

PH.D. ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

**A GLUTAMÁTERG NEURONÁLIS RENDSZER FEJLŐDÉSE A HUMÁN MAGZATI
BÉLDEGRENSZERBEN**

LINKE NIKOLETT

**TÉMAVEZETŐK:
DR. FEKETE ÉVA
EGYETEMI TANÁR
DR. BAGYÁNSZKI MÁRIA
EGYETEMI ADJUNKTUS**

**SZEGEDI TUDOMÁNYEGYETEM
TERMÉSZETTUDOMÁNYI ÉS INFORMATIKAI KAR
ÉLETTANI, SZERVEZETTANI ÉS IDEGTUDOMÁNYI TANSZÉK**

**SZEGED
2008**

BEVEZETÉS

A bélidegrendszer (enteric nervous system, ENS) a tápcsatorna falának különböző szövettani rétegei között helyezkedik el. A nyelőcsőtől egészen a belső anális záróizomig húzódik, de megtalálható a hasnyálmirigyben, az epehólyag falában és az epevezetékben is. Az ENS az entericus neuronok és gliasejtek komplex hálózatából áll.

A ENS-t felépítő neuronok között találunk érző, motoros és interneuronokat is, melyek a bélcső falának teljes hosszában önálló reflexíveket alakítanak ki. Ezek a reflexívek szabályozzák a bélfal simaizomzatának működését, vagyis a bélperisztaltikát, a nyálkahártya váladéktermelését, a víz- és iontranszport-folyamatokat, a bélcsatorna vérátáramlását, az epehólyag és a hasnyálmirigy működését.

A bélfal minden egyes szöveti rétegének saját plexusa van. Az emlős ENS-t két nagyobb ganglionált plexus: a plexus myentericus (PM) és a plexus submucosus (PS), valamint több kisebb nem ganglionált plexus építi fel.

A perifériás idegrendszer többi részéhez hasonlóan az ENS-t alkotó neuronok és gliasejtek is a dúlcélsejtekből származnak. Az ENS-t felépítő neuronok a vagalis és a sacralis dúlcélsejtek területéről vándorolnak a bélfalba. A ganglionált plexusok kialakulása során a ganglionokat felépítő neuronok száma és területi eloszlása jelentősen megváltozik.

Az ENS-ben, hasonlóan a CNS-hez, sokféle ingerületátvivő anyag van jelen, és a klasszikus ingerületátvivő anyagok mellett, mint például a glutamát és a NO, számos peptidtermészetű anyag tölt be szabályozó szerepet. A központi idegrendszerben a glutamát elsősorban mint serkentő neurotranszmitter van jelen, de meghatározó szerepe van a központi idegrendszer fejlődésének a szabályozásában is. A glutamát-ingerületátvitel komponensei, így a glutamát, az egyes VGLUT izoformák vagy különböző glutamát receptorokat expresszáló neuronok az ENS-ben is megtalálhatók. Bizonyított az is, hogy a glutamát szerepet játszik a

helyi reflexek irányításában, az entericus neuronok működésének szabályozásában és a vago-vagalís reflexek közvetítésében is. Az entericus glutamáterg rendszer magzati fejlődéséről azonban nincsenek adataink.

CÉLKITŰZÉSEK

Az elmúlt évtizedekben sok adat gyűlt össze a ENS felépítéséről, fejlődéséről és működéséről, számos kérdés azonban még tisztázatlan. Különösen keveset tudunk az ENS neuronpopulációinak embrionális fejlődéséről, a végső neuronális fenotípus kialakulásának mechanizmusáról. A rendelkezésre álló irodalmi adatok főleg modellállatok vizsgálatából származnak. Az enterális idegrendszert felépítő plexusok morfológiája és neurokémiai sajátosságai azonban a különböző fajokban alapvető eltéréseket mutatnak. Ezért a humán bél fejlődése csak humán magzati minták vizsgálatával ismerhető meg. Ugyanakkor a humán ENS fejlődésének megismerése diagnosztikai és terápiás szempontból rendkívül fontos, hiszen számos gasztrointesztinális betegség, mint például a Hirschprung betegség szorosan összefügg az ENS fejlődésével.

Munkánk során a glutamáterg neurotranszmisszió négy, immunhisztokémiai módszerekkel vizsgálható komponensének a tér- és időbeli változását követtük fejlődő humán magzati ENS-ben. Az immunreaktív neuronális elemek tér- és időbeli változását kvantitatív és szemikvantitatív módszerekkel analizáltuk.

Vizsgálatainkat a 12-23. hétig tartó magzati periódusra koncentráltuk, és a glutamáterg rendszer fejlődését négy fő szempontból közelítettük meg:

1. Vizsgáltuk a glutamát immunreaktív neuronokat.
2. Vizsgáltuk a VGLUT immunreaktív neuronokat.
3. Vizsgáltuk a glutamát receptív myentericus neuronokat.
4. Vizsgáltuk az NMDA receptorokat tartalmazó neuronok kémiai kódját.

A feltett kérdések megválaszolásához kettős- illetve többesjelöléses immunhisztokémiai vizsgálatokat terveztünk.

ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

A kísérleteink során használt humán mintákat, melyek legális művi vagy spontán abortuszból származtak, a Szegedi Tudományegyetem (SZTE) Szülészeti és Nőgyógyászati Klinikájától kaptuk, s azokat a SZTE Általános Orvostudományi Kar Etikai Bizottságának engedélyével vizsgáltuk. Az etikai bizottság a szabályok meghozatalánál a Helsink Deklarációban rögzítetteket vette alapul.

1. A humán vizsgálati anyag előkészítése

Kísérleteink során 14, 15, 18, 20, 22, 23 hetes humán magzatok vékonybelét használtuk. A gesztációs kor meghatározását a fejtető-sarok távolság illetve az utolsó menstruáció időpontja alapján végeztük. Minden vizsgált gesztációs életkorban három magzattól vettünk mintákat. A bélcsatornát foszfát pufferben átmostuk (PB), majd 4%-os paraformaldehid oldatban egy éjszakán keresztül fixáltuk, majd a vizsgálandó bélszakaszokat izoláltuk. A kivágott vékonybélszakaszokból bélnyúzat (wholemout) preparátumokat és paraffin metszeteket készítettünk.

2. Immunhisztokémiai festések

Glutamát, VGLUT1, VGLUT2, VGLUT3, NMDA receptor alegységek, NOS, VIP, neurofilament 200 és neuronális HuC/HuD ellen termeltetett ellenanyagok felhasználásával egyszeres és többszörös immunjelöléseket alkalmaztunk a paraffinmetszeteken és a bélnyúzat preparátumokon. Az egyes jelölésekhez másodlagos szérumként biotinilált fajspecifikus szérumot, harmadlagosként pedig biotinilált sztreptavidin tormagyökér peroxidázt használtunk, majd az immunreakciót diaminobenzidin kromogén és hidrogén-peroxid szubsztrát alkalmazásával tettük láthatóvá. A kettős és többesjelölésekhez fluoreszcens

festékkel konjugáltatott fajspecifikus másodlagos szérumot használtunk. Minden inkubációs lépés szobahőmérsékleten történt. Az egyes lépések között a mintákat PB-ben mostuk. A kontrollvizsgálatokat az elsődleges illetve a másodlagos antitestek kihagyásával, a releváns fúziós kontrollfehérjék alkalmazásával is elvégeztük.

3. Mikroszkópos módszerek

A megfestett mintákat Olympus BX60 típusú mikroszkóppal vizsgáltuk és Olympus DP70 típusú digitális kamerával fényképeztük le.

A fluoreszcensen jelölt minták esetében a megfelelő szűrők és egy HBO100 W higanygőzlámpa alkalmazásával, egy Zeiss AxioCam digitális kamerával felszerelt Zeiss fluoreszcens mikroszkópot használtunk. A perikarion mérésekhez AnalySIS Pro szoftvert alkalmaztunk.

A többszörösen jelölt fluoreszcens mintákat Olympus konfokális lézer szkennig mikroszkóppal vizsgáltuk.

4. Kvantitatív és szemikvantitatív analízis

A glutamát-immunreaktív (IR) neuronokon végzett vizsgálatok során a neuronokat 400-szoros nagyításnál számoltuk, 10-10 véletlenszerűen kiválasztott látótérben. A kvantitatív vizsgálatok során minden mintából 10 digitális felvételt készítettünk, azonos méretben és felbontásban. A lefotózott területeket véletlenszerűen választottuk ki.

A VGLUT-IR neuronok sejtmagjának koordinátáit a laboratóriumunkban kifejlesztett Plexus Pattern Analysis nevű szoftverrel digitalizáltuk.

A szemikvantitatív analízisekhez a VGLUT- IR terminálisokat és varikozitásokat 15 véletlenszerűen kiválasztott ganglionban és a kiválasztott ganglionokat összekötő interganglionális rostban számoltuk meg.

5. Statisztikai analízis

A gesztációs életkor és a VGLUT-IR neuronok száma, valamint a különböző bélszakaszok és a VGLUT-IR neuronok száma közötti összefüggéseket egyfaktoros varianciaanalízissel (ANOVA) vizsgáltuk. A statisztikai analízis során a szignifikancia szintjét $P < 0,01$ és $P < 0,001$ valószínűségi értékekben határoztuk meg.

EREDMÉNYEK

1. Glutamát immunreaktív neuronok fejlődő humán bélidegrendszerben

Az anti-glutamát antitest már a 15 hetes humán magzat vékonybelében specifikusan jelölt számos myentericus és submucosus neuront. A 15 hetes humán magzat vékonybeléből készített bélnyúzat preparátumok vizsgálatával megállapítottuk, hogy a glutamát-IR myentericus neuronok nem találhatóak meg a vékonybél teljes hosszában, hanem csak néhány kitüntetett ganglionban csoportosultak. A glutamát immunreaktivitás nemcsak a sejttestet, de a neuronok nyúlványait is láthatóvá tette, s így lehetővé vált a sejtek méret és morfológia alapon történő osztályozása. Szemikvantitatív morfometriai vizsgálataink alapján a glutamát-IR neuronokat morfológiai jellegük alapján két csoportba osztottuk. Az egyik csoport, ami a glutamát-IR sejteknek mintegy 80%-át adta, nagy sejttesttel, néhány nagy, lamelláris dendrittel és egy hosszú axonnal rendelkezett. A glutamát-IR neuronok másik csoportja jóval kisebb volt, a sejtek felszíne sima, s egy hosszú nyúlvánnyal rendelkeztek. Ez a sejtípus a glutamát-IR sejteknek mintegy 20%-át adta. Az immunreaktív sejttestek mellett gyakran láttunk glutamát-IR varikózus rostokat is.

2. VGLUT immunreaktív neuronok a fejlődő humán bélidegrendszerben

A 14-23. gesztációs hét között bélnyúzat preparátumokon és paraffin metszeteken vizsgáltuk a három VGLUT (VGLUT1-3) izoforma ellen készített antitestek felhasználásával a VGLUT-IR neuronális elemeket. Kvantitatív és szemikvantitatív módszerekkel analizáltuk a

festett sejteket illetve a terminálisszerű struktúrákat. A fejlődő humán PM-ban mindhárom izoforma ellen volt immunreaktivitás, s mindhárom esetben jellegzetes életkor- és bélszakaszfüggő változásokat találtunk. A neuronális elemek mintázata és megoszlása a három izoformával történő immunfestés után lényeges különbségeket mutatott a különböző magzati életkorokban és a különböző bélszakaszokban.

A VGLUT1-IR neuronok ganglionon belüli elrendeződésében és a neuronok számában nagy különbségeket találtunk a vékonybél orális és aborális szakaszában. Az orális bélszakaszon a 18. és a 20. magzati hét között a VGLUT1-IR myentericus neurok száma 50%-kal csökkent, majd a 23. hétre ez további jelentős csökkenést mutatott. Ekkor a kiindulási neuronok számához képest már 70%-os volt a csökkenés. A 18. és 20. magzati hét között az aborális részen is hasonló, mintegy 50%-os VGLUT1-IR myentericus neuronszám csökkenést láttunk, azonban itt a 20. hétig szignifikáns sejtszámváltozást már nem tapasztaltunk. Hasonlóan jelentős, egy-egy magzati életkorhoz kötött változásokat láttunk az immunreaktív terminálisszerű végződésekből is.

Hasonlóan a VGLUT1-immunreaktiváshoz, a 18-23. magzati hét között a VGLUT2-immunreaktivitás is jelen volt a myentericus neuronok citoplazmájában és a különböző ganglionális kompartmentekben. A myentericus neuronok citoplazmájában a VGLUT2-immunreaktivitás is jellegzetes pontszerű festődési mintázatot mutatott. Kvantitatív immunhisztokémiai vizsgálataink eredményei azt mutatták, hogy a VGLUT2-IR neuronok sokkal kisebb számban voltak jelen a magzati ENS-ben, mint a VGLUT1-IR neuronok, de számuk a vizsgált bélszakasztól és a magzati életkortól függően dinamikusan változott. Jelentősebb számú VGLUT2-IR varikozitást, és a varikozítások számában kifejezett életkorfüggő változást csak az aborális vékonybéli szakaszon láttunk.

A VGLUT3 izoforma ellen készített immunszérummal végzett immunhisztokémiai festés után is találtunk immunreaktív neuronális elemeket a 18-23. magzati hét között,

immunreaktív sejttesteket azonban csak ritkán láttunk. A VGLUT3 festődés elsősorban a myentericus neuronok szómája körül elrendeződő terminálisszerű végződésekre, valamint a ganglionális neuropil és az internodális szegmentek varikózus rostjaira korlátozódott.

2.1. A VGLUT1-IR myentericus neuronok morfokéimiai jellemzése

A VGLUT1-IR sejtek morfofunkcionális és morfokéimiai jellemzését egy pánneuronális (HuC/HuD), egy neurofilament (NF200) és egy neuronális (nNOS) marker felhasználásával kezdtük el. Egyes- és többesjelöléses immunhisztokémiai vizsgálatokat végeztünk, és a mintákat szemikvantitatív módon értékeltük. A HuC/HuD pánneuronális marker ellen készített antitesttel történő immunfestés után minden VGLUT-IR myentericus neuron mutatott HuC/HuD-immunreaktivitást is. Ugyanakkor a VGLUT1-IR neuronoknak csak egy része, mintegy 35-40%-a festődött NF200-zal. A VGLUT1/NF200 kettősjelölt neuronokat három különböző morfológiai osztályba soroltuk. A neuronok egy része nagyméretű, multidendritikus, uniaxonális típusú volt. A NF200-IR neuronok másik csoportja valamivel nagyobb somaméretű, s az adendritikus, multiaxonális csoportba volt sorolható. A NF200-zal jelölt VGLUT1-IR sejtek harmadik csoportjába kisebb somaméretű neuronok tartoznak. A VGLUT1/nNOS kettősjelölés után egyetlen VGLUT1-IR sejt sem mutatott nNOS-IR-t. A VGLUT1-IR neuronok azonban gyakran küldtek VGLUT1-IR varikózus nyúlványokat a nNOS-IR neuronokhoz.

3. NMDA receptív myentericus neuronok vizsgálata

Az NMDA receptor NR1 alegységének C terminálisa ellen készített antitest számos myentericus neuront megfestett. Az NR1 immunreaktivitás pontszerű festődést mutatott, ami főleg a sejt felszínére lokalizálódott, bár gyakran láttunk szemcsés citoplazmatikus festődést is. Az NMDA receptor NR2 A, C és D alegysége kizárólag citoplazmatikus festődést adott, míg az NR2 B alegység jelenlétére utaló immunreaktív szemcséket gyakran láttunk pontszerűen elhelyezkedve a myentericus neuronok felszínén is. NR2 A festés után a

myentericus neuronok mellett több kisebb Cajal-féle interstitialis sejtre emlékeztető sejtekben is láttunk intenzív citoplazmatikus festődést.

4. NMDA receptív neuronok kémiai kódja

Az NMDA receptor VIP kettősjelölésű immunhisztokémiai festés után egyes NMDA receptor immunpozitivitást mutató sejtek körül VIP-pozitív varikózus rostokat és a rostok által alkotott kosarakat figyeltünk meg. A myentericus neuronoknak egy kis csoportja VIP-immunpozitivitást mutatott, s a VIP-IR neuronoknak mintegy 10%-án láttunk felszíni pontszerű NMDA-NR1 immunreaktivitást és szemcsés citoplazmatikus jelölődést. A VIP-IR neuronoknak egy kis hányada NMDA receptor alegység és nNOS immunreaktivitást is mutatott. A tisztán nNOS-immunpozitív neuronok nem, míg a VIP/NOS kettősjelölt myentericus neuronok gyakran expresszáltak NMDA receptor NR1 alegységet.

EREDMÉNYEK MEGBESZÉLÉSE

Laboratóriumunkban elsőként vizsgáltuk a glutamaterg neurotranszmisszió különböző komponenseinek jelenlétét, s az egyes komponensek tér- és időbeli változását a fejlődő humán ENS-ben. Munkánk célja az volt, hogy olyan immunhisztokémiai adatokat gyűjtsünk, melyekből következtetni tudunk a glutamaterg neuronok funkciójára és fejlődéstani szerepére.

Immunhisztokémiai vizsgálataink eredményei azt mutatták, hogy az anti-glutamát antitest már a 15 hetes humán magzat vékonybelében specifikusan jelölt számos myentericus és submucosus neuront. A morfometriai vizsgálataink alapján a glutamaterg neuronoknak mintegy 80%-át a Dogiel I-es, 20%-át pedig a Dogiel II-es csoportba tudtuk sorolni. A Dogiel II-es típusú neuronokat disznóban elsődleges érzőneuronnak tekintik, így eredményeink összhangban állnak azokkal az irodalmi adatokkal, melyek szerint a glutamaterg neuronok egy része elsődleges érzőneuron, s így meghatározó szerepe van a perisztaltikus reflex kialakításában.

Részletes fejlődéstani vizsgálatainkhoz a glutamáterg neuronoknak egy sokkal specifikusabb jelölését, a VGLUT-immunreaktivitást alkalmaztuk a fejlődő humán magzatok vékonybelének különböző szakaszaiban. Már a 14. magzati héten mind a három VGLUT izoforma ellen kaptunk specifikus festődést. A ganglionokon belül gyakran láttunk VGLUT-immunreaktív sejttesteket és a sejttestek körül elrendeződő terminálisszerű végződéseket is. A 14. gesztációs héttől az immunreaktív neuronális elemek száma és az immunreaktivitás intenzitása fokozatosan emelkedett.

A VGLUT-IR sejttestek kvantitatív analízise valamint a különböző ganglionális kompartmentekben lévő immunreaktív végzések szemikvantitatív becslése alapján megállapítottuk, hogy a humán magzati ENS-ben a VGLUT1 és a VGLUT2 tekinthető a két domináns VGLUT izoformának, mivel expressziójuk minden magzati életkorban és minden bélszakaszon kiterjedt volt. Ugyanakkor a VGLUT3 expresszió csak az orális bélszakaszokra, s ott is csak egy szűk neuronpopulációra korlátozódott. A két domináns izoforma közül a VGLUT1 expresszió kvantitatív predominanciája minden magzati életkorban és minden bélszakaszon egyértelmű volt.

Annak érdekében, hogy közelebb kerüljünk a humán magzati PM-ban talált VGLUT-IR neuronok funkciójának megértéséhez, elkezdtük e neuronok morfológiai jellemzését. A HuC/HuD panneuronális, a NF200 citoskeletális és a nNOS neuronális markerrel egyes- és többesjelöléses immunhisztokémiai vizsgálatokat végeztünk. Mivel minden VGLUT1-IR neuron egyben HuC/HuD-IR is volt, eredményeink alapján teljes biztonsággal mondhatjuk, hogy a humán magzati ENS-ben a VGLUT1-immunreaktivitás valóban specifikus markere a glutamáterg neuronoknak. A NF200-immunreaktivitás alkalmas arra, hogy a festődő neuronokat morfológiailag jellemezzük. A VGLUT-IR neuronoknak mintegy fele NF200-IR-t is mutatott. A neuronoknak mintegy 60%-a már a glutamát-immunreaktivitás alapján is besorolt Dogiel I-es izomtoneuronnak, míg kb. 20%-a szintén az ott besorolt Dogiel II-es

típusú érző- vagy szekretomotoros neuronnak tekinthető. A neuronoknak egy harmadik csoportja morfológiailag a disznónál leírt VI-os típusra emlékeztetett. Ennek alapján ezt a neuroncsoportot leszálló interneuronnak tekinthetnénk. A VI-os típusú neuronok azonban irodalmi adatok alapján nitregerg neuronok. Humán magzati bélben ugyanakkor VGLUT1-IR nNOS-IR kettősjelölt neuronokat nem találtunk, így ezeknek a neuronoknak a morfológiái jellemzése még további vizsgálatokat igényel.

Korábbi kutatások szerint a patkány ENS-ben szinte valamennyi entericus neuron NMDA receptor-pozitívnek bizonyult. A fejlődő humán PM-ban is számos NMDA receptor-pozitív neuront találtunk, de az NMDA receptor immunreaktivitás eloszlása a humán ENS-ben sokkal korlátozottabb, mint a patkányéban. A legtöbb sejt a különböző alegységek közül az NR1 alegység ellen készült antitesttel jelölődött. Ez összhangban van azokkal az irodalmi adatokkal, amelyek szerint az NR1 alegység minden NMDA receptorban megtalálható, mivel ez az alegység létfontosságú a NMDA receptor működőképességéhez.

Korábbi immunhisztokémiai vizsgálatokból az is ismert, hogy a VIP és a NOS a magzati élet végén illetve a felnőtt humán ENS-ben együtt fordul elő a gátló motoneuronokban, ezért kíváncsiak voltunk arra, hogy a csak VIP-et, vagy csak NOS-t tartalmazó, illetve e két anyagot együtt használó neuronokon vannak-e NMDA receptorok.

A vizsgált magzati életkorokban nNOS- és NR1-immunreaktivitás együttes előfordulását nem láttuk, azonban az NMDA receptor-pozitív sejtek körül gyakran láttunk nNOS-IR és VIP-IR varikózus rostokból álló kosarakat. Ez arra utal, hogy, legalábbis a korai magzati életkorban, mind a NO, mind a VIP valamilyen formában szabályozza a glutamáterg jelátviteli utaknak az NMDA receptorokon keresztül megvalósuló formáját.

A DISSZERTÁCIÓ TÉMÁJÁHOZ KAPCSOLÓDÓ PUBLIKÁCIÓK LISTÁJA

Teljes közlemények

1. M. Krecsmarik, F. Izbéki, M. Bagyánszki, **N. Linke**, N. Bódi, J. Kaszaki, Z. Katarova, Á. Szabó, É. Fekete, T. Wittman (2006) *Chronic ethanol exposure impairs neuronal nitric oxide synthase in the rat intestine*. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research* 30(6):967-73 **IF:3.175**
2. F. Izbéki, T. Wittman, A. Rosztóczy, **N. Linke**, N. Bódi, É. Fekete, M. Bagyánszki (2008) *Immediate insulin treatment prevents gut motility alterations and loss of nitrergic neurons in the ileum and colon of streptozotocin-induced diabetic rats*. *Diabetes Research and Clinical Practice* 80(2):192-8 **IF:1.823**
3. **N. Linke**, N. Bódi, B.A. Resch, É. Fekete, M. Bagyánszki (2008) *Developmental pattern of three vesicular glutamate transporters in the myenteric plexus of the human fetal small intestine*. *Histology and Histopathology* 23(8):979-86 **IF:2.007**
4. **N. Linke**, Z. Novák, M. Krecsmarik, É. Fekete, H. Orvos, A. Pál, M. Bagyánszki (2006) *Identification of c-kit-positive cells in the human umbilical vein*. *Placenta* (submitted)

Nyomtatásban megjelent előadás kivonatok

1. **N. Linke**, N. Bódi, V. Balázs, Zs. Feltóti, F. Izbéki, É. Fekete, M. Bagyánszki (2006) *Quantitative changes in the nitrergic neurons in diabetic rat*. International IBRO Workshop, Budapest, Hungary, 2006, *Clinical Neuroscience* 2006, 59(S1):42
2. **N. Linke**, N. Bódi, V. Balázs, Zs. Feltóti, F. Izbéki, É. Fekete, M. Bagyánszki (2006) *Quantitative changes in the nitrergic neurons in diabetic rat*. Wind Spring 2006, 9th International Meeting for Hungarian Scientists, PhD Students and Researchers, Kaposvár, Hungary, 2006

3. **N. Linke**, Z. Novák, M. Krecsmarik, É. Fekete, H. Orvos, A. Pál, M. Bagyánszki (2006)

Identification of C-kit positive cells in the human umbilical vein. European Academy of Paediatrics Congress, Barcelona, Spain, 2006

4. **N. Linke**, N. Bódi, B. Á. Resch, B. E. Resch, É. Fekete, M. Bagyánszki (2007)

Prenatal development of glutamatergic neurons in the human enteric nervous system. Magyar Idegtudományi Társaság XI. Konferenciája, Szeged, Hungary, 2007

5. **N. Linke**, N. Bódi, B. Á. Resch, É. Fekete, M. Bagyánszki (2007)

Glutamáterg neuronok prenatális fejlődése a humán bélidegrendszerben. Wind Spring 2007, 10th International Meeting for Hungarian Scientists, PhD Students and Researchers, Budapest, Hungary, 2007

6. N. Bódi, **N. Linke**, F. Izbéki, M. Bagyánszki, É. Fekete (2007)

Loss of nitrergic myenteric neurons in diabetic rats coincides with structural alterations in capillaries supplying the myenteric plexus. 14th International Student Congress of Medical Sciences, Groningen, The Netherlands, 2007

7. **N. Linke**, F. Izbéki, M. Bagyánszki, N. Bódi, A. Rosztóczy, É. Fekete, J. Lonovics, T. Wittmann (2007)

Early insulin treatment prevents the loss of nitrergic neurons in the ileum and colon and restores altered gut motility in streptozotocin-induced diabetic rats. 49th Annual Meeting of the Hungarian Society of Gastroenterology, Tihany, Hungary, 2007, *Gastroenterologie* 2007, 5: 434

8. **N. Linke**, N. Bódi, Á. B. Resch, É. Fekete, M. Bagyánszki (2007) *Prenatal development of glutamatergic neurons in the human enteric nervous system*. XVI. Nemzetközi Semmelweis Szimpózium és VI. Magyar Sejtanalitika Konferencia, Budapest, Hungary, 2007
9. N. Bódi, **N. Linke**, F. Izbéki, M. Bagyánszki, É. Fekete (2007) *Loss of nitrenergic myenteric neurons in diabetic rats coincides with structural alterations in capillaries supplying the myenteric plexus*. XVI. Nemzetközi Semmelweis Szimpózium és VI. Magyar Sejtanalitika Konferencia, Budapest, Hungary, 2007

Társszerzői lemondó nyilatkozat

Alulírott nyilatkozom, hogy a Jelölt téziseit ismerem, a tézisekben és a közleményekben foglalt eredményeket tudományos fokozat megszerzéséhez nem használom fel, és azokat ilyen célra a jövőben sem fogom felhasználni.

A Jelölt mint társszerző a felsorolt közlemények létrehozásához (1-4) jelentős mértékben járult hozzá.

Szeged, 2008. október 22.

Dr. Fekete Éva

.....