

A CENTRÁLIS CORTICOTROPIN RENDSZER ÉLETKORFÜGGŐ HATÁSAI AZ ENERGIA HÁZTARTÁSBAN

Doktori (Ph.D.) értekezés tézisei

Dr. Tenk Judit

Gyógyszertudományok Doktori Iskola
Neurofarmakológia Program

Programvezető: Prof. Pintér Erika
Témavezető: Dr. Balaskó Márta



Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar

Transzlációs Medicina Intézet

2017

1. BEVEZETÉS

Az energia egyensúly hosszútávú szabályozásában két fő tendencia figyelhető meg az életkor előrehaladtával: a középkorúak elhízásra, míg az idősek fogyásra, az aktív szövetek, főképp az izomzat nagyfokú vesztésére (sarcopenia) hajlamosak [Morley 2001], [Di Francesco et al. 2007], [Pétervári et al. 2011a]. Mind az energiátöbblet, mind az energiahiány egyre több embert érint világszerte és súlyos egészségügyi, valamint gazdasági következményekkel bír. Ezek szükségessé teszik az egészséges és a kóros energia háztartás működésének alaposabb vizsgálatát, megismerését, különös tekintettel a korfüggő folyamatokra.

1.1. Az energia egyensúly peptiderg szabályozása

A testtömeg szabályozása egyensúlyi rendszeren alapul: a központi idegrendszer különböző afferens jeleket kap a perifériáról, melyek befolyásolják a centrális neurotranszmitterek működését és efferens folyamatokat aktiválnak. Egyes afferens jelek az aktuális táplálkozási állapotról adnak információt, míg mások, a zsírszöveti szignálok a tápláltsági állapotot jelzik [Wilding 2002], [Székely és Szelényi 2005]. Az egyik legfontosabb zsírszöveti szignál a leptin, melynek (egyéb területek mellett) elsődleges kötőhelye a hypothalamus arcuatus magja (ARC) [Palkovits 2003], [Székely és Szelényi 2005]. Itt az emelkedett leptin szint fokozza az anorexigén (táplálékfelvétel-csökkentő) neuropeptidek, így az alpha- melanocita stimuláló hormon (alpha-MSH) előanyaga, a pro-opiomelanocortin expresszióját [Palkovits 2003]. Az alpha- MSH a hypothalamus paraventricularis magjában (PVN) 'másodlagos' neuronokat aktivál, melyek további katabolikus (anorexigén és hipermetabolikus) peptidek, például a corticotropin-releasing factor (CRF) elválasztásáért felelősek [Valassi et al. 2008].

Korábbi vizsgálatok a leptin és az alpha-MSH centrális alkalmazása során életkorfüggő hatáserősség változást mutattak ki [Pétervári et al. 2010], [Pétervári et al. 2014], [Rostás et al. 2015]. Az intracerebroventricularis (ICV) leptin injekció és infúzió erős anorexigén hatást hozott létre a legfiatalabb és a legidősebb patkányokban, míg a köztes korcsoportokban enyhébb táplálékfelvétel csökkenés érvényesült. Ezzel szemben a hipermetabolikus válaszok folyamatos visszaesést mutattak az öregedés során [Pétervári et al. 2014], [Rostás et al. 2016]. Az alpha- MSH akut és krónikus centrális alkalmazása a leptin anorexigén hatásaihoz hasonló korfüggő változásokat mutatott [Pétervári et al. 2010], [Pétervári et al. 2011b]. Az előbbiekkal megegyező mintázat (fiatalban és öregben erős, középkorúban gyenge hatás) jelent meg a hipermetabolikus hatásokban is alpha-MSH injekció esetén [Rostás et al. 2015], míg infúzió során fiatal patkányokban gyengébb, az idősebb állatokban erősebb anyagcsere-növelő hatás érvényesült [Pétervári et al. 2011b]. Mindezek alapján felmerül a kérdés, hogy a CRF-aktivátoraihoz, a leptinhez és az alpha-MSH-hoz hasonlóan- hozzájárulhat-e a középkorúaknál megfigyelt elhízás és/vagy az időskori fogyás, sarcopenia kialakulásához.

1.2. Corticotropin- releasing factor (CRF)

A 41 aminosavból álló CRF főképp a PVN-ben termelődik [Morin et al. 1999], de egyéb központi idegrendszeri területeken is megtalálható, mint pl. a cerebialis cortex, locus coeruleus, medialis preopticus area, stria terminalis, amygdala vagy a hippocampus [Morin et al. 1999], [Janssen és Kozicz 2013]. Olyan állapotokban, melyek energiatöbblettel járnak (elhízás, elégtelen cukor felhasználás) a CRF elválasztás nő a PVN-ben [Seeley et al. 1996]. Ezzel szemben negatív energia egyensúlyal járó folyamatokban (éhezés, hideg hatás) a CRF és a CRF receptorok mennyisége csökken [Fekete et al. 2000]. Az életkor szintén befolyásolhatja a CRF expresszióját. A legtöbb vizsgálat emelkedett CRF szintet mutatott ki a hypothalamusban idős emberekben és öreg állatokban, míg más tanulmányok az életkor előrehaladtával változatlan CRF szintet írtak le [Bao és Swaab 2007], [Aguilera 2011].

1.2.1. A CRF hatásai

Számos irodalmi adat tanúskodik arról, hogy a CRF endogén katabolikus anyagként viselkedik, anorexigén és hipermetabolikus hatásai a testtömeg csökkenéséhez vezetnek [Richard et al. 2002]. Akut stressz során az ARC anorexigén neuronjainak aktiválásával csökkenti a táplálékfelvételt [Chrousos 2000], bár stressztől független módon is képes anorexigén hatást létrehozni [Crespi et al. 2004]. Akut centrális alkalmazása csökkenti mind a spontán, mind az éhezést követő táplálékfelvételt [Morley, 1987], [Cullen et al. 2001], továbbá fokozza az anyagcserét és a hőtermelést a barna zsírszövetben [LeFeuvre et al. 1987], [Carlin et al. 2006]. Nemcsak az akut, de a krónikus CRF alkalmazás is képes katabolikus hatásokat létrehozni. Növeli a barna zsír tömegét [Cullen et al. 2001] és csökkenti a testtömeget egyrészt a táplálékfelvétel csökkentése, másrészt az anyagcsere fokozása révén [Arase et al. 1988]. A fentiek fényében mind az akut, mind a krónikus CRF alkalmazás koordinált katabolikus hatásokkal bír.

A CRF a hypothalamo- hypophysealis- mellékvesekéreg (HPA) tengely tagjaként részt vesz a stresszválasz kialakításában, valamint a szorongás és a depresszió kifejlődésében is [Bale és Vale 2004], [Fekete és Zorilla 2007], [Janssen és Kozicz 2013]. Ismert, hogy a hőszabályozásban fontos szerepet tölt be: centrális injekció és infúzió formájában hipertermiát okoz [Buwalda et al. 1997], [Heinrichs et al. 2001], [Richard et al. 2002]. Továbbá befolyásolja a motoros aktivitást [Contarino et al. 2000], [Ohata és Shibasaki 2004], az immun- [De Souza 1995] és a reprodukív rendszert [Heinrichs és Richard 1999], valamint a jutalmazási- [Koob 2013] és a tanulási folyamatokat is [Hashimoto et al. 2001].

1.2.2. A corticotropin rendszer receptorai

A corticotropinok hatásait két G-proteinhez kötött receptor típus, a CRF1 és a CRF2 közvetíti. A CRF erősen kötődik a CRF1-hez míg a másik receptorra nézve kisebb affinitást mutat [Perrin és Vale 1999], [Reul és Holsboer 2002].

A CRF1 főképp a hypothalamus magjaiban, az elülső hypophysisben, az amygdalában és a cerebialis cortexben termelődik [Van Pett et al. 2000], [Reul és Holsboer 2002]. Szorongásos állapotok, depresszív viselkedésformák, emelkedett motoros aktivitás és

hipertermiás/hipermetabolikus hatások köthetők hozzá [Van Pett et al. 2000], [Reul és Holsboer 2002], [Figueiredo et al. 2010]. Mindezek mellett érzelmi megterhelés esetén gyenge anorexigén hatást is közvetíthet [Hotta et al. 1999].

Ezzel ellentétben a CRF2 jóval korlátozottabb elhelyezkedést mutat a központi idegrendszerben: főbb termelőési helyei a lateralis septum és a ventromedialis mag a hypothalamusban [Van Pett et al. 2000], [Fekete és Zorilla 2007]. Egyik elsődleges feladata a CRF anorexigén hatásainak közvetítése [Cullen et al. 2001], [Stengel és Taché 2014], de szerepet játszik a stresszválasz késői fázisában és ismertek szorongáscsökkentő, antidepresszáns tulajdonságai is [Van Pett et al. 2000], [Reul és Holsboer 2002].

2. HIPOTÉZISEK ÉS CÉLKITŰZÉSEK

I. Elsődleges hipotézisünk szerint a CRF akut centrális katabolikus hatásai hozzájárulnak a középkorúakban tapasztalt elhízáshoz és az idős korban megjelenő testtömeg csökkenéshez. Feltételeztük, hogy a CRF mediálta akut katabolikus hatások a leptin- és az alpha-MSH injekció során tapasztaltakéhoz hasonló-, életkorfüggő mintázatot mutatnak. Továbbá, hogy ez a korfüggő válaszkészség mintázat nemi különbségeket mutat.

Ezért célul tűztük ki:

1. az ICV CRF injekció anorexigén és hipermetabolikus/hipertermiás hatásainak vizsgálatát különböző korú és nemű Wistar patkányokban,
2. a CRF akut katabolikus hatásai és a középkorúak elhízása, idősök anorexiája közötti lehetséges összefüggések feltárását.

II. Feltételeztük, hogy katabolikus aktivátoraihoz (leptin, alpha-MSH) hasonlóan a CRF krónikus anorexigén és hipermetabolikus hatásainak korfüggő mintázata hozzájárul a hosszútávú-testtömeg szabályozásban tapasztalható speciális tendenciákhoz.

Így céljaink között szerepelt:

1. a 7-napos ICV CRF infúzió anorexigén és hipermetabolikus hatásainak vizsgálata különböző életkorú hím Wistar patkányokban,
2. a krónikus katabolikus CRF hatások lehetséges szerepének feltérképezése a testtömeg hosszútávú szabályozásában

III. Hipotézisünk szerint a PVN CRF tartalmának életkorfüggő változásai hozzájárulnak a korábban említett hosszútávú testtömeg-szabályozásra jellemző tendenciákhoz.

Így fenti hipotézisünk tesztelése céljából megvizsgáltuk a CRF mRNS expresszió változásait a hypothalamus paraventricularis magjában különböző életkorú hím Wistar patkányokban. Továbbá elemeztük ennek lehetséges szerepét a középkorúak elhízásában és az idősök testtömeg-csökkenésében.

3. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

3.1. Kísérleti állatok

Kísérleteink során különböző életkorú hím és nőstény Wistar patkányokat használtunk a PTE ÁOK Transzlációs Medicina Intézet állatházából. Az akut vizsgálatokban fiatal felnőtt (3 hónapos), fiatalabb- (6 hónapos) és öregebb középkorú (12 hónapos), öregedő (18 hónapos), valamint öreg (24 hónapos) állatok kaptak ICV CRF vagy pirogénmentes fiziológiás sóoldat (PFS) injekciót. A hőszabályozási és az anorexigén hatások vizsgálatára külön csoportokat használtunk. A krónikus kísérletekben 7- napos ICV CRF vagy PFS infúziót alkalmaztunk 3-, 12-, 18- és 24 hónapos hím állatokban. A CRF expresszió vizsgálata során a krónikus kísérletekkel megegyező életkorú, intakt, hím patkányokat használtunk. Állataink nem kerültek újrafelhasználásra későbbi életkorban, vizsgálatainkat követően túlaltattuk őket.

A megfelelő életkor elérése után egyedenként külön műanyag ketrecben 24-25 °C-on tartottuk állatainkat, valamint mesterséges fényvel 12-12 órás sötét- világos ciklust biztosítottunk számukra. Ivóvíz és standard laboratóriumi patkánytáp (11 kJ/g; CRLT/N rodent chow, Szindbád Kft., Gödöllő, Hungary) *ad libitum* állt rendelkezésükre, kivéve az akut anorexigén hatások vizsgálatok a 24 órás éhezési periódust, ahol csak vizet fogyaszthattak. Annak érdekében, hogy a méréseket optimális körülmények között tudjuk elvégezni, a patkányokat kézhez, rendszeres súly- és tápméréshez szoktattuk, melyre minden reggel 9 órakor került sor.

Kísérleteinket az intézményi (PTE ÁOK, Általános Orvostudományi Kar), a nemzeti és a nemzetközi (Európai Parlament és Tanács irányelvei: 86/609/EEC, 2010/63/EU) állatetikai szabályoknak megfelelően végeztük.

3.2. Felhasznált anyagok

Kísérleteink során PFS-ben oldott CRF-et (CRF-41, Bachem, AG Switzerland) vagy a kontroll állatok esetébe PFS-t juttattunk a patkányok jobb oldalsó agykamrájába.

Az akut vizsgálatoknál minden állat 5 µl CRF oldat és PFS injekcióban is részesült random sorrendben. Irodalmi adatok [Zorilla et al. 2004], [Semjonous et al. 2009] és saját vizsgálatok alapján különböző dózisú CRF-et használtunk a 24 órás éhezést követő táplálékfelvétel mérésére (0,3 µg CRF) és a thermoreguláció vizsgálatára (1 µg CRF).

Krónikus kísérleteinkben 0,2 mg/ml koncentrációjú CRF oldattal [Rivest et al. 1989] vagy PFS-sel előzetesen feltöltött Alzet ozmotikus minipumpát használtunk, mely 7 napos 1 µl/h sebességű infúziót tett lehetővé.

3.3. Műtéti beavatkozások

Az akut kísérletek során legalább egy héttel az adaptáció kezdetét követően és legalább 7 nappal az ICV injekció előtt ICV vezetőkanült ültettünk az állatok jobb oldalsó agykamrájába sztereotaxiás műszer segítségével Paxinos és Watson atlasza szerint [Paxinos és Watson 2006] (koordinátái bregmához viszonyítva: A: -1.0 mm, L: 1.5 mm, V: 3.5 mm). Pár nappal az első kísérlet előtt angiotenzin II-t (Sigma, A9525, 20 ng/5 µl) jutattunk a beültetett kanülön keresztül

az állatokba. Megfelelőnek találtuk a kanül elhelyezkedését, ha a vizsgált patkány legalább 5 ml vizet fogyasztott az injekciót követő fél órában.

A krónikus vizsgálatokban legalább egy héttel a biotelemetriás rendszerhez való szoktatás kezdete után és 5-7 nappal az infúzió kezdete előtt e-mitter kapszulát (HR E-Mitter, Sunriver, OR) ültettünk intraperitoneálisan (IP) az állatokba. A szívfrekvenciát regisztráló elektródokat a mellkas falán szubkután (SC) rögzítettük. A teljes felépülést követően ICV infúziós kanül (Brain-kit, Alzet) került behelyezésre az akut kísérleteknél ismertetett koordináták szerint. A műtéttel egyidőben Alzet ozmotikus minipumpát ültettünk az állatok nyakbőre alá, melyet az infúziós kanülhöz kapcsolunk.

Minden műtéti beavatkozás IP ketamine + xylazine narkózisban történt [78 mg/kg (Calypsol, Richter) + 13 mg/kg (Sedaxylan, Eurovet)], továbbá a fertőzések megelőzésére Gentamycin injekciót használtunk (2 mg IP).

3.4. Kísérleti módszerek, rendszerek

3.4.1. CRF akut anorexigén hatásainak vizsgálata

A CRF injekció anorexigén hatásainak vizsgálatára automatizált Feedscale rendszert (Columbus, OH) használtunk, mely lehetővé tette a táplálékfelvétel 10 percnkénti regisztrálását. Az első napon reggel 9 órakor 24 órára eltávolítottuk a táplálékot a rendszerből. Öt perccel az újratáplálás kezdete előtt (a második nap szintén reggel 9 órakor) ICV CRF oldatot vagy PFS-t injektáltunk ICV az állatokba, majd 3 órán keresztül mértük a táp mennyiségi változásait.

3.4.2. Az anyagcsere és a testhőmérséklet változásainak vizsgálata CRF injekció során

Az akut termoregulációs vizsgálatokat indirekt kalorimetriás rendszerben végeztük (Oxymax, Equal Flow, Columbus, OH). A kísérletek reggel 9 és délután 3 óra között történtek, míg az adatok regisztrálására 10 percnként került sor 3 órás idő-intervallumban. A mozgásukban részlegesen korlátozott állatokat külön-külön metabolikus kamrákba helyeztük, melyek az állandó környezeti hőmérséklet biztosítására szabályozott hőmérsékletű vízfürdőbe merültek. Az oxigénfogyasztás (VO_2 , az anyagcsere indikátora) változásait indirekt kaloriméter mérte a kamrákon átáramoltatott levegőből. A colonban mért maghőmérséklet (T_c), a farokbőr- (T_s) és a környezeti hőmérséklet (T_a) meghatározására réz- konstantán termoelemeket használtunk, míg a hőmérsékleti adatokat Digi-Sense Benchtop Thermometer (Cole-Parmer) segítségével regisztráltuk. A hőleadást (heat loss index, HLI) a következőképpen számoltuk: $HLI = (T_s - T_a) / (T_c - T_a)$ [Romanovsky és Blatteis 1996]. Ha a HLI 0 értékhez közelít, hőkonzerválási folyamatok, vazokonstrikció feltételezhető, míg 1 körüli érték maximális hővesztésre, vazodilatációra utal.

3.4.3. Biotelemetriás vizsgálatok CRF infúzió során

A krónikus kísérletek során biotelemetriás rendszert használtunk (MiniMitter-VMFH series 4000, Sunriver, OR). Az IP beültetett e-mitter kapszula illetve a mellkas falán rögzített SC elektródok lehetővé tették a Tc, a szívfrekvencia (az anyagcsere indikátora) és a spontán horizontális lokomotor aktivitás vizsgálatát. Az adatokat 5 percenként regisztráltuk, majd a gyártó (MiniMitter) által biztosított VitalView software segítségével az állatok éjszakai aktív és nappali inaktív periódusának megfelelő 12-12 órában rögzített értékeket átlagoltuk. A fentiekén kívül a táplálékfelvétel és a testtömeg változásait naponta manuálisan mértük.

3.4.4. CRF génexpressziós vizsgálatok a hypothalamus paraventricularis magjában quantitative real-time polymerase chain reaction (qRT-PCR) használatával

A CRF génexpressziós vizsgálatokat a Pécsi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Karának Anatómia Intézetével és a Gyógyszertudományi Kar, Gyógyszerészi Biotechnológia Tanszékével közös együttműködésben végeztük. A felhasznált RNS izolálására korábbi vizsgálatokban leírt módon [Füredi et al. 2016] Link™ RNA Mini Kit (Life Sciences, Carlsbad CA, USA) segítségével került sor a különböző életkorú patkányok PVN mintáiból. A teljes RNS mennyiség meghatározása NanoDrop (Thermo Scientific) használatával, míg a cDNS szintézis nagy kapacitácú cDNS kit (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) segítségével történt. A CRF génexpressziójának elemzésére qRT-PCR vizsgálatot végeztünk SensiFast SYBR Green reagens (BioLine) segítségével. Az amplifikáció ABI StepOnePlus rendszerben történt, ahol a génexpresszió normalizálására glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) housekeeping gént használtunk. A PCR vizsgálat kötőményei korábbi tanulmányok alapján kerültek meghatározásra [Füredi et al. 2016], míg a termék amplifikációja $2^{-\Delta\Delta C_t}$ módszer segítségével történt.

3.4.5. Egyéb *post mortem* vizsgálatok

Az akut és a krónikus kísérletek után az állatokat túlaltattuk, agyukat fixáltuk és a beültetett kanül helyét makroszkópiusan ellenőriztük. Csak olyan állatokat használtunk az adatok elemzése során, melyekben az ICV kanül a megfelelő pozícióban volt. A krónikus kísérletek után a testösszetétel indikátorait (epididymalis és retroperitonealis zsírszövet, anterior tibialis izom) *post mortem* eltávolítottuk és súlyukat lemértük.

3.5. Statisztikai próbák

Minden állatcsoport legalább 6 patkányt foglalt magában. Az eredmények statisztikai értékelésére SPSS 11.0 for Windows programot használtunk, az általunk alkalmazott módszerek a következők voltak: one-way, two-way (univariate or repeated-measures analízis) vagy repeated-measures ANOVA Tukey's *post hoc* teszttel kiegészítve, ha több mint két csoportot hasonlítottunk össze. Az eredményeket $p < 0,05$ értéktől tekintettük statisztikailag szignifikánsnak.

4. EREDMÉNYEK

4.1. A CRF akut anorexigén hatásai különböző életkorú hím és nőstény patkányokban

Fiatal felnőtt; fiatalabb-, és öregebb középkorú hím állatokban 24 órás éhezést követően az ICV CRF injekció jelentősen csökkentette a 3 órás összesített táplálékfelvételt. Ezzel szemben az öregedő és az öreg hím patkányokban nem tapasztaltunk számottevő változásokat. Eredményeink alapján feltételezhető, hogy CRF akut centrális anorexigén hatásai az életkor előrehaladtával folyamatosan csökkennek hím patkányokban.

Nőstényekben a CRF injekciót követően a táplálékfelvétel a fiatal felnőtt csoportban csökkent a legjelentősebben, de később, az idősebb állatokban is szignifikáns anorexigén hatás érvényesült. Eredményeink alapján az ICV CRF injekció anorexigén hatásai megtartottak maradtak az általunk vizsgált nőstény korcsoportokban.

4.2. Az anyagcsere és a testhőmérséklet változásai CRF injekció során különböző életkorú hím és nőstény patkányokban

Fiatal hím patkányokban a VO_2 és a Tc értékek szignifikánsan emelkedtek a CRF injekció során, míg a HLI alapján a hőleadás kompenzatorikus fokozódása elmaradt. A fenti eredmények alátámasztják, hogy a CRF injekció koordinált hipertermiás hatást képes létrehozni, tehát a testhőmérséklet emelkedést fokozott hőtermelés és csökkent hőleadás (a vazodilatáció hiánya) révén emeli.

A CRF minden hím korcsoportban szignifikánsan emelte a maximális VO_2 -t és a Tc-t, bár az életkor előrehaladtával hatáserősségében csökkenés mutatkozott. Ezzel szemben a hőleadás vizsgálata során nem detektáltunk jelentős korfüggő eltéréseket.

Fiatal felnőtt és fiatal középkorú nőstényekben a CRF injekció szintén jelentősen emelte az anyagcserét és a testhőmérsékletet, melynek során nem jött létre vazodilatáció. Ezek a hatások az azonos korú hím patkányokhoz képest gyengébbnek bizonyultak. Ezzel szemben az idősebb nőstény korcsoportokban nem tapasztaltunk számottevő Tc vagy VO_2 változásokat. A fentiek alapján nőstény patkányokban a CRF injekció hipermetabolikus/ hipertermiás hatásai az életkor előrehaladtával folyamatosan csökkennek.

4.3. A testtömeg és a testösszetétel változásai CRF infúzió során különböző életkorú hím patkányokban

A kontroll állatok testtömeg és testösszetétel indikátor értékei a korrall munkacsoportunk korábbi vizsgálataival hasonlóan változtak [Pétervári et al. 2010], [Balaskó et al. 2013]: a fiatal felnőtt állatok testtömege jelentősen alacsonyabb volt idősebb társaikéhoz képest.

A testösszetétel indikátorai közül az epididymalis zsír mennyisége magasabbnak bizonyult a középkorú és az öregedő kontroll állatokban a legfiatalabb és a legidősebb korcsoportokhoz képest. Továbbá a retroperitoneális zsírszövet is jelentős különbséget mutatott a 2- és a 18 hónapos állatok között. A legidősebb patkányokban a tibialis anterior izom 100 g testtömegre számított értéke kifejezett izomzatvesztést, sarcopeniát jelzett, de ettől eltekintve a kontroll állatok izomtömege nem tért el egymástól jelentősen.

A 7-napos ICV CRF infúzió során a fiatal felnőttekben, valamint az öregedő és az öreg állatokban szignifikánsan csökkent a testtömeg a kontroll állatokhoz képest, szemben a középkorú csoporttal. Az infúzió végére a retroperitonealis zsírszövet kifejezett csökkenést mutatott a 18- és 24 hónapos állatokban, míg az epididymalis zsírszövet és az izomtömeg nem változott jelentősen egyik korcsoportban sem.

4.4. A CRF krónikus anorexigén hatásai különböző életkorú hím patkányokban

A CRF krónikus anorexigén hatása általában az infúzió első két napján bizonyult a legjelentősebbnek. Fiatal felnőtt állatokban az első két napon, míg az öregedő és az öreg korcsoportban 7 napon keresztül jelentkezett szignifikáns csökkenés a táplálékfelvételben. Ezzel szemben a középkorú patkányokban anorexigén hatás nem érvényesült.

A 7 napos, összesített energiabevitel alapján a CRF infúzió anorexigén hatása rövid ideig tartott és életkorfüggést mutatott, a 24 hónapos állatokban volt a legerősebb.

4.5. A biotelemetriás vizsgálatok eredményei CRF infúzió során különböző életkorú hím patkányokban

A szívfrekvencia éjszakai átlagértékei jelentősen különböztek a fiatal felnőtt hím és az idősebb korcsoportok között. Ezek az eredmények megfelelnek a korábbi megfigyeléseinknek, melyek szerint az éjszakai átlagértékek a korrallal csökkennek [Pétervári et al. 2014]. Az ICV CRF infúzió során a szívfrekvencia nappali átlagértékei (inaktív periódus) nem változtak jelentősen az életkor előrehaladtával, bár a középkorú és az idősebb állatok szívfrekvenciája enyhén megemelkedett az infúzió első napján, de ez a műtéti beavatkozásoknak tudható be.

Az infúziók előtti nappali és éjszakai átlag testhőmérséklet értékek esetében a vizsgált korcsoportok nem különböztek jelentősen egymástól. A fiatal felnőtt állatokban az infúziók első két napján szignifikánsan nőtt a testhőmérséklet a CRF-el kezelt állatokban, a kontroll patkányokhoz képest. Öregedő, CRF infúziót kapott állatokban a T_c enyhén emelkedett az infúzió első napján, mely valószínűleg szintén a műtéti beavatkozásoknak tudható be, bár a többi állatcsoportban nem jelentkezett hasonló változás.

Az aktivitás fiatal felnőtt patkányokban enyhe, a szignifikáns értéket nem elérő csökkenést mutatott az infúzió második napján, máskülönben az aktivitást a CRF nem befolyásolta.

4.6. CRF génexpresszió a hypothalamus paraventricularis magjában hím patkányokban az életkor függvényében

A qRT-PCR vizsgálatok során a CRF mRNS expresszió jelentős életkorfüggő különbségeket mutatott a PVN-ben hím patkányokban. Az öregedő korcsoportig szignifikánsan nőtt a CRF mRNA expresszió, majd az öreg, 24 hónapos állatokban enyhe csökkenés mutatkozott. A *post hoc* analízis kifejezett különbséget mutatott ki a fiatal és az öregedő korcsoportok génexpressziója között, továbbá a középkorú és az öregedő állatok esetében is növekvő tendencia jelentkezett.

5. MEGBESZÉLÉS, KÖVETKEZTETÉSEK

5.1. A CRF akut anorexigén hatásai az életkor és a nem függvényében

Az ICV CRF injekció kifejezett anorexigén hatást hozott létre a fiatal felnőtt, fiatal- és idősebb középkorú hím csoportokban 24 órás éhezést követő nappali újratáplálás során. Ezzel ellentétben öreg állatokban nem találtunk hasonló, számottevő változásokat. A fenti, korfüggő mintázat különbözik az alpha- MSH és a leptin injekció során tapasztaltakétól [Pétevári et al. 2010] [Rostás et al. 2016]. Eredményeink alapján a CRF akut centrális anorexigén hatásai hím patkányokban nem játszanak jelentős szerepet a testtömeg hosszútávú szabályozásában megfigyelt tendenciákban, szemben a leptinnel vagy az alpha- MSH-val.

A CRF2 receptor fontos szerepet tölthet be a fent említett eredményeinkben, hiszen az irodalmi adatok többé ezt a receptort tartja számon a CRF anorexigén hatásainak fő mediátoraként [Cullen et al. 2001], [Ohata és Shibasaki 2004], [Stengel és Taché 2014]. Ezzel szemben a CRF1 receptor is képes gyenge anorexigén hatás létrehozására, bár ez főképp érzelmi stresszhelyzetekhez köthető [Hotta et al. 1999]. Továbbá a CRF1 aktivációja során emelkedik a plasma corticosteron szint is, mely a táplálékfelvétel növekedéséhez vezethet [Chrousos 2000]. Így eredményeink alapján feltételezhető, hogy a CRF2 receptor nem játszik jelentős szerepet a korfüggő testtömeg változások kialakításában hím patkányokban.

Nőstény állatokban a CRF anorexigén hatása az összes korcsoportban jelentős maradt. Ez a folyamatos anorexigén hatás nem okozott kifejezett testtömeg csökkenést az állatokban, de hozzájárulhat a gyors testtömeg növekedés hiányához középkorú és idősebb nőstényekben. Ennek ellenére nem zárható ki, hogy az általunk vizsgáltknál idősebb korcsoportokban (pl. 30 hónapos nőstényekben) jelentősen csökkenne a táplálékfelvétel és a testtömeg a megtartott anorexigén válaszkészségnek köszönhetően. Összefoglalásképpen, Wistar patkányokban a CRF akut centrális anorexigén hatása kor- és nem- függő különbségeket mutatott: hímekben a korról csökkent, míg nőstényekben megtartott maradt az életkor előrehaladtával.

5.2. A CRF akut hipermetabolikus/hipertermiás hatásai az életkor és a nem függvényében

Az ICV CRF injekció gyors VO_2 és folyamatos T_c emelkedést hozott létre fiatal felnőtt hím patkányokban, mellyel egyidőben a fokozott hőleadás hiányzott. Ez a termoregulációs válasz hasonlít a láz során tapasztalt koordinált hipertermiához [Balaskó et al. 2013]. Az irodalmi adatok igen ellentmondásosak ezen a téren, egyes tanulmányok megerősítik, mások cáfolják a prosztaglandinok szerepét a CRF testhőmérséklet- emelő hatásaiban [Telegdy és Adamik 2008], [Figueiredo et al. 2010]. Mindezekkel ellentétben a peptid lázcsökkentő hatása is ismert [Holdeman et al. 1985], bár jelen kísérleteink inkább a koordinált hipertermiás hatást támasztják alá.

Hímekben a CRF akut hipermetabolikus/hipertermiás hatása a korról csökkent, bár az összes korcsoportban szignifikáns maradt. Ez a korfüggő mintázat hasonlít a centrális leptin injekció során tapasztaltakéhoz [Rostás et al. 2016] és hozzájárulhat a középkorúakban megjelenő elhízáshoz. A CRF hipermetabolikus hatásait főképp a CRF1 receptor mediálja [Figueiredo et al. 2010], így ez a receptor típus fontos szerepet tölthet be a testtömeg hosszútávú, korfüggő változásaiban is.

Fiatal nőtény patkányokban a CRF injekció jóval enyhébb hipermetabolikus választ váltott ki, mint hímeiben, mely jelenség nem magyarázható a fiatal nőtények alacsonyabb hőtermelő kapacitásával. Korábbi tanulmányokból ismert, hogy toxikus anyagok nőtény és hím patkányokban hasonló változást képesek létrehozni a testhőmérsékletben [Gordon és Mack 2003], továbbá a barna zsírszövet hőtermelési kapacitása még magasabb is nőtény állatokban [Justo et al. 2005].

5.3. A CRF krónikus hatásai a testtömegre és a testösszetételre hímeiben az életkor függvényében

Az ICV CRF infúzió szignifikánsan csökkentette a fiatal felnőtt patkányok testtömegét, bár a legöregebb (18-, 24 hónapos) korcsoportokban nagyobb súlyvesztést tapasztaltunk. Ezzel szemben a középkorú állatokban a testtömeg nem változott jelentősen CRF hatására. A fenti mintázat hasonlóságot mutat az alpha-MSH és a leptin infúzió során tapasztalt változásokhoz [Pétevári et al. 2011b], [Pétevári et al. 2014] és felveti a CRF lehetséges szerepét a testtömeg hosszútávú szabályozásában.

Az ICV CRF infúzió szignifikánsan csökkentette a fiatal felnőtt hím patkányok testtömegét, bár a legnagyobb súlyvesztést a legöregebb (18-, 24 hónapos) korcsoportokban tapasztaltuk. Ezzel szemben a középkorú állatokban a testtömeg nem változott jelentősen CRF hatására. A fenti kor-függő mintázat hasonlóságot mutat az alpha-MSH és a leptin infúzió során tapasztalt változásokhoz [Pétevári et al. 2011b], [Pétevári et al. 2014] és felveti a CRF lehetséges szerepét a testtömeg hosszútávú szabályozásában.

A testösszetétel indikátorai legjelentősebben az öregedő és az öreg állatokban változtak a CRF infúzió során: a retroperitoneális zsírszövet mennyisége szignifikánsan csökkent az infúzió végére mindkét korcsoportban. Az epididymális zsírszövet nem változott szignifikánsan egyik korcsoportban sem. Habár korábbi vizsgálatok szerint a CRF infúzió csökkenti a zsírtömeget fiatal felnőtt állatokban [Arase et al. 1988], [Cullen et al. 2001], jelen kísérleteinkben nem tapasztaltunk számottevő változást a fiatal vagy a középkorú csoportokban. Ismert, hogy a CRF1 receptor fokozott aktivitása zsírfelhalmozódást okoz [Cullen et al. 2001], így vizsgálatunkban a zsírtömeg növekedésének hiánya felveti a CRF2 receptor szerepét.

Az izomtömeg indikátorait nem befolyásolta jelentősen a CRF infúzió. A sarcopenia hiánya a CRF-el kezelt csoportokban arra utalhat, hogy a HPA tengely aktiváció és a perifériás corticosteron emelkedése (mely az izomtömeget csökkenti) [Kayali et al. 1987] [Rivest et al. 1989], [Cullen et al. 2001] nem befolyásolta jelentősen eredményeinket. Másrészt a CRF testtömeg-csökkentő hatásainak öreg kori felerősödése részben a perifériás glucocorticoid szint idős kori csökkenésével magyarázható [Rebuffat et al. 1992].

5.4. A CRF krónikus anorexigén hatásai hímeiben az életkor függvényében

A CRF infúzió anorexigén hatása rövidnek bizonyult a legfiatalabb korcsoportban, míg erős és tartós volt az öregedő és az öreg állatokban. Mindez alátámasztja a CRF lehetséges szerepét az időskori anorexia kialakulásában, továbbá nem cáfolja a peptid hozzájárulását a középkorúakban megjelenő elhízáshoz. A CRF krónikus anorexigén hatásainak életkorfüggő

mintázata hasonlít aktivátorai, így az alpha- MSH és a leptin infúziója során tapasztalt korfüggő eltérésekhez [Pétervári et al. 2011a], [Pétervári et al. 2014].

Mivel a CRF a HPA tengelyt is aktiválja, felmerül a kérdés, hogy a perifériás corticosteron szint következményes emelkedése [Rivest et al. 1989], [Cullen et al. 2001] hozzájárulhat-e a CRF energetikai hatásaihoz. Korábbi vizsgálatok alátámasztják, hogy 13-napos CRF infúzió képes megemelni a szérumban a corticosteron szintet [Rivest et al. 1989], [Cullen et al. 2001], mindamelllett a CRF injekció akár még hypophysectomizált patkányokban is képes a táplálékfelvételt csökkenteni [Morley és Levine 1982]. Ezek az eredmények is cáfolják a corticosteronok elengedhetetlen szerepét a CRF hatásaiban. Továbbá ismert, hogy a corticosteron növeli a táplálékfelvételt a CRF gátlása és orexigén (táplálékfelvétel-növelő) anyagok aktivációja révén [Chrousos 2000]. Így a corticosteron csökkent felszabadulása a mellékvesekéregből idős korban [Rebuffat et al. 1992] hozzájárulhat a CRF fokozott anorexigén hatásához az általunk vizsgált öreg hím állatcsoportokban.

A CRF infúzió anorexigén hatásainak korfüggésében számos egyéb faktor is szerepet játszhat, így a különféle CRF receptorok aktivitásának változásai is. Mivel az anorexigén hatás fő mediátora a CRF2 receptor [Cullen et al. 2001], [Ohata és Shibasaki 2004], [Stengel és Taché 2014], így felvetődik a CRF2 receptorok szerepe a fent említett folyamatokban.

5.5. A CRF krónikus anyagcseréjé, a testhőmérsékletet és az aktivitásra az hímekben életkor függvényében

Fiatal felnőtt állatokban a CRF infúzió átmeneti, enyhe hipertermiás hatást hozott létre, míg az öregebb állatokban nem befolyásolta jelentősen a Tc-t. A szívfrekvencia egyik korcsoportban sem változott szignifikánsan az infúzió során.

A centrális leptin és alpha-MSH infúzió hipertermiás/hipermetabolikus hatásai jelentősen különböztek a CRF infúzió során tapasztaltakétól [Pétervári et al. 2011b], [Pétervári et al. 2014]. A CRF, bár az alkalmazott dózis képes volt anorexigén hatások kiváltására, sokkal gyengébb hipermetabolikus változásokat hozott létre, mint a leptin vagy az alpha- MSH hasonló (anorexigén hatást kiváltó) dózisban [Pétervári et al. 2011a], [Pétervári et al. 2014]. A hipermetabolikus hatások nem mutatottak számottevő életkorfüggést sem.

A szívfrekvencia növekedésének hiánya a CRF infúzió során a CRF2 receptor aktivációjára utalhat. Korábbi tanulmányok alapján a CRF injekció szívfrekvencia emelkedést képes létrehozni a CRF1 receptor segítségével [Nijssen et al. 2000], míg a CRF2 receptor specifikus agonistái bradycardiát okozhatnak [Nakamura et al. 2009]. A fentiek alapján feltételezhetjük, hogy a CRF1 és a CRF2 receptor kölcsönösen kioltják egymás szívfrekvenciát befolyásoló hatásait a CRF infúzió során.

A műtéti megterhelés okozta eltérésektől eltekintve a spontán horizontális lokomotor aktivitás nem változott számottevően CRF, alpha- MSH vagy leptin infúzió hatására [Pétervári et al. 2011a], [Pétervári et al. 2014]. Ismert, hogy a CRF1 receptor növeli [Contarino et al. 2000], míg a CRF2 csökkenti az aktivitást [Ohata és Shibasaki 2004], így kísérleteink során az aktivitás változásainak hiánya e két receptor kölcsönhatására utalhat.

5.6. CRF génexpressziójának változása a hypothalamus paraventricularis magjában hímekben az életkor függvényében

Vizsgálataink alapján a CRF génexpressziója emelkedést mutatott a kor előrehaladtával 18 hónapos korig. Eredményünk összhangban van a korábbi tanulmányok többségével, melyek idős korban megtartott vagy akár emelkedett CRF szintet mutattak ki [Bao és Swaab 2007], [Aguilera 2011] és alátámasztják a CRF lehetséges szerepét az időskori anorexiában.

6. ÖSSZEFOGLALÁS, ÚJ EREDMÉNYEK

I. Új eredmények az akut kísérletek során:

- Az ICV CRF injekció táplálékfelvétel- csökkentő hatásai az életkor előrehaladtával mind hím, mind nőstény Wistar patkányokban folyamatosan csökkentek, habár a nőstény állatokban az anorexigén hatás mindvégig szignifikáns szinten megtartott maradt.
- A hipermetabolikus hatásokat nézve mindkét nemben azonos, az életkor előrehaladtával csökkenő tendencia mutatkozott, mindazonáltal a hím állatokban a válaszkészség az öreg korcsoportokban is szignifikáns maradt.
- Az akut CRF hatások korfüggése többnyire eltért az alpha-MSH- és leptin injekció során tapasztalt életkorfüggő mintázattól, egyedül a hipermetabolikus válaszkészség korfüggő csökkenése mutatott hasonlóságot a centrális leptin injekcióra jellemző tendenciával.
- Nőstény állatokban, az öregebb korcsoportokban is megtartott anorexigén válaszkészség nagyban hozzájárulhat a középkorú elhízás hiányához és a későbbi, öregkori testtömeg- csökkenéshez. Ezzel szemben hímekben hasonló összefüggések nem figyelhetők meg.
- Nemcsak fiatal, de öreg hím állatokban is jelentős hipermetabolikus hatás mutatkozott CRF hatására, ami hozzájárulhat hímekben az öregkori testsúlyvesztéshez.

II. Új eredmények a krónikus kísérletek során:

- Az ICV CRF infúzió jelentős táplálékfelvétel- és testtömeg-csökkenéshez vezetett fiatal, öregedő és öreg állatokban, szemben a középkorú társaikkal.
- AZ ICV CRF infúzió hipermetabolikus/hipertermiás hatásaiban jelentős életkorfüggő változás nem mutatkozott.
- A hipermetabolikus/hipertermiás hatásokkal szemben, a CRF infúzió során a testtömeg- és a testösszetétel változásai a centrális melanocortin és leptin infúzió esetében tapasztalt korfüggő mintázathoz hasonlóan bizonyultak.
- Eredményeink alapján a CRF infúzió életkorfüggő anorexigén válaszkészség-eltérései hozzájárulhatnak az időskori anorexiához és az ezt követő testtömeg-csökkenéshez.

III. Új eredmények a CRF génexpresszió vizsgálatok során hím patkányokban:

- A CRF génexpresszió a PVN-ben jelentősen nőtt a 18 hónapos korcsoportig, míg később, a 24 hónapos hím patkányokban enyhe csökkenés mutatkozott.
- A CRF génexpresszió ezen életkorfüggő változásai hozzájárulhatnak az idősekben megfigyelhető anorexiához.

7. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Mindenekelőtt szeretnék köszönetet mondani témavezetőmnek, Balaskó Mártának, aki TDK-, majd PhD hallgatóként megismertette és megszerettette velem a tudományos munka világát. Nagyon hálás vagyok az elmúlt 7 évben nyújtott nélkülözhetetlen segítségéért, ösztönzéséért, támogatásáért és a rengeteg rám fordított időért, energiáért.

Köszönetemet szeretném kifejezni Székely Miklós Professzor Úrnak értékes iránymutatásaiért és kivételes oktatói, kutatói példájáért.

Ezúton is szeretnék köszönetet mondani Hegyi Péter és Koller Ákos Professzor Uraknak, valamint Garai János Docens Úrnak, akik támogattak és lehetőséget biztosítottak számomra, hogy az intézetben dolgozhassak.

Köszönettel tartozom Pétervári Erikának, hogy az elmúlt években végigkövette és hasznos tanácsaival segítette munkámat.

Külön szeretnék köszönetet mondani Rostás Ildikónak a közös munkáért és azt, hogy nemcsak munkatársként, de barátként is támogattott és biztatott az elmúlt évek során.

Nagyon hálás vagyok Gáspárné Koncsecskó Margitnak, Kissné Bóka Adriennek, Mihálffyné Jech Andreának és Sós Évának a kísérletek kivitelezésében nyújtott segítségükért, valamint Kocsisné Halas Ágnesnek és Szűcs Istvánnának nélkülözhetetlen adminisztratív munkájukért.

Szeretném megköszönni a kutatócsoport további tagjainak Solymár Margitnak, Soós Szilviának, Garami Andrásnak és Mikó Alexandrának, hogy szakmai tanácsaikkal, észrevételeikkel hozzájárultak a munkámhoz.

Köszönet illeti Gaszner Balázst, Füredi Nórát és Feller Diánát a mintavételek során és a génexpressziós vizsgálatokban nyújtott segítségükért.

Nem lehetek elég hálás a szüleimnek és a bátyámnak, hogy minden helyzetben mellettem álltak és bátorítottak, valamint férjemnek az odaadó támogatásért, szeretetéért és a végtelen türelméért.

8. IRODALOMJEGYZÉK

1. **Aguilera G.** *Exp Gerontol.* 2011;46:90-95.
2. **Arase K, York DA, Shimizu H et al.** *Am J Physiol.* 1988;255:255-259.
3. **Bale TL, Vale WW.** *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2004;44:525-557.
4. **Bao AM, Swaab DF.** *Neuroendocrinology.* 2007;85:27-36.
5. **Balaskó et al.** *Exp. Gerontol.* 2013;48(11):1180-1188.
6. **Buwalda B, de Boer SF, Van Kalkeren AA, et al.** *Psychoneuroendocrinology.* 1997;22:297-309.
7. **Carlin KM, Vale WW, Bale TL.** *Proc Natl Acad Sci USA.* 2006;103:3462-3467.
8. **Chrousos GP.** *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2000;24:S50-55.
9. **Contarino A, Dellu F, Koob GF et al.** *Endocrinology.* 2000;141:2698-2702.
10. **Crespi EJ, Vaudry H, Denver RJ.** *J Neuroendocrinol.* 2004;16(3):279-288.
11. **Cullen MJ, Ling N, Foster AC et al.** *Endocrinology.* 2001;142:992-999.
12. **De Souza EB.** *Psychoneuroendocrinology.* 1995;20(8):789-819.
13. **Di Francesco V, Fantin F, Omizzolo F et al.** *Dig Dis.* 2007;25:129-137.
14. **Fekete C, Légrádi G, Mihály E et al.** *Neurosci Lett.* 2000;289(2):152-156.
15. **Fekete EM, Zorrilla EP.** *Front Neuroendocrinol.* 2007;28(1):1-27.
16. **Figueiredo MJ, Fabricio AS, Machado RR et al.** *Regul Pept.* 2010;165(2-3):191-199.
17. **Füredi N, Mikó A, Aubrecht B et al.** *J Mol Neurosci.* 2016;59(4):521-530.
18. **Gordon CJ, Mack CM.** *J Toxicol Environ Health A.* 2003;66(3):291-304.
19. **Hashimoto K, Makino S, Asaba et al.** *Endocr J.* 2001;48(1):1-9.
20. **Heinrichs SC, Richard D.** *Neuropeptides.* 1999 Oct;33(5):350-9.
21. **Heinrichs SC, Joppa M, Lapsansky J et al.** *Physiol Behav.* 2001;74(1-2):5-13.
22. **Holdeman M, Khorram O, Samson WK et al.** *Am J Physiol.* 1985;248:125-129.
23. **Hotta M, Shibasaki T, Arai K et al.** *Brain Res.* 1999;823:221-225.
24. **Janssen D, Kozicz T.** *Front Endocrinol (Lausanne).* 2013;4:28.
25. **Justo R, Frontera M, Pujol E et al.** *Life Sci.* 2005;76(10):1147-1158.
26. **Kayali AG, Young VR, Goodman MN.** *Am J Physiol.* 1978;252:621-626.
27. **Koob GF.** *Curr Top Behav Neurosci.* 2013;13:3-30.
28. **LeFeuvre RA, Rothwell NJ, Stock MJ.** *Neuropharmacology.* 1987;26:1217-1221.
29. **Morin SM, Ling N, Liu XJ et al.** *Neuroscience.* 1999;92:281-291.
30. **Morley JE, Levine AS.** *Life Sci.* 1982;31:1459-1464.
31. **Morley JE.** *Endocr Rev.* 1987;8(3):256-287.
32. **Morley JE.** *Nutrition.* 2001;17(7-8):660-663.
33. **Nakamura T, Kazumi K, Sapru HN.** *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2009;296:H325-H332.
34. **Nijssen MJ, Croiset G, Stam R et al.** *Neuropsychopharmacology.* 2000;22:388-399.
35. **Ohata H, Shibasaki T.** *Peptides.* 2004;25:1703-1709.
36. **Palkovits M.** *Ideggyogy Sz.* 2003;56(9-10):288-302.
37. **Paxinos G, Watson C.** 6th ed. New York: Academic; 2006.
38. **Perrin MH, Vale WW.** *Ann N Y Acad Sci.* 1999;885:312-328.
39. **Pétervári E, Garami A, Soós S et al.** *Neuropeptides.* 2010;44:315-322.
40. **Pétervári E, Soós S, Székely M et al.** *Curr Protein Pept Sci.* 2011a;12:316-324.

41. **Péte**rvári E, Szabad AO, Soós S et al. Regul Pept. 2011b;166:105-111.
42. **Péte**rvári E, Rostás I, Soós S et al. Peptides. 2014;56:59-67.
43. **Rebuffat** P, Belloni AS, Rocco S et al. Cell Tissue Res. 1992;270:265-272.
44. **Péte**rvári E, Rostás I, Soós S et al. Peptides. 2014;56:59-67.
45. **Reul** JM, Holsboer F. Dialogues Clin Neurosci. 2002;4:31-46.
46. **Richard** D, Lin Q, Timofeeva E. Eur J Pharmacol. 2002;440(2-3):189-197.
47. **Rivest** S, Deshaies Y, Richard D. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. 1989;257:1417-1422.
48. **Romanovsky** AA, Blatteis CM. J Appl Physiol. 1996;81(6), 2565-2570.
49. **Rostás** I, Füredi N, Tenk J et al. J Therm Biol. 2015;49-50:9-15.
50. **Rostás** I, Tenk J, Mikó A et al. Exp Gerontol. 2016;85:118-127.
51. **Seeley** RJ, Matsun CA, Chavez M et al. 1996;271:819-823.
52. **Semjonous** NM, Smith KL, Parkinson JR et al. Int J Obes. 2009;33(7):775-785.
53. **Stengel** A, Taché Y. Front Neurosci. 2014;8:52.
54. **Székely** M, Szelényi Z. Curr Protein Pept Sci. 2005;6:327-353.
55. **Telegdy** G, Adamik A. Peptides. 2008;29(11):1937-1942.
56. **Valassi** E, Scacchi M, Cavagnini F. Nutr Metab Cardiovasc Dis. 2008;18:158-168.
57. **Van Pett** K, Viau V, Bittencourt JC al. J Comp Neurol. 2000;428:191-212.
58. **Wilding** JP. Diabet Med. 2002;19(8):619-627.
59. **Zorrilla** EP, Reinhardt LE, Valdez GR et al. J Pharmacol Exp Ther. 2004;310(3):1027-34.

9. PUBLIKÁCIÓS LISTA ÉS ELŐADÁSOK

9.1. Az értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. **Judit Tenk**, Ildikó Rostás, Nóra Füredi, Alexandra Mikó, Szilvia Soós, Margit Solymár, Balázs Gaszner, Diána Feller, Miklós Székely, Erika Pétervári, Márta Balaskó: Acute central effects of corticotropin- releasing factor (CRF) on energy balance: effects of age and gender. *Peptides*. 2016;85:63-72. **IF: 2.778**
2. **Judit Tenk**, Ildikó Rostás, Nóra Füredi, Alexandra Mikó, Margit Solymár, Szilvia Soós, Balázs Gaszner, Diána Feller, Miklós Székely, Erika Pétervári, Márta Balaskó: 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** (in 2016)

9.2.Egyéb, az értekezés alapjául nem szolgáló közlemények

1. Márta Balaskó, Ildikó Rostás, Nóra Füredi, Alexandra Mikó, **Judit Tenk**, Péter Cséplő, Margit Koncsecskó-Gáspár, Szilvia Soós, Miklós Székely, Erika Pétervári: Age and nutritional state influence the effects of cholecystokinin on energy balance. *Experimental Gerontology*. 2013;48:1180-1188. **IF: 3.529**
2. Erika Pétervári, Ildikó Rostás, Szilvia Soós, **Judit Tenk**, Alexandra Mikó, Nóra Füredi, Miklós Székely, Márta Balaskó. Age versus nutritional state in the development of central leptin resistance. *Peptides*. 2014;56:59-67. **IF: 2.618**
3. Alexandra Mikó, Péter Balla, **Judit Tenk**, Márta Balaskó, Szilvia Soós, Miklós Székely, Susanna Brunner, Barbara Kofler, Erika Pétervári. Thermoregulatory effect of alarin, a new member of the galanin peptide family. *Temperature (Austin)*. 2014;1(1):51-56.
4. Ildikó Rostás, Nóra Füredi, **Judit Tenk**, Alexandra Mikó, Margit Solymár, Szilvia Soós, Miklós Székely, Erika Pétervári, Márta Balaskó. Age-related alterations in the central thermoregulatory responsiveness to alpha-MSH. *Journal of Thermal Biology*. 2015;49-50:9-15. **IF: 1.621**
5. Nóra Füredi, Alexandra Mikó, Bianka Aubrecht, Balázs Gaszner, Diána Feller, Ildikó Rostás, **Judit Tenk**, Szilvia Soós, Márta Balaskó, András Balogh, Marianna Pap, Erika Pétervári. Regulatory Alterations of Energy Homeostasis in Spontaneously Hypertensive Rats (SHR). *J Mol Neurosci*. 2016;59(4):521-530. **IF:2.229**
6. Alexandra Mikó, Nóra Füredi, **Judit Tenk**, Ildikó Rostás, Szilvia Soós, Margit Solymár, Miklós Székely, Márta Balaskó, Susanna Brunner, Barbara Kofler, Erika Pétervári. Acute central effects of alarin on the regulation on energy homeostasis. *Neuropeptides*. 2016;S0143-4179(16):30087-30097. **IF:2.486**

7. **Judit Tenk**, Péter Mátrai, Péter Hegyi, Ildikó Rostás, András Garami, Imre Szabó, Margit Solymár, Erika Pétervári, József Czimmer, Katalin Márta, Alexandra Mikó, Nóra Füredi, Andrea Párniczky, Csaba Zsiborás, Márta Balaskó. 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**
8. Csaba Zsiborás, Róbert Mátics, Péter Hegyi, Márta Balaskó, Erika Pétervári, Imre Szabó, Patricia Sarlós, Alexandra Mikó, **Judit Tenk**, Ildikó Rostás, Dániel Pécsi, András Garami, Zoltán Rumbus, Orsolya Huszár, Margit Solymár. Capsaicin and capsiate could be appropriate agents for treatment of obesity: a meta-analysis of human studies. Crit Rev Food Sci Nutr. doi: 10.1080/10408398.2016.1262324. [Epub ahead of print] **IF:6.077**
9. Ildikó Rostás, **Judit Tenk**, Alexandra Mikó, Nóra Füredi, Szilvia Soós, Margit Solymár, Anna Lengyel, Miklós Székely, Balázs Gaszner, Diána Feller, Erika Pétervári, Márta Balaskó. Age-related changes in acute central leptin effects on energy balance are promoted by obesity. *Exp Gerontol.* 2016;85:118-127. **IF: 3.340**
10. Zoltán Rumbus , Róbert Mátics, Péter Hegyi, Csaba Zsiborás, Imre Szabó, Anita Illés, Erika Pétervári, Márta Balaskó, Katalin Márta, Alexandra Mikó, Andrea Parniczky, **Judit Tenk**, Ildikó Rostas, Margit Solymár, András Garami. Fever Is Associated with Reduced, Hypothermia with Increased Mortality in Septic Patients: A Meta-Analysis of Clinical Trials. PLoS One. 2017;12;12(1):e0170152. **IF: 2.806** (in 2016)

Összesített impact factor: 32.413

Hivatkozások: 35

Független hivatkozások: 15

9.3.Az értekezéssel összefüggő előadások, poszterprezentációk

1. **Tenk J.** A CRF hatása energetikai folyamatokban. IV. Grastyán Endre Szakkollégium Intézményi Konferencia 2010, Pécs
2. **Tenk J.** A corticotropin- releasing factor életkorfüggő hatásai az energia háztartás egyes paramétereire PTE ÁOK Házi Tudományos Diákköri Konferencia 2011, Pécs
3. **Tenk J.** A corticotropin- releasing factor anyagcsere folyamatokban betöltött szerepe az életkor függvényében. III. Nemzetközi IX. Országos Interdiszciplinális Grastyán Konferencia 2011, Pécs
4. **Tenk J.** A corticotropin- releasing factor életkorfüggő hatásai az energia háztartás egyes paramétereire. XVI. Korányi Frigyes Tudományos Fórum 2011, Budapest
5. Pétervári E, **Tenk J**, Balogh Z, Soós Sz, Balaskó M, Székely M. Age- related shifts in the responsiveness to corticotropin- releasing factor (CRF) energy homeostasis. FAME 2011, Pécs 2011.
6. **Tenk J**, Lőrincz O. A corticotropin- releasing factor életkorfüggő hatásai az energia háztartásban. PTE Minősítő Konferencia - TÁMOP 4.2.3. „Nyitott Egyetem- a PTE tudásbázisának disszeminációja” 2011, Pécs

7. **Tenk J**, Lőrincz O, Soós S, Székely M, Pétervári E, Balaskó M. Disparate age-associated alterations in corticotropin effects on energy homeostasis. IBRO International Workshop 2012, Szeged
8. **Tenk J**, Mikó A, Füredi N, Lőrincz O: Age- associated alterations in corticotropin effects on energy homeostasis are disparate. CROSS, 8th International Biomedical Croatian Student Summit 2012, Zágráb
9. Balaskó M, **Tenk J**, Soós Sz, Jech-Mihalffy A, Székely M, Pétervári E: The central effects of corticotropin releasing factor (CRF) on energy homeostasis show disparate shifts in the course of aging. BPS Focused Meeting on Neuropeptides 2012, London
10. Balaskó M, **Tenk J**, Polotzek SBF, Jech- Mihalffy A, Soós Sz, Székely M, Pétervári E. Age-related disparate shifts in the central anorexic and hypermetabolic effects of corticotropin releasing factor (CRF). The Eleventh International Symposium on Neurobiology and Neuroendocrinology of Aging 2012, Bregenz
11. **Tenk J**, Füredi N. Disparate age-associated alterations in corticotropin effects on energy homeostasis. 5th HMAA, Balatonfüred Amerikai Magyar Orvosszövetség Konferenciája 2012, Balatonfüred
12. **Tenk J**, Rostás I, Füredi N. Age-related shifts in the responsiveness to corticotropin-releasing factor (CRF) affecting energy homeostasis János Szentágothai Memorial Conference and Student Competition 2012, Pécs
13. **Tenk J**, Füredi N, Mikó A. Korfüggő eltérések a corticotropin-releasing factor (CRF) akut centrális energetikai hatásaiban. PTE ÁOK TDK Konferencia 2012, Pécs
14. **Tenk J**, Füredi N. Disparate age- associated alterations in acute corticotropin effects on energy homeostasis. CROSS, 9th International Biomedical Croatian Student Summit 2013, Zágráb
15. **Tenk J**, Mikó A, Füredi N. Korfüggő eltérések a corticotropin-releasing factor (CRF) akut centrális energetikai hatásaiban. XXXI. Országos Tudományos Diákköri Konferencia, Orvos- és Egészségtudományi Szekció 2013, Szeged
16. **Tenk J**. A corticotropin-releasing factor (CRF) akut életkorfüggő hatásai az energia háztartásban. V. Nemzetközi XI. Országos Interdiszciplinális Grastyán Konferencia 2013, Pécs
17. Balaskó M, **Tenk J**, Rostás I, Gáspár-Koncsecskó M, Soós Sz, Székely M., Pétervári E. Age-related pattern of acute effects corticotropin-releasing factor on energy balance. X. Congress European Neuropeptide Club Summer Neuropeptide Conference Polish Society of Veterinary Science 2013, Gdynia
18. Balaskó M, **Tenk J**, Mikó A, Gáspár- Koncsecskó M, Soós Sz, Székely M, Pétervári E. Korfüggő eltérések a corticotropin- releasing factor (CRF) akut centrális energetikai hatásaiban. Magyar Élettani, Farmakológiai és Mikrocirkulációs Társaságok 2013. évi közös Tudományos Kongresszusa 2013, Budapest
19. **Tenk J**. Age-related shifts in acute central corticotropin effects on energy homeostasis. Amerikai Magyar Orvosszövetség (HMAA) Hungary Chapter Conference 2013, Balatonfüred
20. **Tenk J**. Age-associated alterations in acute corticotropin effects on energy homeostasis. 2nd International Doctoral Workshop on Natural Sciences 2013, Pécs

21. Balaskó M., **Tenk J**, Mikó A, Gaspar- Koncsecsko M, Soós Sz, Székely M, Pétervári E. Age-associated alterations in the acute effects of corticotropin- releasing factor (CRF) on energy balance. Periodicum Biologorum- 3rd Congress of Croatian Physiological Society and 1st Regional Congress of the Physiological Societies 2013, Rijeka
22. **Tenk J**, Rostás I, Pétervári E, Soós Sz, Székely M, Balaskó M. A corticotropin-releasing factor életkorfüggő hatásai az energia háztartásban. Egymást értő szakemberek nemzetközi konferencia 2013, Budapest
23. **Tenk J**, Rimai T, Varga E, Rostás I, Soós Sz, Székely M, Balaskó M. Age-associated alterations in the acute central effects of corticotropin-releasing factor (CRF) on energy balance. IBRO International Workshop 2014, Debrecen
24. **Tenk J**, Rostás I. A corticotropin-releasing factor életkorfüggő akut centrális hatásai az energia háztartásban. XIX. Korányi Frigyes Tudományos Fórum 2014, Budapest
25. **Tenk J**, Szakács Zs, Rostás I, Soós Sz, Pétervári E, Balaskó M. Age-related alterations in acute central corticotropin effects regarding the parameters of energy balance. YES Meeting- 9th Young European Scientist Meeting 2014, Porto
26. **Tenk J**. Korfüggő eltérések a corticotropin-releasing factor akut centrális energetikai hatásaiban. Pécsi Tudományegyetem Idegtudományi Centrum és Szentágotthai János Kutatóközpont PhD és TDK konferenciája 2014, Pécs
27. **Tenk J**, Szakács Zs, Pilisi R, Rostás I, Balaskó M. Corticotropin releasing factor (CRF) in age-related metabolic dysregulation. Third International Symposium on Hypertension 2014, Eszék
28. **Tenk J**, Pagáts R, Rostás I, Soós Sz, Pétervári E, Székely M, Balaskó M. Age related shifts in the responsiveness to corticotropin-releasing factor concerning energy homeostasis. 5th Central European Congress on Obesity 2015, Budapest

9.4. Egyéb, az értekezéssel nem összefüggő előadások, poszterprezentációk

1. László K, **Tenk J**, Tóth K, Kertes E, Ollmann Ts, Péczely L, Lénárd L. Intraamygdaloid neurotensin-1 receptor és dopamin D2 receptor szerepe helytanulási folyamatok szabályozásában. Magyar Élettani Társaság LXXIV. Vándorgyűlése 2010, Szeged
2. Lőrincz O, **Tenk J**. A testösszetétel és életkor hatásai az energia-háztartás szabályozására: a leptin szerepe. PTE Minősítő Konferencia - TÁMOP 4.2.3. „Nyitott Egyetem- a PTE tudásbázisának disszeminációja” 2011, Pécs
3. Lőrincz O, **Tenk J**. A leptinnel végzett kísérletek és módszerei. Grastyán Endre Szakkollégium által szervezett: Fiatal kutatók a magyar tudományért Konferencia 2011, Pécs
4. Lőrincz O., **Tenk J**., Polotzek SBF, Soós Sz., Balaskó M., Székely M.: Hypothalamic thermoregulatory effects of leptin depend on age and body composition. IBRO International Workshop 2012, Szeged
5. Füredi N, **Tenk J**, Mikó A. Age-associated alterations in cholecystokinin effects concerning energy balance are disparate. CROSS, 8th International Biomedical Croatian Student Summit 2012, Zágráb

6. Mikó A, Füredi N, **Tenk J**. Complex changes in the energy homeostasis of spontaneously hypertensive rats (SHR). CROSS, 8th International Biomedical Croatian Student Summit 2012, Zágráb
7. Füredi N, **Tenk J**. Disparate age-related alterations in cholecystokinin (CCK) effects on energy homeostasis. 5th HMAA, Balatonfüred Amerikai Magyar Orvosszövetség Konferenciája 2012, Balatonfüred
8. Füredi N, Mikó A, **Tenk J**. Complex changes in energy homeostasis of spontaneously hypertensive rats (SHR). 22nd Annual BioCity Symposium 2012, Turku
9. Füredi N, **Tenk J**, Rostás I. Central and peripheral effects of cholecystokinin (CCK) on food intake during the course of aging. János Szentágothai Memorial Conference and Student Competition 2012, Pécs
10. Rostás I, Füredi N, **Tenk J**, Mikó A. Thermoregulatory effects of alpha-melanocytostimulating hormone depend on age. János Szentágothai Interdisciplinary Conference and Student Competition 2012, Pécs
11. Mikó A, Füredi N, Rostás I, **Tenk J**. Metabolic adaptation to food deprivation in spontaneously hypertensive rats (SHR). János Szentágothai Memorial Conference and Student Competition 2012, Pécs
12. Mikó A, **Tenk J**, Füredi N. Orexigén és anorexigén neuropeptidek hatásának vizsgálata spontán hipertenzív patkányokban. PTE ÁOK TDK Konferencia 2012, Pécs
13. Füredi N, Mikó A, **Tenk J**. A cholecystokinin kor- és testösszetéltől függő anorexigén hatásának vizsgálata. PTE ÁOK TDK Konferencia 2013, Pécs
14. Füredi N, **Tenk J**, Mikó A, Rostás I. Cholecystokinin effects on energy balance depend on age. LIMSC- Leiden International Medical Student Conference 2013, Leiden
15. Mikó A, Rostás I, **Tenk J**, Füredi N. Spontaneously hypertensive rats (SHR) show complex changes in their energy homeostasis. LIMSC- Leiden International Medical Student Conference 2013, Leiden
16. Rostás I, Mikó A, Füredi N, **Tenk J**. Complex effects of neuropeptide alpha-melanocytostimulating hormone on energy homeostasis during the course of aging. LIMSC- Leiden International Medical Student Conference 2013, Leiden
17. Füredi N, Mikó A, **Tenk J**, Rostás I. Effects of neuropeptides in spontaneously hypertensive rats. CROSS, 9th International Biomedical Croatian Student Summit 2013, Zágráb
18. Mikó A, **Tenk J**, Füredi N. Orexigén és anorexigén neuropeptidek hatásának vizsgálata spontán hipertenzív patkányokban. XXXI. Országos Tudományos Diákköri Konferencia, Orvos- és Egészségtudományi Szekció 2013, Szeged
19. Füredi N, Mikó A, **Tenk J**. A cholecystokinin kor- és testösszetéltől függő anorexigén hatásának vizsgálata. XXXI. Országos Tudományos Diákköri Konferencia, Orvos- és Egészségtudományi Szekció 2013, Szeged
20. Füredi N, Rostás I, **Tenk J**, Mikó A, Pétervári E, Balaskó M. Cholecystokinin effects on energy balance depend on age and body composition. The Student Scientific Conference on Biotechnology and Biomedicine 2013, Brno
21. Rostás I, Mikó A, Füredi N, **Tenk J**. Az alpha-melanocytostimuláló-hormon szerepe az energiaháztartás szabályozásában. V. Nemzetközi XI. Országos Interdiszciplináris Grastyán Konferencia 2013, Pécs

22. Mikó A, **Tenk J**, Rostás I, Füredi N. Táplálékfelvételt befolyásoló neuropeptidek hatásának vizsgálata spontán hipertenzív patkányokban. V. Nemzetközi XI. Országos Interdiszciplináris Grastyán Konferencia 2013, Pécs
23. Füredi N, Rostás I, **Tenk J**, Mikó A. A cholecystokinin (CCK) anorexigén hatásának vizsgálata: az életkor és a testösszetétel befolyásoló hatása. V. Nemzetközi XI. Országos Interdiszciplináris Grastyán Konferencia 2013, Pécs
24. Füredi N, Rostás I, **Tenk J**, Mikó A, Pétervári E, Balaskó M. Cholecystokinin effects on energy balance depend on age and body composition. 9th János Szentágothai Memorial Conference and Student Competition 2013, Pécs
25. Rostás I, **Tenk J**, Mikó A, Füredi A. Complex effects of alpha- melanocyt- stimulating-hormone during the course of aging. Periodicum Biologorum- 3rd Congress of Croatian Physiological Society and 1st Regional Congress of the Physiological Societies 2013, Rijeka
26. Mikó A, Füredi N, **Tenk J**, Rostás I. Changes in regulatory effects of neuropeptide Y, cholecystokinin and melanocortins on energy homeostasis in spontaneously hypertensive rats. 2nd International Doctoral Workshop on Natural Sciences 2013, Pécs
27. Rostás I, **Tenk J**, Mikó A, Füredi N. Complex effects of alpha-MSH during the course of aging. 2nd International Doctoral Workshop on Natural Sciences 2013, Pécs
28. Rostás I, Novinszky P, **Tenk J**, Soós Sz, Székely M, Pétervári E, Balaskó M. Central catabolic effects of leptin during the course of aging. IBRO Workshop 2014, Debrecen
29. Balaskó M, Nagy P, Rostás I, **Tenk J**, Soós Sz, Székely M, Pétervári E. Age-related central leptin-reistance in different nutritional states. IBRO Workshop 2014, Debrecen
30. Füredi N, Rostás I, **Tenk J**, Mikó A, Balaskó M. Cholecystokinin effects on energy balance depend on age and body composition. AIMS Meeting 2014, Lisbon
31. **Tenk J**, Varga E, Rimai T, Rostás I, Soós Sz, Székely M. Peripheral CCK-1 receptors in age-related regulatory alterations affecting energy balance FEPS 2014- Joint of the Federation of European Physiological Societies and the Hungarian Physiological Society 2014, Budapest
32. Rostás I, Rimai T, Varga E, **Tenk J**, Soós Sz, Székely M, Pétervári E, Balaskó M. Age- and nutritional state-related catabolic effects of a central leptin infusion. 2014. 08. 27.-30. Joint Meeting of the Federation of European Physiological Societies (FEPS) and the Hungarian Physiological Society, Budapest
33. Rostás I, Varga E, Rimai T, **Tenk J**, Soós Sz, Pétervári E, Balaskó M. Catabolic effects of central leptin infusion during aging. 9th Young European Scientist Meeting 2014, Porto
34. Rostás I, Pagáts R, Klespitz P, **Tenk J**, Balaskó M. Leptin in age-related metabolic dysregulation. Third International Symposium on Hypertension 2014, Osijek
35. Balaskó M, Rostás I, Mikó A, Füredi N, **Tenk J**, Soós S, Székely M, Pétervári E. Age-related shifts in the acute anorexic effects of leptin: the influence of body composition. 15th Meeting of the Hungarian Neuroscience Society 2015, Budapest
36. Nagy P, Novinszky P, **Tenk J**, Mikó A, Füredi N, Rostás I, Pétervári E, Balaskó M, Székely M, Soós S. Changes of efficacy of the centrally applied alpha-melanocyte-stimulating hormone (alpha-MSH) or neuropeptide Y (NPY) and peripherally

- administered cholecystokinin (CCK) in male and female rats of various ages. 15th Meeting of the Hungarian Neuroscience Society 2015, Budapest
37. Novinszky P, Nagy P, Füredi N, **Tenk J**, Rostás I, Mikó A, Pétervári E, Balaskó M, Székely M, Soós S. Investigation of complex effects of central insulin infusion on energy balance in male Wistar rats of different ages. 15th Meeting of the Hungarian Neuroscience Society 2015, Budapest
38. Mikó A, Balla P, **Tenk J**, Balaskó M, Soós Sz, Brunner S, Kofler B, Pétervári E. Thermoregulatory effects of alarin, a new member of the galanin peptide family. Neuropeptides 2015, Aberdeen
39. Rostás I, Csernel Zs, **Tenk J**, Soós Sz, Pétervári P, Székely M, Balaskó M. Leptin in metabolic dysregulation: the influence of age and nutritional state. 5th Central European Congress on Obesity 2015, Budapest
40. Balaskó M, Pagáts R, Serényi D, **Tenk J**, Rostás I, Székely M, Pétervári E. Akut centrális energetikai urocortin 2 hatások fiatal felnőtt patkányban. Magyar Farmakológiai, Anatómus, Mikrocirkulációs és Élettani Társaságok Közös Tudományos Konferenciája (FAMÉ) 2016, Pécs
41. **Tenk J**, Csernel Zs, Pagáts R, Mikó A, Pétervári E, Balaskó M. Urocortin 2 krónikus centrális energetikai hatásai patkányban Magyar Farmakológiai, Anatómus, Mikrocirkulációs és Élettani Társaságok Közös Tudományos Konferenciája (FAMÉ) 2016, Pécs