

# **A hypothalamicus melanocortin rendszer szerepe az energia-egyensúly szabályozásában: vizsgálatok különböző korcsoportú és SHR állatokban**

**DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS**



**FÜREDI NÓRA**

Gyógyszertudományok Doktori Iskola

Neurofarmakológia Program

Doktori Iskola vezetője, Programvezető: Prof. Pintér Erika

Témavezetők:

Dr. Pétervári Erika

Dr. Gaszner Balázs

Transzlációs Medicina Intézet

Anatómiai Intézet

Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar

Transzlációs Medicina Intézet

2018

## **BEVEZETÉS**

Az elhízás, ami számos betegség kialakulásának kockázatát növeli, az elmúlt évtizedekben az egyik legjelentősebb epidemiológiai és népegészségügyi kihívássá vált. Míg a középkorú populációban az ehízás, idősekben az étvágytalanság és ennek következtében az aktív szövetek (izom) vesztese jellemző, amely sarcopeniához vezet. Mindkét trend megfigyelhető más emlősökben is, ezért kialakulásukhoz az energia-háztartás endogén szabályozási változásai is hozzájárulhatnak (Székely et al. 2016). Bár ezek már jól ismert epidemiológiai megfigyelések, a pontos neurobiológiai háttér ezidáig még nem tisztázott.

### **1. Az energia-egyensúly szabályozása: a hypothalamus és a regulatórikus peptidok**

Az energia-egyensúly fő komponensei a táplálékfelvétel (TF), az anyagcsere (metabolikus ráta, MR), valamint a hőleadás (HL). A TF és az MR közötti egyensúly rövid távon a táplálkozási (éhség vs. jóllakottság), hosszú távon a tápláltsági állapotot, azaz a testtömeget (TT) határozza meg. Az MR és HL közötti egyensúly biztosítja a maghőmérséklet (T<sub>c</sub>) stabilitását. E két, egymással szorosan összefüggő szabályozási kör felelős az energia homeosztázis szabályozásáért. Egymással való interakciójuk révén a környezeti hőmérséklet és belső hőszabályozási változások befolyásolják a TF-t, míg a táplálkozási állapot és a TT befolyásolják a testhőmérsékletet. Ha a TF és az MR közötti egyensúly felborul, az a TT változását fogja eredményezni (elhízás vagy alultápláltság).

A TT és a T<sub>c</sub> változásait hypothalamicus neuropeptiderg központok szabályozzák. Ezek a neuropeptidok lehetnek orexigének (TF-t növelő) vagy anorexigének (TF-t csökkentő). Az energia-egyensúly szempontjából a táplálékfelvételi hatások koordináltak tekinthetők, ha azok energetikailag egyirányú MR-, ill. T<sub>c</sub>-változásokkal járnak együtt. Hiperfágia hipometabolizmussal (csökkent MR) anabolikus állapot (TT növekedés) jelent, ezzel szemben a katabolikus hatást hipofágia és hipermetabolizmus (megnövekedett MR), ezáltal fogyás kíséri (Székely és Szelényi 2005).

### **2. A hypothalamus fő katabolikus rendszere: a melanocortinok**

A hypothalamicus melanocortin rendszer (MC) tagjai az adrenocorticotrop-hormon (ACTH), beta-endorphin, beta-lipotropin, corticotropin-like intermediate-lobe-protein (CLIP), valamint az alpha-, beta- és gamma-melanocita-stimuláló hormonok (MSH), melyeknek fontos, az energia-egyensúly szabályozásában már jól meghatározott szerepük van. A MC receptorok agonista ligandjai (pl. alpha-, beta-, gamma-MSH és ACTH) a pro-opiomelanocortin (POMC) poszt-transzlációs hasításával jönnek létre, melyet a Pomc gén kódol. Legfontosabb a hypothalamus nucleus arcuatusában (ARC) való expressziója. A központi idegrendszerben természetesen előforduló endogén MC antagonisták, pontosabban inverz agonisták az agouti és az agouti-related peptid (AgRP) (Garfield et al. 2009).

Ezidáig 5 különböző MC receptor került azonosításra (MC1R-MC5R). Mindegyik Gs-protein kapcsolt receptor, melyek a ciklikus AMP (cAMP) útvonalon keresztül hatnak. Az energia-egyensúly szempontjából az MC4R a legfontosabb, ami főleg a hypothalamus paraventricularis nucleusában (PVN) expresszálódik. A tápláltsági/táplálkozási állapot perifériás szignáljai (a döntően zsírszöveti eredetű leptin és az inzulin) serkentik az alpha-MSH termelődését az ARC-ban, ami az MC4R-okon keresztül koordinált katabolikus, TT-csökkentő hatást fejt ki: ez a TF csökkentése és az MR növelése révén jön létre a szimpatikus idegrendszer aktiválódásán keresztül, amit a T<sub>c</sub> növekedése is kísér (Krashes et al. 2016).

### **3. Korfüggő változások az energia homeosztázis centrális peptiderg regulációjában**

A testösszetétel koraal jelentősen változik: egyrészt középkorú és idősödő populációban a zsírtömeg, főleg a viscerális zsír aránya fokozatosan nő, amit az inzulin- és a leptinszint emelkedése és leptinrezisztencia kísér, másrészt a fízológias és kóros öregedési folyamatok egyre kifejezettebb időskori étvágytalansághoz, fogyáshoz vezetnek, ami az izomtömeg és izomerő progresszív vesztésével (sarcopenia) növeli az idősök morbiditási és mortalitási kockázatát. Ezekben a korfüggő változásokban szerepet játszhatnak az energia-egyensúly, a TT és testösszetétel szabályozásáért felelős neuropeptidek által közvetített mechanizmusok (Balaskó et al. 2014; Kmiec et al. 2013; Pétervári et al. 2011; Székely et al. 2016).

Kutatócsoportunk korábbi vizsgálatai a centrális adott leptin injekció/infúzió hatásának jellegzetes korfüggő változását mutatta ki hím Wistar patkányokban: a leptin anorexigén és TT-csökkentő hatása csökkent középkorú és öregedő (12- és 18-hónapos), majd újra felerősödött öreg (24-hónapos) állatokban. Ez a változás mind a középkorú korcsoport elhízási hajlamának, mind az időskori anorexia magyarázatához hozzájárulhat. A leptin hipermetabolikus/hipertermiás hatása viszont fokozatosan csökkent a koraal (Pétervári et al. 2014; Rostás et al. 2016). A leptin által gátolt orexigén neuropeptid Y (NPY), az ARC fő anabolikus regulátora ugyancsak csökkenést mutat a koraal (Kmiec et al. 2013). A leptin másik célpontja az ARC-ban az MC rendszer. Munkacsoportunk korábbi *in vivo* vizsgálatai szerint a hím Wistar patkányoknak centrális adott alpha-MSH anorexigén és TT-csökkentő hatása a leptin centrális anorexigén hatásához hasonló, nem-lineális korfüggő mintát mutat: a fiatal és öreg állatokban erős, középkorú korcsoportban gyenge (Pétervári et al. 2010; 2011). Más korábbi, a POMC génexpresszióját vizsgáló *in vitro* kutatások azonban eltérő eredményeket hoztak a hypothalamicus MC rendszer endogen aktivitásának korfüggő változásáról: egyesek csökkent (Gruenewald and Matsumoto 1991; Kappeler et al. 2003; Nelson et al. 1988; Arens et al. 2003; Lloyd et al. 1991; Rigamonti et al. 2006), mások változatlan MC-aktivitást írtak le öreg rágsálókban (McShane et al. 1999; Wolden-Hanson et al. 2004; Zhang et al. 2004). A centrális alpha-MSH-injekció akut hipermetabolikus/hipertermiás hatásának korfüggő változását eddig még nem vizsgálták. A hypothalamicus MC rendszert egyszerre háromnál több korcsoportban eddig még nem elemezték részletesen, ezért dolgozatomban célul tűztem ki a MC rendszer korfüggő dinamikájának részletes analízisét az alpha-MSH, az AgRP és az MC4R vizsgálatával különböző korú (fiatal felnőtt korútól az öreg korcsoportig) patkányokban.

### **4. Az energia-egyensúly és a vérnyomás szabályozása közötti kapcsolat**

Bizonyos hypothalamicus neuropeptidek az energia-háztartás mellett a vérnyomás szabályozásában is részt vesznek. A legerősebb hypothalamicus neuropeptidek közül az alpha-MSH és az NPY befolyásolják az anyagcserét és a szimpatikus idegrendszer aktivációt, ezáltal hozzájárulhatnak a vérnyomás emelkedéséhez (Barzel et al. 2016).

Hypertensio felnőttben akkor áll fenn, ha a vérnyomás nyugalomban is tartósan 140/90 Hgmm felett marad. Ez a súlyos cardiovascularis, cerebrovascularis és renális szövődményekhez vezető állapot Magyarország lakosságának harmadát érinti, ami komoly népegészségügyi terhet jelent (Bodo et al. 2008). Epidemiológiai adatok tehát alátámasztják kutatásának és megbízható állatmodellek létrehozásának fontosságát.

### **5. Az energia-egyensúly és a vérnyomás szabályozásának zavara spontán hipertenzív patkányoktörzsben (SHR)**

Az SHR (spontaneously hypertensive rat) törzs a magasvérnyomás-betegség és a vérnyomáscsökkentő gyógyszerek kutatásában leggyakrabban használt állatmodell (Pinto et al.

1998). Fokozott szimpatikus tónust és progresszív hypertenziót fejlődik ki bennük (Judy et al. 1976), ami krónikus kalóriarestrikciónal megelőzhető (Dolinsky et al. 2010). A TF-ük és TT-fejlődésük elmarad a normotenzív kontrolloktól, még zsírdús diéta mellett is, ami energiaháztartásuk szabályozási zavarára utal (Oliveira et al. 2009). Az SHR állatok hypothalamicus MC rendszerének aktivitását feltételezik, ugyanis MC3/4R antagonisták a kontrollokhhoz képest nagyobb mértékben csökkentette artériás középnyomásukat. A MC rendszer fokozott endogen aktivitása hozzájárulhat az SHR állatok magas adrenerg tónusához és vérnyomásához, annak ellenére, hogy a mediobasalis hypothalamusukban nem találtak nagyobb POMC vagy MC4R génexpressziót (da Silva et al. 2008). Más kutatócsoport azonban POMC emelkedett génexpresszióját mutatta ki az ARC-ban, ami elősegítheti az SHR törzs hypertóniáját (Yin et al. 1997). A centralis NPY által kiváltott hypotensio és bradycardia a MC-ok hatásával ellentétes (Williams et al. 2004). Dolgozatomban célul tűztem ki a MC rendszer és az NPY lehetséges szerepének vizsgálatát az SHR állatok TF-ének és TT-ének szabályozási zavarában.

## CÉLOK ÉS HIPOTÉZISEK

**Célunk volt a hypothalamicus MC rendszer kulcsszerepének vizsgálata az energiahomeosztázis szabályozásában.**

### ***1. Hipotézis***

*A MC rendszer aktivitása jellegzetes korfüggő mintát mutat. A MC rendszer csökkent aktivitása hozzájárul a középkorúak elhízásához, amit a MC rendszer aktivitásának fokozódása követ, ez hozzájárul az időskori anorexiához és fogyáshoz.*

Hipotézisünket hím Wistar patkányokban teszteltük 3 kísérletsorozatban.

### **1) A középkorúakra jellemző elhízás és az időskori sarcopenia demonstrálására saját patkány modellünkben mértük a TT-et és a testösszetételt az állatok különböző korcsoportjaiban.**

A testösszetétel korfüggő változását 3 különböző mérési módszerrel vizsgáltuk. A testösszetétel *post mortem* analízisét (PMA) *in vivo* mérésekkel egészítettük ki. Számítógépes mikrotomográfia (CT) segítségével értékeltük az abdominális L1-L3 régiókat (micro-CT<sub>(L1-L3)</sub>, patkányban korábban még nem tesztelt régió), valamint bőrredővastagságon alapuló mérési módszert (bőrredőmérés, rágsálókban még nem validáltak) alkalmaztunk, összevetve a teljes test-micro-CT mérésekkel. Az alkalmazott három technika összehasonlításának és értékelésének másik célja a jövőben tervezett *in vivo* kísérletekhez alkalmas módszer meghatározása, amellyel a testösszetétel korfüggő változásainak dinamikája követhető, mérhető lehet. A fent leírt technikákkal a következő feltevéseinket próbáltuk megvizsgálni:

- A rövidebb beolvasási időt igénylő abdominális micro-CT<sub>(L1-L3)</sub> ugyanolyan jól használható, mint a teljes test-micro-CT.
- Az egyszerű és nem-invazív teljes bőrredőmérés is alkalmas módszer patkányokban a különbségek kimutatására és a zsírmennyiség változásának követésére.
- A micro-CT<sub>(L1-L3)</sub>-vel mért viscerális zsír mennyisége és a teljes bőrredőméréssel meghatározott subcutan zsír mennyisége hasonló korfüggő változást mutat.
- A *post mortem* mért retroperitoneális zsírmennyiség jobban tükrözi a testzsír korfüggő változásait, mint az epididymális zsírmennyiség.

## 2) Az exogén MC-ra adott válaszkészség *in vivo* vizsgálata Wistar patkányokban:

Feltételeztük, hogy az alpha-MSH akut, rövid távú metabolikus/hőszabályozási hatása hasonló korfüggő mintát mutat, mint az anorexigén MC-hatás. Ennek igazolására különböző korcsoportú patkányokban analizáltuk a centrális alpha-MSH-injekció akut hipermetabolikus/hipertermiás hatását. Továbbá célul tűztük ki az exogén MC agonista komplex akut katabolikus (hipermetabolikus és anorexigén) hatásának elemzését hím Wistar patkányok 5 különböző korcsoportjában, fiattól az öreg korcsoportig. Ezt összevetettük a TT korfüggő fejlődésével.

## 3) Az endogén hypothalamicus MC rendszer *in vitro* vizsgálata Wistar patkányokban:

Az endogen MC rendszer, azaz az alpha-MSH, AgRP és az MC4R korfüggő dinamikáját az ARC és a PVN területein kvantitatív valós idejű-polimeráz láncreakció (qRT-PCR) és szemikvantitatív immunohisztokémia segítségével vizsgáltuk. Majd ezeket rendre összevetettük az *in vivo* eredményekkel.

### II. Hipotézis

Az SHR patkányok nem mutatják a Wistar patkányoknál megfigyelt, a középkorú csoportra jellemző elhízást: TT-ük alacsonyabb, mint a normotenzív (NT) kontrolloké, még zsírdús diétán tartva is, ami az energia-egyensúlyuk szabályozási zavarára utal. *Feltételeztük, hogy az SHR állatok TT-szabályozási zavaraihoz hozzájárulhat a hypothalamicus, anorexigén melanocortinok megnövekedett aktivitása, valamint az orexigén NPY csökkent tónusa.*

Hipotézisünket 2 kísérletsorozatban teszteltük.

## 1) Az exogén peptidekre adott hypothalamicus válaszkészség *in vivo* vizsgálata SHR patkányokban:

Hipotézisünk tesztelésére 3 hónapos hím SHR és NT állatokat kezeltünk alpha-MSH, AgRP vagy NPY centrális injekciójával az akut modell esetén. Krónikus kísérleteinkben MC4R-antagonista (HS024) 7-napos infúzióját alkalmaztuk. Célunk a peptidek a TF-re és a TT-re gyakorolt hatásának analízise volt.

## 2) Az endogén hypothalamicus rendszer *in vitro* vizsgálata SHR patkányokban:

A fent leírt peptiderg-rendszer (endogén) aktivitásának mérésére immunhisztokémiai módszereket alkalmaztunk.

## ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

### 1. Kísérleti állatok

Hím Wistar patkányok 5 korcsoportját [fiatal felnőtt (3 hónapos), felnőtt (6 hónapos), középkorú (12 hónapos), öregedő (18 hónapos) és öreg (24 hónapos)] vizsgáltuk az *I. Hipotézis* teszteléséhez. Egyes hőszabályozási kísérletekhez juvenilis (2 hónapos) korcsoportot is alkalmaztunk. A *II. Hipotézis* teszteléséhez 3 hónapos NT és SHR patkányokat használtunk. Az állatokat a PTE ÁOK Transzlációs Medicina Intézete és Anatómiai Intézete állatházában tenyésztettük. Kísérleteinket az intézményi (PTE), a nemzeti és nemzetközi (Európai Parlament és Tanács irányelvei: 86/609/EEC, 2010/63/EU) állatetikai szabályoknak megfelelően végeztük.

### *I. Hipotézis:*

Kezeletlen hím Wistar patkányokat használtunk a testösszetétel méréséhez (micro-CT, PMA, bőrredőmérés). További két csoportban intracerebroventricularis (ICV) kanül beültetése után táplálékfelvételi vagy anyagcsere/hőszabályozási méréseket végeztünk. Végül még két kezeletlen csoportot használtunk az immunohisztokémiai és qRT-PCR vizsgálatokhoz.

### *II. Hipotézis:*

Az *in vivo* kísérletekhez ICV kanüllel ellátott patkányokat használtunk. Az SHR és NT állatok egyik csoportjában a kanült Alzet ozmotikus minipumpához csatlakoztattuk a HS024 (infúzió) kumulatív TF-re és TT-re gyakorolt hatásának méréséhez. Az NT és SHR állatok további három csoportjában a kanül beültetését követően AgRP (injekció) és NPY (injekció) orexigén hatását (nappali TF), illetve alpha-MSH (injekció) anorexigén hatását (12-órás kumulatív spontán éjszakai TF) vizsgáltuk. Az *in vitro* vizsgálatok során kezeletlen hím NT és SHR patkányokat használtunk az ARC POMC génexpressziójának qRT-PCR-val való méréséhez, valamint az ARC-ban az alpha-MSH-t termelő sejtek számának, ill. az alpha-MSH és NPY peptidtartalom immunohisztokémiai eljárással való meghatározásához. Az alpha-MSH denzitását a PVN területén is mértük.

## **2. A testösszetétel meghatározása**

### **2.1. Micro-CT**

A mérésekre a PTE Szentágothai János Kutatóközpontjában került sor. A micro-CT vizsgálatok intraperitonealis (IP) ketamine-xylazine narkózisban történtek [78 mg/kg (Calypsol, Richter) + 13 mg/kg (Sedaxylan, Eurovet)], ami a patkányok 1,5-2 órás mély alvását biztosította micro-CT készülékben (Skyscan 1176 high resolution *in vivo* micro-CT, Kontich, Belgium). A vizsgálati mező (field of view) közepe az L2 csigolya magasságában volt. A felvételek készítése csak 14-15 percet vett igénybe az abdominális L1-L3 régióra korlátozódó vizsgálat esetén, míg 60-75 perc kellett a teljes test (koponyaaltól a tibia distalis végéig) leképezéséhez. A testösszetétel három komponensét különítettük el (zsír- és csontszázalék, egyéb lágy szövetek), de a statisztikai analízishez csak a zsír százalékos arányát használtuk.

### **2.2. A bőrredővastagság mérése**

A bőrredő vastagságának méréséhez rövid idejű éterbódítást alkalmaztunk. A méréseket az állatok testének öt pontján végeztük Lange-féle caliper segítségével: Marshall (1969) alapján négy mérési ponton (jobb scapularis, jobb abdominális, jobb *triceps brachii*, jobb láb), és egy további mérési ponton a jobb oldali crista iliaca. Ezeket összeadva kaptuk a teljes bőrredőt. Az ismételhetséget és a reprodukálhatóságot is teszteltük.

### **2.3. Post mortem analízis**

Uretánnal való túlaltatás után (3 g/kg, IP), a testzsír indikátorai (epididymális, retroperitoneális zsírpárnák), valamint az izomtömeg indikátora (*m. tibialis anterior*, *m. soleus*, *m. extensor hallucis longus*, *m. extensor digitorum longus* nedves tömege) az állatok bal oldalából eltávolítva százados pontossággal lettek grammal (g) lemérve. Az indikátorokat 100 g TT-re vonatkoztatva adtuk meg.

## **3. Műtétek**

A patkányok jobb laterális agykamrájába rozsdamentes acél vezetőkanült ültettünk ICV injekciók vagy ICV infúzió beadása céljából sztereotaxiás apparátus segítségével. A műtéteket IP ketamin-xylazin általános anesztéziában (ld. fent) végeztük, a fertőzések megelőzése

céljából 2 mg IP Gentamycint adtunk. A vezetőkanül pontos helyzete: A: -1,0 mm, L: 1,5 mm, V: 3.5 mm. A krónikus kísérletekhez az oldattal feltöltött Alzet ozmotikus minipumpát a nyak bőre alá helyeztük és az ICV kanülhöz csatlakoztattuk.

#### **4. Metabolikus és hőszabályozási vizsgálatok**

Az oxigénfogyasztást (ml O<sub>2</sub>/kg/min, VO<sub>2</sub>, az anyagcsere indikátora) Oxymax indirekt kaloriméterrel mértük. Ezzel egyidejűleg a maghőmérsékletet (T<sub>c</sub>) és a farokbőr hőmérsékletét (T<sub>s</sub>, a hőleadás mértékét jelzi) Digi-Sense Benchtop Thermometerhez csatlakoztatott termoelemekkel regisztráltuk mozgásukban részlegesen korlátozott, henger alakú fémketrecbe zárt patkányokban. A ketrecbe zárt állatokat egyenként négy kontrollált hőmérsékletű anyagcserekamrába helyeztük (25 °C). Ezen a hőmérsékleten állandó vazokonstriktív jellemző, a T<sub>s</sub> fluktuációja nélkül, de vazodilatáció (jellemző válasz alpha-MSH-ra) és hipertermiás reakció kimutatása is lehetséges. Az ICV alpha-MSH-injekció beadását követően a VO<sub>2</sub> adatokat 3 órán keresztül 10 percenként regisztrálta a rendszer.

#### **5. A táplálékfelvétel (TF) mérése**

A peptidek TF-re gyakorolt orexigén vagy anorexigén hatását szabadon mozgó állatokban FeedScale automatizált táplálékfelvételmérő rendszer segítségével mértük. A kísérletek előtt 2 héttel, egyesével helyeztük az állatokat a rendszerbe a kamrák és a portáp megszokása érdekében. A rendszer az elfogyasztott táp mennyiségét méri g-ban, az anyagbeadást követően 10 percenként az injekciókat követően, ill. 30 percenként a 7 napos infúziós kísérletek alatt. Az adatokat számítógép rögzítette.

#### **6. Immunhisztokémia**

Az immunhisztokémiai festések előtt az állatokat mély altatásban (IP uretán) a szívükön keresztül, 50 ml lehűtött 0.1M foszfát-pufferelt sóoldattal (PBS, pH 7.5) perfundáltuk, amit 300 ml, szintén hűtött 4% -os paraformaldehiddel való fixálás követett. Alpha-MSH-MC4R kettős jelölést, valamint AgRP és NPY egyszeres jelölést alkalmaztunk. A metszeteket konfokális lézer pásztázó mikroszkóppal digitalizáltuk.

#### **7. Kvantitatív valós-idejű polimeráz láncreakció (qRT-PCR)**

Az állatok ketrecükből kivéve azonnali dekapitáláson estek át (2 percen belül). Az agyuk rövid időn belüli eltávolítása után azokat folyékony nitrogénben fagyasztottuk, majd további felhasználásig -70 °C-on tároltuk. A PVN és ARC mintákat 1 mm átmérővel (-2 től -3 mm-ig, a Bregmától) rendelkező kiszűrő (Harris) tűvel vettük ki agy matrix segítségével, két pengét használva. A teljes mRNS mennyiséget Pure Link™ RNA Mini Kit használatával izoláltuk, a gyártó javaslatának megfelelően. High capacity cDNA kit segítségével került sor a cDNS szintézisére, amihez az RNS mintából 1 µg-ot kellett bemérni a gyártó protokollja alapján. SensiFast SYBR Green reagenst (BioLine) használtunk qRT-PCR kivitelezéséhez, a génextpressziós mérésekhez. Az amplifikációkat ABI StepOnePlus készülék segítségével futtattuk. A génextpressziós analízisekhez StepOne softwaret használtunk, ami a gliceraldehid 3-foszfát-dehidrogenáz (GAPDH) “housekeeping” génhez volt normalizálva.

## 8. Statisztikai módszerek

Pearson-féle korrelációs tesztet, ismételt mérések, ill. egyutas, kétutas ANOVA-teszteket alkalmaztunk Fisher-féle *post hoc* analízissel. SPSS 11.0 (Windows) és Statistica 8.0 (Windows) softwareket használtunk.

## EREDMÉNYEK ÉS DISZKUSSZIÓ

### I. Hipotézis

#### 1.1. A testösszetétel-mérések eredménye

Különböző testtömegű Wistar patkányok testének zsirtartalmát abdominalis micro-CT<sub>(L1-L3)</sub>, bőrredőmérés segítségével, valamint az epididymalis és retroperitoneal zsírminták nedves tömegének *post mortem* analízisével (PMA) határoztuk meg. Ezeket az eredményeket ugyanazon állatok teljestest-micro-CT-vel (legpontosabbnak tartott módszer) kapott eredményeivel összevetve értékeltük. A legerősebb korrelációt a hasi és a teljestest-micro-CT között mutattuk ki. A teljes bőrredő meglepően szoros korrelációt mutatott a teljestest-scan által meghatározott zsírszázalékkal. A PMA zsírtömeg-indikátorai viszont gyenge korrelációt igazoltak a teljestest-micro-CT-vel. Az abdominal micro-CT<sub>(L1-L3)</sub> által meghatározott zsírszázalék szignifikánsan korrelált a PMA epididymalis és retroperitonealis zsírtömeg-indikátoraival. Erős volt a korreláció a teljes bőrredő és a PMA-indikátorok között is. A bőrredőmérés ismételhetségének analízise jó összefüggést mutatott az aznap megismételt mérések között, másrészt a különböző vizsgálokkal végzett reprodukálhatósági vizsgálat is szoros összefüggést igazolt. Tehát a teljes bőrredő meghatározása megbízható paraméternek bizonyult.

Különböző korú Wistar patkányok testzsír-százalékának meghatározása abdominalis micro-CT<sub>(L1-L3)</sub> segítségével teljesen hasonló korfüggő változást mutatott, mint a PMA-val mért retroperitoneális zsírmennyiség (100 g TT-re vonatkoztatva). Mindkét módszer szerint a zsírtömeg a kora 18 hónapos korig nő, majd a legidősebb állatokban csökken. Az epididymalis zsírtömeg (PMA) a középkorú 12-hónapos patkányokban érte el a csúcspontját. A többi módszer eredményeivel ellentétben a teljes bőrredő fokozatosan nőtt a kora, öregkori csökkenés nélkül.

A visceralis és subcutan zsír az abdominal micro-CT<sub>(L1-L3)</sub> segítségével elkülöníthető: a visceralis zsírszázalék változásának korfüggő mintázata megegyezik a retroperitonealis zsír (PMA) és a hasi CT-vel becsült teljes zsír fent említett mintájával. Ezzel szemben a subcutan zsíré a teljes bőrredő korfüggő mintájára emlékeztet (öregkori csökkenés hiánya).

Az izomszövet indikátorának *post mortem* analízise szerint szignifikáns csökkenés, tehát a sarcopenia megjelenése az öregedő és főleg az öreg (18- és 24-hónapos) korcsoportban igazolható.

#### 1.2. A testösszetétel-mérések megbeszélése

A test zsirtartalmának különböző módszerekkel való mérésének alkalmazhatóságát igazoltuk eltérő korcsoportú patkányokban. Eredményeink szerint a korábban még nem tesztelt hasi régióra korlátozódó micro-CT<sub>(L1-L3)</sub>-vizsgálat ugyanolyan jól használható patkányban, mint a teljestest-CT a visceralis zsírszázalék meghatározására. Ez összhangban van más korábbi, L1-L6, L1-L5 or L4-L5 régiókra irányuló micro-CT-vizsgálatokkal (Hillebrand et al. 2010; Judex et al. 2010; Lubura et al. 2012). A vizsgált régió redukciójával csökken a felvételek készítéséhez és az altatáshoz szükséges idő, ami különösen öreg, elhízott, az altatáskor nagyobb kockázattal bíró állatok esetén fontos.



A teljes bőrredő mérése egyszerű, gyors, költséghatékony, nem-invazív *in vivo* módszer, ami mély altatás nélkül ismételtető, ugyanakkor bizonyos gyakorlottságot igényel, és csak a subcutan zsírt méri. Patkányban eddig még nem validálták. Eredményeink szerint alkalmas a zsírtartalom különbségeinek és változásainak vizsgálatára patkányban is.

Eredményeink megerősítették feltételezésünk: micro-CT<sub>(L1-L3)</sub> segítségével külön meghatározott viscerális zsír mennyisége és a *post mortem* mért retroperitonealis zsírtömeg hasonló korfüggő változást mutat: 3-tól 18 hónapos korig fokozatosan nő, majd öreg állatokban csökken. Ezzel szemben az epididymalis zsírtömeg előbb, 12 hónapos korban éri el a csúcát, tehát retroperitonealis zsírtömeg *post mortem* mérése jobban tükrözi a testzsír korfüggő változását. A micro-CT<sub>(L1-L3)</sub>-vel izoláltan mért és a bőrredőmérés segítségével meghatározott subcutan zsír mennyisége monoton, késői csökkenés nélkül nő a korrallal. Tehát az utóbbi módszer nem alkalmas korábban elhízott állatok zsírtömegvesztésének követésére, különösen a nagy kötőszövet-felhalmozódást mutató öreg korcsoportban. Új izomtömeg-indikátorunk már 18 hónapos, a legnagyobb test- és zsírtömegű korcsoportban izomvesztést mutatott ki. Ez összhangban van azokkal a human megfigyelésekkel, amelyek szerint a testtömegvesztés mértékét meghaladó mértékben fogy az izomzat és az izomerő idős korban, ami a mozgás- és önellátóképesség elvesztéséhez vezet (Keller et al. 2014).

## **2.1. A hypothalamicus MC rendszer korfüggő eltérései: Az exogén alpha-MSH-ra adott válaszkészség *in vivo* vizsgálatának eredményei**

A hím Wistar patkányaink TT-fejlődése markáns, folyamatos emelkedést mutatott az állatok 18 hónapos koráig, majd egy erőteljes csökkenés figyelhető meg. *In vivo* kísérleteinkben ICV adott alpha-MSH akut metabolikus/hőszabályozási és anorexigén hatásait elemeztük különböző korcsoportokban. Az alpha-MSH-injekció katabolikus hatásának hipermetabolikus és anorexigén komponensei jellegzetes korfüggő mintázatot mutattak. A hipermetabolikus hatás (VO<sub>2</sub> növekedése a Tc következményes emelkedésével) a középkorú korcsoport kivételével mindegyikben szignifikáns volt. Tehát a hatás korfüggő csökkenése a 12 hónapos állatokban érte el mélypontját, öreg állatokban viszont újra fokozódott. Az öreg állatokban a VO<sub>2</sub> szignifikáns növekedésével az erős vasodilatáció ellenére együtt járt a Tc szignifikáns emelkedése. Anorexigén hatást tekintve hasonló mintát kaptunk: a középkorú (12 hónapos) csoport kivételével minden korcsoportban szignifikáns volt. Tehát az anorexigén hatás is 12 hónaposan éri el a minimumát, amit az öreg állatok fokozott válaszkészsége követ.

## **2.2. Az *in vivo* kísérletek diszkussziója**

Az alpha-MSH akut hipermetabolikus/hipertermiás hatása a korrallal az anorexigén hatás korfüggő változásához hasonló mintát mutat (Pétervári et al. 2010). Eredményeink alátámasztják, hogy az alpha-MSH katabolikus aktivitásának csökkenése megelőzi a középkorú korcsoportban megjelenő súlygyarapodást és elhízást (azaz a TT és a viscerális zsírtartalom 18 hónaposan elért maximumának megjelenését). A későbbiekben (18 hónaposan) fokozódó MSH-érzékenység megelőzi az öreg (24 hónapos) állatok fogyását és izomvesztését. Az alpha-MSH katabolikus hatásának megfigyelt korfüggő hullámzása hozzájárulhat mind a középkorúakra jellemző elhízáshoz, mind az időskori súlyvesztéshez (és sarcopeniához).

## **3.1. A hypothalamicus MC rendszer korfüggő eltérései: Az endogén hypothalamicus MC rendszer *in vitro* analízisének eredményei**

*In vitro* eredményeink olyan lehetséges mechanizmusokat tártak fel, amelyek hozzájárulhatnak TT-szabályozás *in vivo* megfigyelt, korfüggő változásaihoz hím Wistar

patkányokban. A középkorú patkányokban, az alpha-MSH- és MC4R-peptidtartalom csökkent az ARC és PVN területén is (a génexpresszió párhuzamos megváltozása nélkül), míg az öregedő állatokban a megnövekedett alpha-MSH- és MC4R-peptidtartalom a POMC és MC4R génexpressziójának párhuzamos emelkedésével járt együtt. Az MC4R ezen változásai a PVN-ben magyarázhatják az exogén alpha-MSH hatásának korfüggő dinamikáját. Noha az AgRP génexpressziója az öregedő állatok mindkét magjábanban emelkedést mutatott, peptid szinten ezt a különbséget már nem tudtuk kimutatni.

### **3.2. Az *in vitro* eredmények megbeszélése az *in vivo* megfigyelések tükrében**

Elsőként analizáltuk a hypothalamicus MC rendszer endogen tónusának korfüggő változását 5 korcsoportban a génexpressziós és immunhisztokémiai vizsgálatok párhuzamos alkalmazásával. A korábbi tanulmányokban a POMC és/vagy AgRP génexpresszióját csak egy fiatal és egy öreg csoportban vetették össze (Zhang et al. 2004; Kappeler 2003; Nelson et al. 1988; Arens et al. 2003; Rigamonti et al. 2006), csak néhányban vizsgáltak egy harmadik (középkorú) korcsoportot is (Gruenewald et al. 1991; Wolden-Hanson et al. 2004; McShane et al. 1999; Lloyd et al. 1991). Ezek ellentmondásos eredményeket mutattak feltehetően a különböző patkány- vagy egértörzsek, nemi, ill. módszertani különbségek miatt.

Eredményeink azt bizonyítják, hogy az alpha-MSH és MC4R immunreaktivitása, a POMC és MC4R génexpressziójával együtt úgy változik az életkorral, hogy hozzájárulhatnak az időskori anorexia kialakulásának magyarázatához. Továbbá, az alpha-MSH és az MC4R peptid immunreaktivitásának korábban bekövetkező csökkenése hozzájárulhat a középkorú állatok súlygyarapodásának és elhízásának magyarázatához. Eredményeink arra engednek következtetni, hogy a kritikus TT vagy zsírtömeg elérése kiváltja a MC-rendszer aktiválódását, az időskori anorexia kialakulását.

## **II. Hipotézis**

### **4.1. Az SHR patkányok szabályozási zavara: *in vivo* és *in vitro* vizsgálatok eredményei**

Az ICV alpha-MSH-injekció csökkentette a spontán kumulatív TF-t mind az SHR, mind a NT csoportban, de a gátlás mértéke az SHR állatokban szignifikánsan nagyobb volt. Az AgRP ICV injekciója hasonlóképpen szignifikánsan fokozta a TF- mindkét csoportban. A szelektív MC4R antagonistá, HS024 növelte a napi TF-t, az NT csoportban már az infúzió második napjától kezdve, míg az SHR állatoknál az orexigén hatás késéssel, csak a negyedik naptól jelentkezett. A TF növekedésével a TT is nőtt mindkét HS024-kezelt csoportban, de az SHR állatokban szintén némi késéssel. Az NPY által kiváltott kumulatív TF (a napi TF %-ában) szignifikánsan alacsonyabb volt az SHR csoportban. Az SHR és NT állatok ARC metszetein végzett sejtszámolás nem mutatott szignifikáns különbséget az alpha-MSH-t termelő sejtek számában. Azonban a jelerősség méréseiből kiderült, hogy az SHR csoport alpha-MSH denzitásának mértéke 28%-kal nagyobb a NT állatokhoz képest. Az NPY idegrostok denzitásának mérésekor nem találtunk szignifikáns különbséget az SHR és NT csoport között. A PVN területén sem találtunk statisztikai különbséget a megfelelő immunszignálok erősségében (alpha-MSH, NPY és AgRP SSD, specifikus szignáldenitász értékei).

### **4.2. Az SHR patkányok szabályozási zavara: *in vivo* és *in vitro* vizsgálatok megbeszélése**

Eredményeink alapján azt feltételezzük, hogy az SHR törzsre jellemző fenotípus részben magyarázható a fiatal állatok MC agonistára adott fokozott orexigén, valamint az NPY-ra adott csökkent orexigén válaszkészségével. Immunhisztokémiai, valamint qRT-PCR

vizsgálataink eredményei is alátámasztják a centrális MC rendszer megnövekedett aktivitásának lehetséges szerepét az SHR patkányok energia-egyensúlyának szabályozásában. Egy korábbi tanulmány MC3R/MC4R antagonist csökkent orexigen hatását írta le SHR állatokban (daSilva et al. 2008). Saját vizsgálatunkban az MC4R antagonista infúzió késleltetett és csökkent orexigen hatásai egybehangzanak a megnövekedett endogén melanocortin tónus feltételezésével, viszont a háttérben lévő mechanizmusok feltárása további vizsgálatokat igényel, például többek között a másodrendű magok innervációjának fejlődését tekintve SHR patkányokban.

## **ÖSSZEFOGLALÁS, ÚJ EREDMÉNYEK**

**I. Hipotézis: A MC rendszer aktivitása jellegzetes korfüggő mintát mutat. A MC rendszer csökkent aktivitása hozzájárul a középkorúak elhízásához, amit a MC rendszer aktivitásának fokozódása követ, ez hozzájárul az időskori anorexiához és fogyáshoz.**

1. Micro-CT-L<sub>1-3</sub> jó és hasznos módszer a testzsír ismételt mérésénél patkányban.
2. A bőrredővastagság mérése is használható módszer, amely alkalmas a testzsír változásának *in vivo* követésére patkányban.
3. Az ICV adott alpha-MSH akut katabolikus hatása jellegzetes korfüggő mintát mutatott Wistar patkányokban: az alpha-MSH katabolikus aktivitásának csökkenése megelőzi a középkorú korcsoportban megjelenő súlygyarapodást és elhízást. A későbbiekben fokozódó MSH-érzékenység megelőzi az öreg állatok fogyását és izomvesztését. Az alpha-MSH katabolikus hatásának megfigyelt korfüggő hullámváltozása hozzájárulhat mind a középkorúakra jellemző elhízáshoz, mind az időskori súlyvesztéshez (és sarcopeniához).
4. *In vitro* eredményeink olyan lehetséges mechanizmusokat tártak fel, amelyek hozzájárulhatnak testtömeg-szabályozás *in vivo* megfigyelt, korfüggő változásaihoz hím Wistar patkányokban. A középkorú patkányokban, az alpha-MSH- és MC4R-peptidtartalom csökkent az ARC és PVN területén is (a génexpresszió párhuzamos megváltozása nélkül), míg az öregedő állatokban a megnövekedett alpha-MSH- és MC4R-peptidtartalom a POMC és MC4R génexpressziójának párhuzamos emelkedésével járt együtt. Noha az AgRP génexpressziója az öregedő állatok mindkét magjábanban emelkedést mutatott, peptid szinten ezt a különbséget már nem tudtuk kimutatni

**II. Hipotézis: Feltételeztük, hogy az SHR állatok testtömeg-szabályozási zavaraihoz hozzájárulhat a hypothalamicus, anorexigen melanocortinok megnövekedett aktivitása, valamint az orexigen NPY csökkent tónusa.**

5. Eredményeink fokozott melanocortin-termelésre/érzékenységre és alacsonyabb NPY-érzékenységre utalnak, melyek hozzájárulhatnak az SHR törzs testtömeg-szabályozási zavarainak magyarázatához.

## KÖSZÖNETNYÍLVÁNÍTÁS

Az ebben az értekezésben bemutatott munka nem jöhetett volna létre számos ember óriási segítségével nélkül, akiknek nagy köszönettel tartozom. Először is szeretnék köszönetet mondani témavezetőimnek, dr. Pétervári Erikának és Dr. Gaszner Balázsnak a támogatásukért, irányításukért és a dolgozat elkészítése során nyújtott segítségükért. Külön köszönet jár Dr. Balaskó Mártának és Prof. Székely Miklós Tanár Úrnak. Szeretném megköszönni a qRT-PCR mérések elvégzésének lehetőségét Prof. Pongrácz Juditnak, és a mérések kivitelezésében való segítségét Feller Diának. Köszönöm Prof. Helyes Zsuzsannának vényomásmérésben és CT mérésekben nyújtott segítségét. Köszönöm dr. Tékus Évának a testösszetétel mérésekben való iránymutatását, segítségét. Köszönettel tartozom a Transzlációs Medicina Intézet Energia Egyensúly és Kísérletes Gerontológia Kutatócsoport asszisztenseinek. Nagyon köszönöm Orbán Izabellának, a munkám során nyújtott technikai támogatást. Külön köszönettel tartozom *barátaimnak* és *családomnak* a támogatásukért és bátorításukért az eltelt évek alatt.

Munkám az alábbi támogatások segítségével valósult meg: GINOP-2.3.2-15-2016-00050 “PEPSYS”, EFOP-3.6.2-16-2017-00008 „The role of neuro-inflammation in neurodegeneration: from molecules to clinics”, PTE KA 2017-01

## IRODALOMJEGYZÉK

1. **Arens J**, Moar KM, Eiden S. et al. *Physiol Genomics*. 2003;16(1):38-46.
2. **Balaskó M**, Soós S, Székely M. et al. *J Chem Neuroanat*. 2014;61-62:248-255.
3. **Barzel B**, Lim K, Davern PJ. et al. *J Hypertens*. 2016;34(3):464-473.
4. **Bodo M**, Thuróczy G, Pánczél G. et al. *Ideggyogy Sz.* 2008;61(3-4):87-96.
5. **Da Silva AA**, do Carmo JM, Kanyicska B. et al. *Hypertension*. 2008;51:884–890.
6. **Dolinsky VW**, Morton JS, Oka T. et al. *Hypertension* 2010;56:412–421.
7. **Garfield AS**, Lam DD, Marston OJ. et al. *Trends Endocrinol Metab*. 2009;20(5):203-215.
8. **Gruenewald DA**, Matsumoto AM. *Neurobiol Aging*. 1991;12(2):113-121.
9. **Hillebrand JJ**, Langhans W, Geary N. *Obesity (Silver Spring)*. 2010;18:848-853.
10. **Judex S**, Luu YK, Ozcivici E. et al. *Methods* 2010;50:14-19.
11. **Judy WV**, Watanabe AM, Henry DP. et al. *Circ Res* 1976;38:21–29.
12. **Kappeler L**, Gourdjji D, Zizzari P. *J Neuroendocrinol*. 2003;15(6):592-601.
13. **Keller K**, Engelhardt M. *Muscles Ligaments Tendons J.* 2014;3(4):346-350.
14. **Kmiec Z**, Pétervári E, Balaskó M. et al. 2013;92:319-355.
15. **Krashes MJ**, Lowell BB, Garfield AS. *Nat Neurosci*. 2016;19(2):206-219.
16. **Lloyd JM**, Scarbrough K, Weiland NG. et al. *Endocrinology*. 1991;129(4):1896-1902.
17. **Lubura M**, Hesse D, Neumann N. et al. *PLoS One* 2012;7(5):e37026.
18. **Marshall MW**, Smith BP, Munson AW. et al. *Br. J. Nutr.* 1969;2:353-369.
19. **McShane TM**, Wilson ME, Wise PM. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 1999;54(1):B14-21.
20. **Nelson JF**, Bender M, Schachter BS. *Endocrinology*. 1988;123(1):340-344.
21. **Oliveira SA Jr**, Okoshi K, Lima-Leopoldo AP. et al. *Arq Bras Cardiol* 2009;93:526–533.
22. **Pétervári E**, Garami A, Soós S. et al. *Neuropeptides*. 2010;44(4):315-322.
23. **Pétervári E**, Rostás I, Soós S. et al. *Peptides*. 2014;56:59-67.
24. **Pétervári E**, Szabad AO, Soós S. et al. *Regul Pept*. 2011;166(1-3):105-111.
25. **Pinto YM**, Paul M, Ganten D. *Cardiovasc Res*. 1998;39(1):77-88.
26. **Rigamonti AE**, Bonomo SM, Scanniffio D. et al. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2006;61(4):315-322.
27. **Rostás I**, Tenk J, Mikó A. et al. *Exp Gerontol*. 2016;85:118-127.
28. **Székely M**, Soós Sz, Pétervári E. et al. Amsterdam; Boston; Heidelberg: Academic Press, 2016;Chapter 14, pp:189-204.
29. **Székely M**, Szelényi Z. *Curr Protein Pept Sci*. 2005;6(4):327-353.
30. **Williams G**, Cai XJ, Elliott JC. et al. *Physiol Behav*. 2004; 81:211–222.
31. **Wolden-Hanson T**, Marck BT, Matsumoto AM. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2004;(1): R138-46.
32. **Yin X**, Zhu YH, Xu SF. *Acta Pharmacol Sin*. 1997;18:391–394.
33. **Zhang Y**, Matheny M, Tümer N. et al. *Neurobiol Aging*. 2004;25(10):1349-1360.

## PUBLIKÁCIÓK

Az értekezés alapjául szolgáló közlemények [Kumulatív impakt faktor (IF): 13.158]

**Nóra Füredi**, Alexandra Mikó, Balázs Gaszner, Diána Feller, Ildikó Rostás, Judit Tenk, Margit Solymár, Márta Balaskó, Erika Pétervári. Activity of the hypothalamic melanocortin system decreases in middle-aged and increases in old rats. *Journals of Gerontology - Series A: Biological Sciences* 2018;73(4):438-445.

IF: 5.957 Független citációk száma: 1

**Furedi N**, Miko A, Aubrecht B, Gaszner B, Feller D, Rostas I, Tenk J, Soos S, Balasko M, Balogh A, Pap M, Petervari E. Regulatory Alterations of Energy Homeostasis in Spontaneously Hypertensive Rats (SHR). *J Mol Neurosci.* 2016;59(4):521-530.

IF: 2.229

Rostás I, **Füredi N**, Tenk J, Mikó A, Solymár M, Soós S, Székely M, Pétervári E, Balaskó M. Age-related alterations in the central thermoregulatory responsiveness to alpha-MSH. *J Therm Biol.* 2015;49-50:9-15.

IF: 1.621 Független citációk száma: 1

Tekus E, Miko A, **Furedi N**, Rostas I, Tenk J, Kiss T, Szitter I, Balasko M, Helyes Z, Wilhelm M, Petervari E. Body fat of rats of different age-groups and nutritional states: assessment by micro-CT and skinfold thickness. *J Appl Physiol (1985).* 2018;124(2):268-275.

IF: 3.351 (2016)

Egyéb közlemények (Kumulatív IF: 27.498)

Balaskó M, Rostás I, **Füredi N**, Mikó A, Tenk J, Cséplő P, Koncsecskó-Gáspár M, Soós S, Székely M, Pétervári E. Age and nutritional state influence the effects of cholecystokinin on energy balance. *Exp Gerontol.* 2013;48(11):1180-1188.

IF: 3.529 Független citációk száma:7

Pétervári E, Rostás I, Soós S, Tenk J, Mikó A, **Füredi N**, Székely M, Balaskó M. Age versus nutritional state in the development of central leptin resistance. *Peptides.* 2014;56:59-67.

IF: 2.618 Független citációk száma:7

Mikó A, **Füredi N**, Tenk J, Rostás I, Soós S, Solymár M, Székely M, Balaskó M, Brunner SM, Kofler B, Pétervári E. Acute central effects of alarin on the regulation on energy homeostasis. *Neuropeptides.* 2016;pii: S0143-4179(16)30087-7.

IF: 2.486

Tenk J, Rostás I, **Füredi N**, Mikó A, Soós S, Solymár M, Gaszner B, Székely M, Pétervári E, Balaskó M. Acute central effects of corticotropin-releasing factor (CRF) on energy balance: Effects of age and gender. *Peptides*. 2016 ;85:63-72.

IF: 2.778

Rostás I, Tenk J, Mikó A, **Füredi N**, Soós S, Solymár M, Lengyel A, Székely M, Gaszner B, Feller D, Pétervári E, Balaskó M. Age-related changes in acute central leptin effects on energy balance are promoted by obesity. *Exp Gerontol*. 2016;85:118-127.

IF: 3.340 (2016) Független citációk száma:4

Tenk J, Mátrai P, Hegyi P, Rostás I, Garami A, Szabó I, Solymár M, Pétervári E, Czimmer J, Márta K, Mikó A, **Füredi N**, Párniczky A, Zsiborás C, Balaskó M. In Obesity, HPA Axis Activity Does Not Increase with BMI, but Declines with Aging: A Meta-Analysis of Clinical Studies. *PLoS One*. 2016;11(11):e0166842.

IF: 2.806

Tenk J, Rostás I, **Füredi N**, Mikó A, Solymár M, Soós S, Gaszner B, Feller D, Székely M, Pétervári E, Balaskó M. Age-related changes in central effects of corticotropin-releasing factor (CRF) suggest a role for this mediator in aging anorexia and cachexia. *Geroscience*. 2017;39(1):61-72.

IF: 2.123 (2016) Független citációk száma:3

**Füredi N**, Nagy Á, Mikó A, Berta G, Kozicz T, Pétervári E, Balaskó M, Gaszner B. Melanocortin 4 receptor ligands modulate energy homeostasis through urocortin 1 neurons of the centrally projecting Edinger-Westphal nucleus. *Neuropharmacology*. 2017;118:26-37.

IF: 5.012 (2016)

Rostás I, Pótó L, Mátrai P, Hegyi P, Tenk J, Garami A, Illés A, Solymár M, Pétervári E, Szűcs Á, Párniczky A, Pécsi D, Rumbus Z, Zsiborás C, **Füredi N**, Balaskó M.: In middle-aged and old obese patients, training intervention reduces leptin level: A meta-analysis. *PLoS One*. 2017 12(8):e0182801.

IF: 2.806 (2016)