type analgesic activity is advantageous,

because of the absence of morphine-like side effects, thus investigating these chemical modifications might lead to the finding of clinically useful analgetics (2,3).

Irodalmi hivatkozások/List of References

1. Birkmayer, W., Knoll, J., Riederer, P., Youdim, M.B.H., Hars, V., Marton, J.: Increased life expectancy resulting from addition of L-deprenyl to Madopar^R treatment in Parkinson's disease. A long-term study. *J. Neural Transm.*, 64, 113-127, 1985.
2. Fürst, S., Knoll, J.: Quantitative studies of the antagonism by naloxone and N-cyclopropylmethyl-norazido-dihydroisomorphine (CAM) on different opiates. *Pol.J.Pharmacol.Pharm.*, 34, 115-125, 1982.
3. Fürst, S., Friedmann, T., Knoll, J.: Studies on the interaction of azidomorphines with different classes of opiate receptors. In: *Regulatory role of opioid peptides*. Eds.: Illés, P., Farsang, C., VCH, 1988, pp. 358-377.
4. Gyarmati, S., Földes, J., Korányi, L., Knoll, B., Knoll, J.: The anorectic effect of satietin is unrelated to carbohydrate metabolism. *Physiol.Behav.*, 34, 167-170, 1985.
5. Gyires, K., Fürst, S., Miklya, I., Budavári, I., Knoll, J.: Analysis of the analgesic and antiinflammatory effects of rimazolium, a pyro-pyrimidine derivative, compared with that of prostaglandin synthesis inhibitors and morphine. *Drugs.Exptl.Clin.Res.*, XI, 493-500, 1985.
6. Gyires, K., Hermeicz, I., Knoll, J.: Comparison of the effect of prostaglandin synthesis inhibitors and pyrido-pyrimidine derivatives on different ulcer models. In: *New pharmacology of ulcer*. Eds.: Szabó, S., Mózsik, Gy., Elsevier, New York.
7. Kecskeméti, V.: Effect of biogenic amines, prostaglandins, celluline-A on the calcium-dependent slow depolarization mechanism of the cardiac cell membrane. In: *Neuropharmacology, 1985*. Eds.: Kelemen, K., Magyar, K., Vizi, E.S., Akadémiai Kiadó, Budapest, 1985, pp. 283-288.
8. Kecskeméti, V., Kelemen, K., Markó, R., Selmeci, L.: Modification of the cardiac transmembrane potentials and currents by polyamines. *Eur.J.Pharmacol.*, 142, 297-303, 1987.
9. Kelemen, K.: A hypothetic functional model of the cardiac cell membrane. *TIPS*, April 1981, pp. 101-104.
10. Kelemen, K., Markó, R.: The use of voltage clamp in the testing of antiarrhythmic drugs. In: *Pharmacological Protection of myocardium*. Eds.: Szekeres, L., Papp, J. Gy., Akadémiai Kiadó, Budapest, 1985, pp. 151-157.
11. Kelemen, K.: The use of voltage clamp to differentiate Ca-blockers effect in the heart. In: *Cardiovascular pharmacology 1987. Result, Concepts and Perspectives*. Ed.: Papp, J. Gy., Akadémiai Kiadó, Budapest, 1987, pp. 73-78.
12. Knoll, B.: Monoamine oxidase inhibitors (MAOIs) and food intake. In: *Monoamine Oxidase and Their Selective Inhibitors*. Ed.: Magyar, K., Akadémiai Kiadó, Budapest, 1980, pp.41-44.
13. Knoll, B., Knoll, J.: The selectivity of the anorectic effect of satietin. I. The ineffectiveness of satietin on behavioral tests. *Pol.J.Pharmacol.Pharm.*, 34, 17-23, 1982.

14. Knoll, B., Timár, J., Gyarmati, S., Held, Gy., Zsilla, G.: Brain serotonin and learning, an analysis using para-Br-methyl-amphetamine (pBrMA) as a research tool. In: *Neuropharmacology*, 1985. Eds.: Kelemen, K., Magyar, K., Vizi, E.S., Akadémiai Kiadó, Budapest, 1985, pp. 157-163.
15. Knoll, B., Timár, J., Knoll, J.: The selectivity of the anorectic effect of satietin-D. In: *Endogenous Anorectics*, Eds.: Knoll, B., Nagy, J., Timár, J., Akadémiai Kiadó, Budapest, 1986, pp. 309-315.
16. Knoll, J.: Azidomorphines: a new family of potent analgesics with low dependence capacity. *Prog. Neuro-Psychopharmacol.*, 3,95-108, 1979.
17. Knoll, J.: Angiohypotensin: a selective endogenous inhibitor of neuromuscular transmission in vascular smooth muscle. In: *Catecholamines: Basic and Clinical Frontiers*. Eds.: Usdin, E., Kopin, I.J., Barchas, J., Pergamon Press, New York, Vol. II., 1979, pp. 1152-1154.
18. Knoll, J., Gyires, K., Mészáros, Z.: 1,6-Dimethyl-4-oxo-1,6,7,8,9,9a-hexahydro-4H-pyrido-1,2,-a-pyrimidine-3-carbox-amide (Chinoin-127), a potent non-narcotic analgesic. *Arzneim. Forsch.*, 29, 1-23, 1979.
19. Knoll, J.: Satietin: a highly potent anorexogenic substance in human serum. *Physiol.Behav.*, 23, 497-502, 1979.
20. Knoll, J.: (-)Deprenyl - the MAO inhibitor without the cheese effects. *TINS*, 1, 111-113, 1979.
21. Knoll, J.: Monoamine oxidase inhibitors: chemistry and pharmacology. In: *Enzyme Inhibitors as Drugs*. Ed.: Sandler, M., The MacMillan Press, Ltd., London, 1980, pp. 151-171.
22. Knoll, J.: Highly selective peptide chalone in human serum. A concept on the control of physiological functions by blood-borne selective inhibitors of neurochemical transmission. In: *Modulation of Neurochemical Transmission*. Ed.: Vizi, E.S., Akadémiai Kiadó, Budapest, 1980, pp. 97-125.
23. Knoll, J.: The pharmacology of selective MAO inhibitors. In: *Monoamine Oxidase Inhibitors - The State of the Art*. Eds.: Youdim, M.B.H., Paykel, E.S., John Wiley and Sons, Ltd, London, 1981, pp. 45-61.
24. Knoll, J.: Further experimental support to the concept that (-)deprenyl facilitates dopaminergic neurotransmission in the brain. In: *Monoamine Oxidase. Basic and Clinical Frontiers*. Eds.: Kamijo, K., Usdin, E., Nagatsu, T., Excerpta Medica, Amsterdam, 1981, pp. 230-240.
25. Knoll, J.: Selective inhibition of B type monoamine oxidase in the brain: a drug strategy to improve the quality of life in senescence. In *Strategy of Drug Research*. Ed.: Keveling Buisman, J.A., Elsevier, Amsterdam, 1982, pp.107-135.
26. Knoll, J.: Satietin: endogenous regulation of food intake. In: *Regulatory peptides: From Molecular Biology to Function*. Eds.: Costa, E., Trabucchi, M., Raven Press, New York, 1982, pp. 501-509.
27. Knoll, J.: Anorectic agents and satietin, an endogenous inhibitor of food intake. In: *Advances in Pharmacology and Therapeutics II. Vol.1. CNS Pharmacology, Neuropeptides*. Eds.: Yoshida, H., Hagihara, Y., Ebashi, S., Pergamon Press, Oxford, New York, 1982, 147-192.
28. Knoll, J.: Deprenyl (selegiline): the history of its development and pharmacological action. *Acta Neurol.Scand. Suppl.*, 95, 57-80, 1983.

29. Knoll, J., Yen, T.T., Dalló, J.: Long-lasting, true aphrodisiac effect of (-)deprenyl in sexually sluggish male rats. *Mod.Probl.Pharmacopsychiat.*, 19, 135-153, 1983.
30. Knoll, J.: Satietin, a 50,000 dalton glycoprotein in human serum with potent, long-lasting and selective anorectic activity. *J.Neural Transm.*, 59, 163-194, 1984.
31. Knoll, J.: Satietin, a blood-borne anorectic glycoprotein, as the putative rate-limiting satiety signal in the negative feedback of food intake. *Z.Ernahrungswiss.*, 23, 85-103, 1984.
32. Knoll, J.: Anorectic agents and endogenous anorectic substances. In: *Proceedings of the Second World Conference on Clinical Pharmacology and Therapeutics*. Eds.: Lemberger, L., Reidenberg, M.M., Am.Soc. for Pharm.Exp.Ther., Bethesda, 1984, pp. 103-127.
33. Knoll, J.: Satietin, a potent and selective endogenous anorectic glycoprotein. In: *Psychopharmacology and Food*, Eds.: Sandler, M., Silverstone, T., Oxford University Press, Oxford, 1985, pp. 110-129.
34. Knoll, J.: Satietin, a blood-born glycoprotein in the regulation of food intake. In: *Endocoids*. Eds.: Lal, H., Labella, F., Lane, J., Alain R. Liss, New York, 1985, pp. 515-522.
35. Knoll, J.: The facilitation of dopaminergic activity in the aged brain by (-)deprenyl. A proposal for a strategy to improve the quality of life in senescence. *Mech. Ageing Dev.*, 30, 109-122, 1985.
36. Knoll, J.: Striatal dopamine, aging and deprenyl. In: *Dopamine, Ageing and Diseases*. Eds.: Borsy, J., Kerecsen, L., György, L., Pergamon Press, Akadémiai Kiadó, Budapest, 1986, pp.7-26.
37. Knoll, J.: The pharmacology of (-)deprenyl. *J.Neural Transm.*, Suppl., 22,75-89, 1986.
38. Knoll, J.: Role of B-type monoamine oxidase inhibition in the treatment of Parkinson's disease. An update. In: *Movement Disorders*. Eds.: Shah, N.S., Donald, A.G., Plenum Press, New York, 1986. pp. 53-81.
39. Knoll, J.: Critical Role of MAO inhibition in Parkinson's disease. *Adv.Neurol.*, 45, 107-110, 1986.
40. Knoll, J.: R-(-)Deprenyl (Selegiline, Movergan^R) facilitates the activity of the nigrostriatal dopaminergic neuron. *J. Neural Transm. Suppl.*, 25, 45-66. 1987.
41. Knoll, J.: Satietins, glycoproteins in human plasma with potent, long-lasting and selective anorectic activity. *Med.Res.Rev.*, 7, 107-144, 1987.
42. Knoll, J.: Angiohypotensin: an interpretation why peripheral resistance in essential hypertension is increased. In: *Cardiovascular Pharmacology 1987*. Ed.: Papp, J.Gy., Akadémiai Kiadó, Budapest, 1987, pp. 245-252.
43. Knoll, J.: Endogenous anorectic agents - satiетins. *Ann.Rev.Pharmacol.Toxicol.*, 28, 247-268, 1988.
44. Knoll, J.: Extension of life span of rats by long-term (-)deprenyl treatment. *Mount Sinai J.Med.*, 55, 67-74, 1988.
45. Knoll, J.: The striatal dopaminergic dependence of life span in male rats. Longevity study with (-)deprenyl. *Mech. Ageing Dev.*, 46, 237-262, 1988.

