

Sebészi gonadektómiát követő steroid hormon kezelések génexpresszióra és elektrofiziológiai sajátosságokra gyakorolt hatásának vizsgálata hipotalamikus magok azonosított idegsejt típusaiban

A kisspeptin jelátviteli útvonal emlősökben nélkülözhetetlen a nemi működésekhez. A KISS1 vagy a KISS1R génekben bekövetkező inaktíváló mutációk emberben a nemi érés elmaradását okozzák, míg az aktiváló mutációk korai serdülést válthatnak ki. A reprodukció szabályozásának központja az agyban a hipotalamusz, amely a szérumban ösztadiol koncentrációt visszacsatolási mechanizmusok révén érzékeli. Ebben a folyamatban kitüntetett szerepet játszanak a kisspeptin-termelő sejtek. A hipotalamusz két régiójában (ARC, RP3V) található kisspeptin sejtek. A két neuro-kémiaiilag különböző sejtcsoport eltérő funkciókért felelős: az ARC kisspeptin sejtek felelősek a negatív, míg az RP3V sejtek a pozitív ösztrogén visszacsatolásért. A preoptikus területen elszórtan található GnRH sejteket beidegző kisspeptin sejtek a GPR54 kisspeptin receptoron keresztül szabályozzák a GnRH pulzatilis üritését. A visszacsatolás mechanizmusát ma még csak részlegesen ismerjük.

Jelenleg nem ismert sem az ARC és RP3V kisspeptin sejtek transzkriptómja, sem annak ösztrogén általi szabályozása. A transzkriptóm, és ösztrogén függésének ismerete jelentősen hozzájárul a negatív és pozitív visszacsatolás mélyebb megértéséhez. Emellett az alkalmazott módszertan olyan új neuropeptidek és receptorok azonosítását teheti lehetővé, amelyek gyógyszer célpontul szolgálhatnak a reprodukciót érintő zavarok gyógyításában. A fluoreszcensen világító kisspeptin sejteket a két területről laser capture microdissection (LCM) módszerrel vágjuk ki. A kivágott sejtekből a génexpressziós profil RNA-seq módszerrel határozzuk meg, adatelemzésre R programcsomagokat használunk.

A projekt során felhasználni kívánt állatok faja és száma:

A reprodukció szabályozásában fontos szerepet játszó hipotalamikus magok esetében vizsgáljuk a transzkriptóm ösztrogén szabályozását. E célra vad típusú C57BL/6J egerekből évente 10 hím és 16 nőstény állatot használunk. Az egyedi sejt típusok tanulmányozására transzgenikus egereket használunk. A kisspeptin sejtekben a transzkriptóm steroid hormon függésének tanulmányozására kisspeptin-cre/zsGreen egérből 40 hím és 56 nőstény állatot használunk.

Várható ártalmak és előnyök:

A reprodukciót szabályozó hipotalamikus magokban a transzkriptóm leírása alacsony és magas ösztadiol szint esetén. A két hipotalamikus területen elhelyezkedő kisspeptin sejtcsoport génexpressziós profiljának és annak ösztrogén általi szabályozásának felderítése lehetővé teszi a neuronális kommunikációban kulcsszerepet játszó neuropeptidek, transzmitterek, és receptoraik azonosítását, amely hozzájárul a negatív és pozitív ösztrogén feedback mechanizmusának jobb megértéséhez. A két kisspeptin sejtcsoport génexpressziós profiljának összehasonlítása révén pedig a pozitív és negatív visszacsatolás mechanizmusának különbségeire világíthatunk rá. Eredményeink hozzájárulhatnak a reprodukció szabályozásának jobb megértéséhez, ezen ismeretek alapján pedig lehetséges új terápiás célpontok azonosításához a szaporodás zavarainak gyógyításában.

A helyettesítésre, csökkentésre, tökéletesítésre vonatkozó előírások teljesítésének tanúsítása:

Az egyes kísérletekhez szükséges állatszámok megállapítása során törekedtünk a minimalizálásra megfelelő statisztikai módszer alkalmazásával, illetve alapos és racionális kísérlet tervezéssel. Az állatokat a törvény által előírt módon és körülmények között tartjuk, gondozásukat és egészségügyi állapotuk monitorozását szakképzett személyzet végzi. A törvény által előírt módokon törekszünk az állatok fájdalmának, szenvedésének csökkentésére, a kíméletes végpontok alkalmazására. A kísérleteket a törvény által előírt jogosultsággal rendelkező, hozzáértő személyek végzik.