

**Ph.D. értekezés**

**A ghrelin-indukálta oxitocin elválasztás vizsgálata *in vivo* állatmodellben**

**Dr. Ménesi Rudolf**

Témavezető:

Dr. habil. Pósa Anikó

*egyetemi docens*

Biológia Doktori Iskola  
Szegedi Tudományegyetem  
Természettudományi és Informatikai Kar  
Élettani, Szervezettani és Idegtudományi Tanszék



Szeged

2020

## 1. Tartalomjegyzék

1. Tartalomjegyzék.....	1
2. Rövidítések jegyzéke.....	2
3. Bevezetés.....	6
4. Irodalmi áttekintés.....	7
4.1. Ghrelin .....	7
4.1.1. Ghrelintermelő sejtek és a ghrelin receptor .....	7
4.1.2. A ghrelin szekréciót szabályozó faktork .....	9
4.1.3. A ghrelin szerepe a lipid metabolizmus szabályozásában .....	11
4.1.4. A ghrelin szignalizáció szerepe az idegi funkciókban .....	13
4.2. Oxitocin .....	14
4.2.1. Az oxitocin és az oxitocin receptor jellemzése .....	14
4.2.2. Az oxitocin szerepe a lipid metabolizmus szabályozásában.....	15
4.2.3. Az oxitocin kapcsolata a hem-oxigenáz enzimrendszerrel .....	17
5. Célkitűzések .....	19
6. Anyagok és módszerek.....	20
6.1. Kísérleti protokoll.....	20
6.2. Oxitocin radioimmunassay .....	22
6.3. Statisztikai analízis .....	23
7. Eredmények.....	24
7.1. A centrális (i.c.v.) ghrelin kezelés hatása a plazma oxitocin felszabadulásra .....	24
7.2. A centrális (i.c.v.) [D-Lys <sup>3</sup> ]-GHRP-6 antagonistá kezelés hatása a plazma oxitocin felszabadulásra.....	25
7.3. A szisztémás (i.v.) ghrelin kezelés hatása a plazma oxitocin felszabadulásra .....	26
7.4. A szisztémás (i.v.) [D-Lys <sup>3</sup> ]-GHRP-6 antagonistá kezelés hatása a plazma oxitocin felszabadulásra.....	27
8. Diskusszió.....	28
9. Következtetések .....	38
10. Összefoglalás.....	39
11. Summary .....	42
12. Irodalomjegyzék.....	44
13. Köszönetnyilvánítás .....	53
14. Tudományos közlemények listája .....	54

## **2. Rövidítések jegyzéke**

**AC2:** adenilát-cikláz 2

**ACTH:** adrenokortikotrop hormon

**AgRP:** agouti-kapcsolt fehérje

**AP:** area postrema

**ARC:** nucleus arcuatus

**BCSFB:** vér-cerebrospinalis folyadék gát

**BBB:** vér-agy gát

**cAMP:** ciklikus adenzin-monofoszfát

**CART:** kokain- és amfetamin-regulált transzkript

**CRF:** kortikotropin-felszabadító hormon

**CCK:** kolekisztokinin

**CO:** szén-monoxid

**CSF:** cerebrospinalis folyadék/liquor

**CVO:** cirkumventrikuláris szervek

**[D-Lys<sup>3</sup>]-GHRP-6:** ghrelin receptor antagonist

**D1R:** 1-es típusú dopamin receptor

**DAG:** diacil-glicerol

**DMEM:** Dulbecco's modified Eagle's médium

**DMN:** nucleus dorsomedialis

**DMV:** dorsalis motoros mag

**DVC:** dorsalis vagus komplex

**EM:** eminentia medialis

**E<sub>2</sub>:** ösztrogén

**ER- $\alpha$ :** ösztrogén receptor-alfa

**FFAR4:** szabad zsírsav receptor 4

**FoxO1:** forkhead borsz O1 transzkripció faktor

**FSH:** follikulus stimuláló hormon

**GOAT:** ghrelin o-aciltranszferáz

**GH:** növekedési hormon

**GHRP-6:** növekedési hormont felszabadító peptid-6

**GHS-R:** növekedési hormon szekretagóg receptor/ ghrelin receptor

**GHS-R1a:** a növekedési hormon szekretagóg receptor 1a izoforma

**G<sub>as</sub>:** G-fehérje  $\alpha$ S alegység

**HO:** hem-oxigenáz enzim

**HO-1, HO-2, HO-3:** hem-oxigenáz 1/2/3 izoforma

**HPA-tengely:** hipotalamusz-hipofízis-mellékvese tengely

**i.c.v.:** intracerebroventrikuláris kezelés

**i.p.:** intraperitoneális kezelés

**IP<sub>3</sub>:** inozitol-1,4,5-triszfoszfát

**i.v.:** intravénás kezelés

**KO:** knockout, génkiütött

**LH:** luteinizáló hormon

**LTP:** hosszútávú potenciáció

**mTOR:** emlős rapamycin-célpont

**NaCl:** 0,9 %-os fiziológiás sóoldat

**NADPH:** nikotinamid-adenin-dinukleotid-foszfát

**NF- $\kappa$ B:** nukleáris faktor-kappa B

**NO:** nitrogén-monoxid

**NOS:** nitrogén-monoxid-szintáz

**NPY:** neuropeptid Y

**NTS:** nucleus tractus solitarii

**OVL:** organum vasculosum

**pCREB:** foszforilált cAMP válaszelem

**PPAR $\gamma$ :** peroxiszóma-proliferátor aktivált receptor gamma

**PIP<sub>2</sub>:** foszfatidil-inozitol-4,5-biszfoszfát

**PKC:** protein kináz C

**PLC $\beta$ :** foszfolipáz C béta

**POMC:** proopiomelanokortin

**PRL:** prolaktin

**PVN:** nucleus paraventricularis

**RIA:** radioimmunassay

**SFO:** szubfornikális szerv

**SIRT1:** 1-es típusú szirtuin

**SON:** nucleus supraopticus

**UCP2:** uncoupling fehérje 2

**T<sub>3</sub>:** 3,5,3'-trijód-tironin

**T<sub>4</sub>:** 3,5,3',5'-tetrajód-tironin

**TSH:** thyreoidea stimuláló hormon

**VMN:** nucleus ventromedialis

**VTa:** ventralis tegmentalis area

### 3. Bevezetés

A klasszikus neuroendokrin jelátvitel mellett az elmúlt évtizedben egy új rendszer, a bél-agy tengely, szabályozó szerepét is igazolták. A bél-agy axis legfontosabb tagja a 28 aminosavból álló ghrelin, mely legnagyobb mennyiségben a gyomor mukóza sejtjeiben termelődik. Receptorai centrálisan és perifériásan egyaránt expresszálódnak, melyek a ghrelin étvágy- és testsúlyszabályzó, valamint a magasabb idegi funkciókban betöltött hatásait közvetítik.

A ghrelin szekrécióját és hatásmechanizmusát különböző faktorok, mint például a tápanyagok, hormonok vagy maga az idegi szabályozás is nagymértékben befolyásolhatja. A szabályozó faktorokkal mutakozó interakciója mellett, további neuropeptidekkel is kölcsönhatásba léphet. Korábbi tanulmányok igazolják, hogy a ghrelin a hipofízis szintjén megnyilvánuló neuroendokrin szabályozás egy meghatározó eleme, valamint az oxitocinnal való kölcsönhatása szerepet játszik a laktáció, a hipotalamusz-hipofízis-mellékvese tengely, a szorongás, stresszválasz, valamint a magasabb idegi funkciók szabályozásában, beleértve a tanulást és a memóriát.

Noha a táplálékfelvételben- és felhasználásban betöltött szerepüket tekintve a ghrelin és az oxitocin ellentétes funkcióval bír, a két peptidhormon kölcsönhatása új utakat nyithat az energia homeosztázis és metabolikus folyamatok regulációjában. A köztük levő interakció vizsgálata hozzájárulhat a fiziológiai és neurobiológiai sajátságok megértéséhez és elemzéséhez.

## 4. Irodalmi áttekintés

### 4.1. Ghrelin

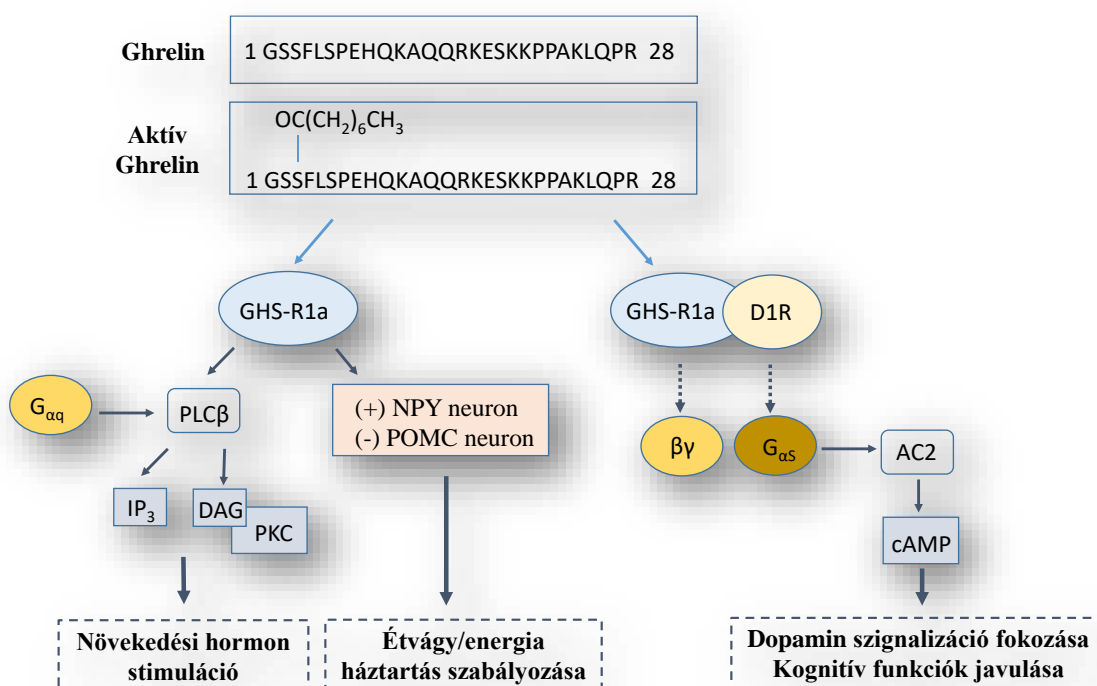
#### 4.1.1. Ghrelintermelő sejtek és a ghrelin receptor

A ghrelin a növekedési hormon szekretagóg receptor (GHS-R) endogén ligandjaként növekedési hormon (GH)-stimuláló hatással bír. A GHS-R két izoformája ismert, a GHS-R1a és a GHS-R1b, azonban a két változat közül kizárólag az utóbbi, GHS-R1a tekinthető funkcionális ghrelin receptornak [6]. A receptorok számos perifériás szövetben, illetve különböző agyi területeken is expresszálódnak, beleértve a hipofízist, hipotalamuszt, talamuszt, illetve a hippokampuszt is. A GHS-R1a egy G-fehérje kapcsolt receptor, mely a  $G_\alpha$  fehérje közvetítésével megvalósuló szignalizációs jelátvitelt közvetíti. A G-fehérje és a foszfolipáz C enzim aktivációjának eredménye a foszfatidil-inozitol-4,5-biszfoszfát (PIP2) másodlagos termékeinek, a diacil-glicerol (DAG), illetve az inozitol-1,4,5-triszfoszfát (IP<sub>3</sub>) felszabadulása. Az agyban felszabaduló DAG és IP<sub>3</sub> termékek a GH felszabadulását stimulálják, míg a ligandfüggetlen GHS-R1a a neuropeptid Y (NPY) és a proopiomelanokortin (POMC) neuronon keresztül az étvágy és az energiaháztartás regulációjában játszik szerepet. További szignalizációs lehetőség a ghrelin/dopamin útvonalak összekapcsolása a GSH-R1 és a dopamin D1 és D2 receptorainak heterodimerizációjával, mely hozzájárulhat a kognitív funkciók javulásához [5]. A GHS-R1-on keresztüli jelátvitelt az 1. ábra mutatja be.

Ghrelintermelő sejtek elsősorban a gyomor mukóza rétegében találhatóak, de kisebb mértékben előfordulhatnak az ováriumban, placentában, vékonybélben, vesékben, hasnyálmirigyben, illetve a különböző agyi területeken is [7, 8]. Immuncitokémiai mérések segítségével a ghrelin expresszió jelenlétét a laterális hipotalamusz közötti internukleáris térben, a nucleus arcuatusban (ARC), nucleus ventromedialisban (VMN), nucleus dorsomedialisban (DMN), nucleus paraventricularisban (PVN), illetve a III. agykamra endymalis rétegében is igazolták



[9]. A hipotalamuszon kívül eső területek közül a szenzomotoros kéreg V. rétegének neuronjaiban, a gyrus cinguli, illetve a nyúltvelő dorzális vagus komplex (DVC) területén is megfigyelhető a ghrelin mRNS expressziója [10]. A ghrelin 28 aminosavból álló peptid. Ahhoz, hogy a GHS-R-on keresztüli szignalizáció megvalósulhasson, a ghrelinnek acilált állapotban kell lennie. Az O-aciltranszferáz (GOAT) általi modifikáció eredményeként a ghrelin harmadik aminosaván (szerin) keresztül megtörténik az acilálás folyamata. Gutierrez és mtsai. GOAT hiányos egereken vizsgálva igazolták a GOAT aktivitás, valamint a vérben mérhető acilált ghrelin arányának összefüggését [11].



GHS-R1a: növekedési hormon szekretagóg receptor/ ghrelin receptor; PLC $\beta$ : foszfolipáz C béta; DAG: diacil-glicerol; PKC: protein kináz C; IP $_3$ : inozitol-1,4,5-triszfoszfát; NPY: neuropeptid Y; POMC: proopiomelanokortin; AC2: adenilát-cikláz 2; cAMP: ciklikus adenzin-monofoszfát; D1R: 1-es típusú dopamin receptor;  $G_{\alpha s}$ : G-fehérje  $\alpha s$  alegység

Forrás: Cong és mtsai., 2010, nyomán [5]

A GHS-R1a-nak, széleskörű expressziója egyértelműen igazolja a ghrelin pleiotróp hatását a perifériás szövetekben és a központi idegrendszerben egyaránt. A ghrelin szerepet játszik az étvágy, szénhidrátháztartás- és zsírsanyagcsere szabályozásában, valamint hatással van a gyomor motilitásra, szívműködésre, a sejtproliferációra, illetve a magasabb idegi funkciókra is. Szintézisét számos szabályozó faktor modulálhatja, melyek komplexitása nagymértékben hozzájárul a hormon biológia funkciókban/folyamatokban betöltött szerepéhez.

#### ***4.1.2. A ghrelin szekréciót szabályozó faktorok***

A ghrelin szekréció különböző tápanyagok és hormonok által, valamint idegi szabályozás révén is regulálódhat. Az egyes szabályozó faktorok önállóan, illetve direkt vagy indirekt kapcsolatokon keresztül befolyásolják a ghrelin aktivitását.

Számos tanulmány igazolja, hogy az orálisan vagy intravénásan alkalmazott glükóz csökkenti a plazma ghrelin szintjét [12, 13]. Hasonlóan a glükóz kezeléshez, a hosszú és rövidlancú zsírsavak is a ghrelin szint csökkenését eredményezik. A zsírsavreceptorok (FFAR4) expressziója kimutatható a ghrelintermelő sejtekben. FFAR4 knockout (KO) egereket vizsgálva magasabb ghrelin szint mérhető, mely az FFAR4 ghrelin-szekrécióban betöltött szerepét igazolja [14]. A rövidlancú acetát vagy a propionát, az FFAR2 receptoron keresztül fejtik ki a ghrelin down-reguláló hatását. Ezzel ellentétben, a közepes láncú molekulák növelik az acilált hormonmennyiséget [15].

A hormonális szabályzó anyagok közül az inzulin rendelkezik a legmeghatározóbb szereppel a ghrelin moduláció folyamataiban. A közöttük levő kapcsolatot számos tanulmány vizsgálja. Humán, illetve rágcsáló modellekben az inzulinkezelés eredményeként csökkent a plazma ghrelin koncentrációja [16, 17], míg inzulin deficiens állatokban szignifikánsan magasabb szint

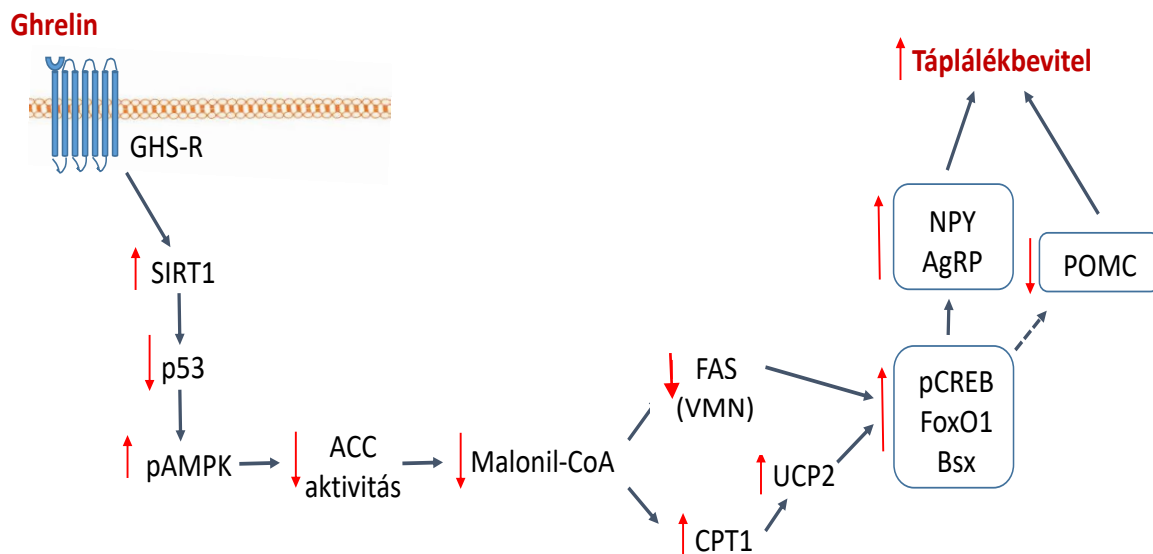
mérhető [18]. Glükóz clamp technikán alapuló mérési eredmények arra engednek következtetni, hogy a hiperinzulinémia kialakulása, valamint az obezitás felelős a ghrelin deprivációért [19, 20][18, 21]. Az inzulin mellett a pankreász további hormonjainak, a szomatosztatinnak, illetve a glukagonnak is igazolták ghrelin-moduláló hatásukat. A gyomor szomatosztatin-termelő D sejtjei, illetve a ghrelintermelő sejtek egymás közelségében helyezkednek el, a kölcsönhatás eredményeként pedig a ghrelin koncentrációjának redukciója figyelhető meg, hasonlóan a glukagon által kifejtett hatásokhoz [22, 23]. A glukagon receptor a  $G_s$  fehérjével kapcsolódva emeli az intracelluláris cAMP szintet, s ezáltal stimulálja a ghrelin elválasztását [24]. Noha a ghrelintermelő sejtek kolekisztokinin (CCK), valamint a gasztrin hormonok receptorait egyaránt expresszálják, azok ghrelinszekrécióban betöltött szerepe ellentmondásos. Humán vizsgálatokban a CCK kezelés következtében csökkent a plazma ghrelin szint [25], míg patkányokon alkalmazva emelkedést tapasztaltak [26]. Friis-Hansen és mtsai. egy korábbi munkájukban igazolták, hogy gasztrin/CCK KO egerek esetében alacsonyabb plazma ghrelin szint volt kimutatható [27]. A hasnyálmirigy, valamint a gyomor-bélrendszer hormonokhoz hasonlóan a szexuál szteroidok is hozzájárulhatnak a plazma ghrelin változásához. A ghrelintermelő sejtek ösztrogén receptor alfát (ER- $\alpha$ ), illetve G-fehérje-kapcsolt receptorokat is expresszálnak. A hormonok interakciójának eredményeként a ghrelin mRNS up-regulációja és a szekréció fokozódása figyelhető meg [14]. A tesztoszteron plazmaszintje, valamint külső expozíciója pozitív korrelációt mutat a ghrelin koncentrációjával [28].

Mint ahogy az számos hormonnál megfigyelhető, az idegi szabályozás a ghrelin tekintetében is megfigyelhető. Az elválasztás az autonóm idegrendszer, valamint a gyomor szimpatikus idegrendszeri aktivációja által szabályzott. A  $\beta_1$  adrenerg receptorokon keresztül az adrenalin és noradrenalin direkt úton, a  $Ca^{2+}$  szint emelésén keresztül növeli a cAMP szintet [29]. Ezzel

ellentétben, a muszkarin receptorokhoz kötődött acetilkolin indirekt módon növeli a plazma ghrelin koncentrációját [14].

#### ***4.1.3. A ghrelin szerepe a lipid metabolizmus szabályozásában***

Számos tanulmány igazolja, hogy a ghrelin a hipotalamikus, illetve a perifériás lipidanyagcsere folyamatok modulációja révén kiemelt fontossággal bír az energia háztartás szabályozásában. A különböző tápanyagokra, illetve hormonokra szenzitív hipotalamikus magvak, különféle neurotranszmitterek expresszióját és szekrécióját módosítva határozzák meg az energia bevitel- és felhasználás egyensúlyát. Anatómiai vizsgálatok egyértelműen igazolják, hogy a hipotalamusz ARC régiójában elhelyezkedő NPY/agouti-kapcsolt fehérje (AgRP) nagymértékben expresszálja a GHS-R1a-ot, melyen keresztül a ghrelin étváagnövelő hatással bír [30]. Továbbá, a ghrelin a NTS gátlása révén közvetve gátolja a táplálékfelvételt gátló POMC/kokain- és amfetamin-regulált transzkript (CART) régió működését is. Rágcsáló modellen vizsgálva, a centrálisan bejuttatott ghrelin növeli az AgRP és az NPY elektromos aktivitását az ARC területén [9]. Az anatómiai sajátságok mellett, Diéguez és mtsai. összegezték a ghrelin-közvetítette molekuláris útvonalakat is [4]. A ghrelin és a GHS-R1a interakciójának eredményeként aktiválódik az 1-es típusú szirtuin (SIRT1), mely a p53 deacetiláció, illetve az AMPK aktiváció serkentésével csökkenti a malonil-CoA szintjét. Az AMPK által modulált zsírsav oxidáció, a VMH FAS expresszójának csökkenése és a CPT1 aktivációja, továbbá az uncoupling fehérje 2 (UCP2) szintjének emelkedése hozzájárulnak az étvágy fokozásáért felelős transzkripciós faktorok aktivációjához. Végezetül, a Bsx transzkripciós faktor a forkhead boks O1 (FoxO1) és a foszforilált cAMP válaszelem (pCREB) interakciójával serkentik az AgRP és a NPY mRNS expresszióját, így az étvágy fokozását/táplálékbevitelt. A központi idegrendszeri molekuláris útvonalakat a 2. ábra összegzi.



**2. ábra: A ghrelin-közvetítette molekuláris változások a lipidanyagcsere szabályozásában**

GHS-R: növekedési hormon szekretagóg receptor/ ghrelin receptor; SIRT1: 1-es típusú szirtuin; ACC: acetyl-CoA karboxiláz; FAS: zsírsav szintetáz; CPT1: karnitin-palmitoil-transzferáz-1; UCP2: uncoupling fehérje 2; NPY: neuropeptid Y, AgRP: agouti-kapcsolt fehérje; pCREB: foszforilált cAMP válaszelem; FoxO1: forkhead bokszo 1; POMC: proopiomelanokortin; VMN: nucleus ventromedialis

Forrás: Diéguez és mtsai., 2011, nyomán [4]

A lipid metabolizmus centrális hatásai mellett a ghrelin periférián kifejtett hatásai is igazoltak, melyek közül a legjelentősebb az elhízásban betöltött szerepe. A centrálisan bejuttatott, krónikus ghrelin kezelés szignifikáns növekedést eredményezett a fehér zsírszövet lipogén enzimjeinek expressziójában [31]. A centrális ghrelin, illetve a zsírszövet között megvalósuló molekuláris útvonalakért a szimpatikus idegrendszer felelős. Theander-Carrillo és mtsai. igazolták, hogy a lipolízis szabályozásáért felelős  $\beta$ -adrenerg receptorok hiányában a ghrelin hatástalannak bizonyul a lipidek szintéziséért és degradációjáért felelős enzimek

modulációjában [32], a hepatocitákon elhelyezkedő receptorokhoz kapcsolódva, az emlős rapamycin-célpont (mTOR), illetve a peroxiszóma-proliferátor aktivált receptor gamma (PPAR $\gamma$ ) útvonalakon keresztül stimulálja a hepatikus lipogenezis folyamatát [33].

#### ***4.1.4. A ghrelin szignalizáció szerepe az idegi funkciókban***

A hippocampusban expresszáldó GHS receptorok jelenlétéből következtethetünk, hogy a ghrelin a metabolikus folyamatok mellett, a kognitív funkciók szabályozásában egyaránt szerepet játszik. Elsőként Carlini és mtsai. igazolták a ghrelin szerepét a kognitív funkciókban, miszerint centrálisan bejuttatva javulást eredményezett a memóriarögzítés folyamatában (retenció) [34]. Perifériásan alkalmazása, a hippocampális neuronokhoz kötődve elősegíti a dendrittüskék, illetve a hosszútávú potenciáció (LTP) kialakulását [35]. Ghrelin KO modelleket vizsgálva a stratum radiatum területén alacsonyabb számú tüskeszinapszist rögzítettek a vad típusú csoporthoz viszonyítva [35]. A hippocampusban, a GHS-R1a/D1R heteromer kiemelt jelentőséggel bír a szinaptikus plaszticitás szabályozásában [36]. A GHS-R1a/D1R heteromer kölcsönhatásba lép a G-fehérjékkal, melyek együttese cAMP-függő jelátvitelt közvetít a D1 receptor agonista kötődését követően. A ghrelin memória- funkciókra kifejtett pozitív hatásain túl bizonyították, hogy a GHS-R-on keresztüli szignalizáció szerepet játszik a hippocampális neuron progenitor sejtek proliferációjában és differenciációjában, valamint hatékonynak bizonyult a neuroprotekciónak tekintetében is [37]. Ghrelin kezelés hatására szignifikáns csökkenést tapasztaltak a Parkinson betegség következtében megjelenő dopaminerg neuronok degenerációjában. A nigrostriatális dopamin funkció tekintetében megjelenő protektív hatás a ghrelin/UCP2-függő mitokondriális mechanizmus által érhető el [38, 39].

## 4.2. Oxitocin

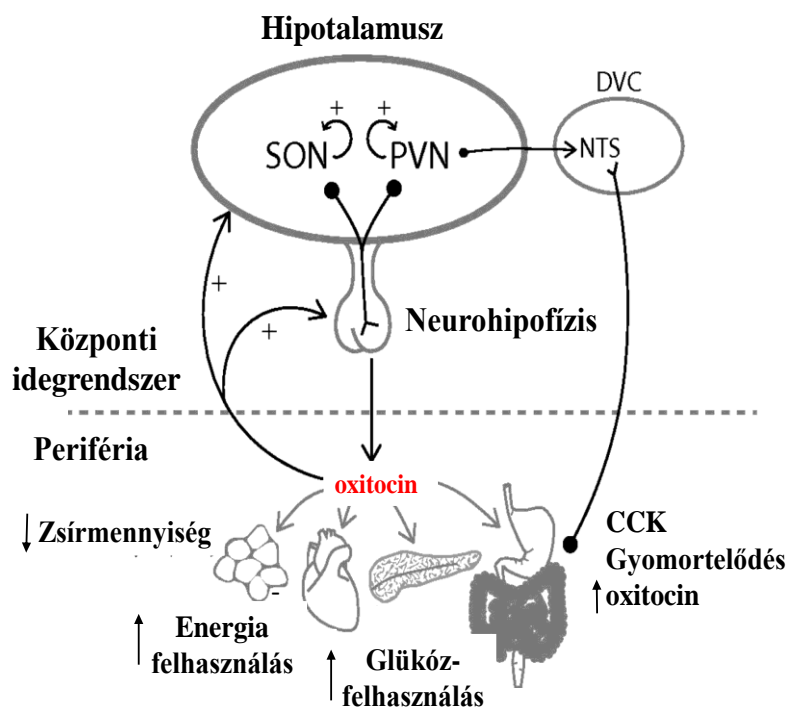
### 4.2.1. Az oxitocin és az oxitocin receptor jellemzése

Az oxitocin kilenc aminosavból álló nonapeptid. Az 1. és 6. pozícióban levő ciszteinek között kialakuló diszulfid híd kötések egy ciklikus hexapeptidet formálnak, melynek C-terminális részéhez három aminosavat tartalmazó farok rész tartozik. A szerkezeti struktúrát tekintve az oxitocin nagy hasonlóságot mutat a vazopresszinhez, melytől mindössze a 3. és 8. pozícióban levő izoleucin különíti el [40]. Az oxitocin a hipotalamusz magnocelluláris sejtjeiben, a nucleus supraopticusban (SON), illetve a nucleus paraventricularisban (PVN) szintetizálódik a neurophysin 1 kísérő fehérjével együtt [41]. A két peptid 1:1 arányú komplexként neuroszekretoros vezikulákba csomagolva, axonális transzport révén érik el az idegvégződéseket a neurohipofízisben, ahol raktározódnak vagy pedig azonnal a véráramba kerülnek. A komplex disszociációját a neuroszekréciós granulum plazmába (pH~7,4) történő felszabadulása idézi elő. A magnocelluláris oxitocin-termelő sejtek mellett elkülöníthetők a parvocelluláris oxitocin neuronok is, melyek axonális terminálisai kiemelt szerepet játszanak a kardiovaszkuláris funkciók, légzés, táplálkozási szokások és a nocicepció modulációjában [42]. A hipotalamuszban termelődő oxitocin tehát nem csak a neurohipofízissel áll axonális kapcsolatban, hanem az ARC, VMN, ventralis tegmentalis area (VTA), a nucleus tractus solitarius (NTS), illetve a gerincvelő területeire is projektál. A peptidhormon receptora hét transzmembrán doménnel rendelkező, G-fehérje kapcsolt receptor, mely a PLC/IP<sub>3</sub> szignalizációs útvonalon keresztül Ca<sup>2+</sup>-t szabadít fel, ezzel elősegítve a transzmitterek felszabadulását [43]. A hipotalamuszon kívül az oxitocin receptorok egyéb idegi területeken, valamint a perifériás szövetekben is egyaránt expresszálódnak [44]. Noha eltérő affinitással, azonban mind az oxitocinra, mind pedig a vazopresszinre igaz, hogy agonistaként kötődnek egymás receptoraihoz [45].

#### **4.2.2. Az oxitocin szerepe a lipid metabolizmus szabályozásában**

Számos tanulmány bizonyítja, hogy a keringésbe felszabaduló oxitocin a méhösszehúzóásban és tejelválasztásban betöltött hatásai mellett, szerepet játszik a zsíryanycsere szabályozásában is. Endogén szintje szoros összefüggésbe hozható a zsíryanycserét érintő mechanizmusokkal, illetve a testzsír mennyiségével. Elősegíti a lipolízist, illetve a zsírsavak oxidációját, ezzel csökkentve a viscerális testzsír mennyiségét, illetve a testtömeget [46]. Koncentráció a metabolikus szindróma, illetve a kardiovaszkuláris megbetegedések manifesztációjával is összefüggésbe hozható. Negatív korreláció mutatkozik a szérumban oxitocin koncentráció, valamint a testtömegindex, hemoglobin A1c, glükóz, valamint az inzulin és a triglicerid szintek között [47]. A PVN-NTS projekciók eredményeként, a jóllakottsági szignálok integrálásáért felelős része a NTS-nak aktiválódik, melynek következtében csökken a bevitt tápanyag mennyisége [48]. Mivel az oxitocin receptorok centrálisan és perifériásan egyaránt előfordulnak, a target szövetektől, illetve a lehetséges biológiai interakciók számától függően komplex hatásmechanizmusról beszélhetünk (3. ábra). A hatásmechanizmus pontos leírását tovább nehezíti, hogy azon hormonok közé tartozik, melyek pozitív feedback szabályozás révén stimulálják saját felszabadulásukat. Zhang és mtsai. szisztémás oxitocin kezelés következtében oxitocin felszabadulást detektáltak PVN szeleteken *ex vivo* [49]. Hasonló megfigyeléseket tapasztaltak intraperitoneális (*i.p.*) alkalmazását követően is, melynek hatására oxitocin-termelő sejtek jelenlétét igazolták a PVN, SON, illetve a NTS területén, míg a centrális kezelés az oxitocin expresszió dóziszfüggő növekedését eredményezte a hipotalamuszban, illetve a plazmában egyaránt [50, 51]. Összességében elmondható, hogy a perifériás és a centrális szabályozó mechanizmusok önállóan vagy együttesen regulálhatják a plazma oxitocin koncentrációt. Az oxitocin szint emelkedése a testzsír mennyiségének csökkenését és anorexigén hatásokat eredményez.





**3. ábra: Az oxytocin centrális és perifériás mechanizmusai az energiaháztartás szabályozásában**

CCK: kolecisztokinin; SON: nucleus supraopticus; PVN: nucleus paraventricularis; NTS: nucleus tractus solitarii; DVC: dorsalis vagus komplex

Forrás: Ho és Blevins, 2013, nyomán [2]

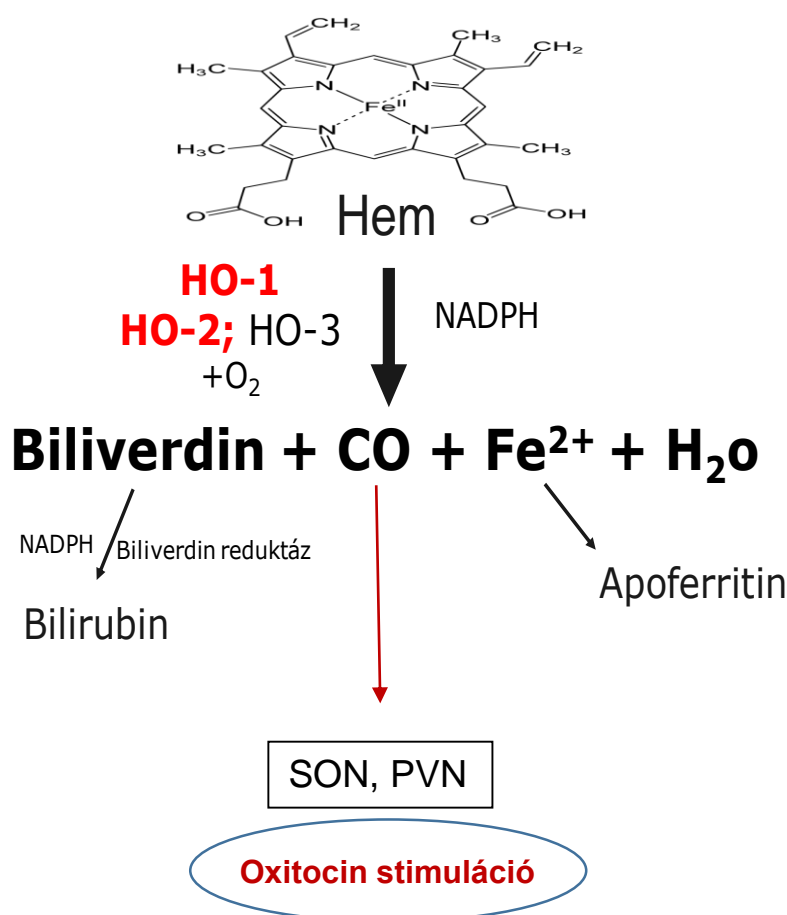
#### ***4.2.3. Az oxitocin kapcsolata a hem-oxigenáz enzimrendszerrel***

A központi idegrendszerben megjelenő gyulladásos folyamatok számos vaszkuláris megbetegedéssel társíthatók, beleértve a traumás agysérülést, a stroke-ot, illetve a különböző neurodegeneratív megbetegedéseket is. A gyulladásos folyamatok következtében sérülnek a központi idegrendszer homeosztázisának fenntartásáért felelős kommunikációs és funkcionális körök, valamint egységek. A gyulladásos válaszreakciót a nukleáris faktor-kappa B (NF- $\kappa$ B) útvonal közvetíti, mely meghatározó szerepet tölt be a sejt túlélésében, valamint a citokin termelés szabályozásában [52].

A hem-oxigenáz (HO) enzimrendszer számos szövetben megtalálható [53-56]. A HO enzimek a hem porfiringyűrű katabolizmusával ekvimoláris mennyiségű szabad vasiont ( $\text{Fe}^{2+}$ ), szén-monoxidot (CO) és biliverdint szabadítanak fel. A biliverdint a biliverdin reduktáz bilirubinná alakítja. Mind a bilirubin, mind pedig a CO potenciális antioxidáns és gyulladáscsökkentő hatással bírnak [57, 58]. A HO enzimrendszernek három izoformáját különíthetjük el. A központi idegrendszer legnagyobb mennyiségben expresszált formája a HO-2, mely konstitutív kifejeződést mutat az előagyai és középagyi neuronokban, hippokampuszban, hipotalamuszban, talamuszban, bazális ganglionokban, valamint a cerebellumban. Az indukálható HO-1 izoforma a VMN, valamint a hipotalamusz paraventricularis magjában mutat aktivitást. A HO-3 egy pszeudogén, mely a hippokampusz asztrocitáiban, a cerebellumban, valamint az agykéregben expresszálódik [59].

A HO-1 izoforma expressziója a hipotalamikus magok specifikus neuroncsoportjaiban is kimutatható, beleértve a SON, PVN, ventromedialis, valamint a preoptikus magokat, így feltételezhető, hogy a HO által termelt CO szerepet játszik a magnocelluláris neuroszekréciós sejtek homeosztázisának modulációjában. Reis és mtsai. a CO hatását vizsgálták az oxitocin és vazopresszin hormonok modulációjában [60]. Kísérleteikkel igazolták, hogy a CO-szintetizáló

HO-1 izoforma a magnocelluláris sejtcsoport két magjában, a SON-ban, illetve PVN-ben egyaránt kimutatható. Míg a nitrogén-monoxid-szintáz (NOS) által termelt nitrogén-monoxid (NO) gátló hatását fejt ki a SON és PVN neuronok aktivitására [61, 62], a HO/CO rendszer serkenti ezen neuronok aktivitását, valamint a neurohipofízeális hormonelválasztást. A HO enzimrendszer aktiválódása már önmagában is antioxidáns és anti-inflammatorikus hatással bír, azonban az oxitocin stimuláció révén tovább fokozhatja az oxitocin igazolt gyulladáscsökkentő hatását. A HO és az oxitocin kapcsolatát a 4. ábra mutatja be.



**4. ábra: A hem-oxigenáz és az oxitocin kapcsolata**

NADPH: nikotinamid-adenin-dinukleotid-foszfát; CO: carbon-monoxid; HO-1/2/3: hem-oxigenáz-1/2/3 izoforma, H<sub>2</sub>O: víz; Fe<sup>2+</sup>: szabad vasion; SON: nucleus supraopticus; PVN: nucleus paraventricularis

## 5. Célkitűzések

A hipotalamusz-hipofízis tengely alapos leírását követően, az elmúlt évtizedben egy új neuroendokrin tengely, a bél-agy tengely kommunikációs útjai is felfedezésre kerültek. A gyomor-bélrendszer egyik legjelentősebb hormonja a ghrelin, mely az eddigi irodalmi adatok alapján szoros szabályozó kapcsolatban lehet egyéb neurohormonokkal, beleértve az oxitocint és vazopresszint.

Munkacsoportunk már sikeresen igazolta *in vitro* körülmények között a ghrelin-oxitocin szabályzó szerepét, így jelen kísérletünkben *in vivo* patkánymodellben vizsgáltuk a két hormon kölcsönhatását.

Tisztázni kívántuk, hogy:

- A centrálisan bejuttatott ghrelin miképpen változtatja meg a plazma oxitocin koncentrációt patkányban?
- Milyen változások figyelhetők meg a szisztémás ghrelin kezelés következtében a plazma oxitocin szintjében?
- A [D-Lys<sup>3</sup>]-GHRP-6 ghrelin receptor antagonistája alkalmas-e a ghrelin-közvetített hatások detektálására?
- A különböző időpillanatokban alkalmazott ghrelin receptor antagonistája hogyan módosítja a ghrelin-oxitocin interakciót patkány modellben?

## 6. Anyagok és módszerek

### 6.1. Kísérleti protokoll

Kísérleteinkhez 180-250 gramm tömegű, 3-4 hónapos hím Wistar patkányokat (Gödöllő, Magyarország) használtunk. Az állatokat standard körülmények között (hőmérséklet, világítás, páratartalom) tartottuk, csapvizet *ad libitum* kaptak és standard granulált patkánytápot fogyasztottak. A kísérleteink során felhasznált állatok tartása és felhasználása az Európai Parlament és Tanács 2010/63/EU előírásai alapján történt.

A ghrelin-oxitocin hatásmechanizmus vizsgálatához az állatok egy csoportjánál centrális, míg a másik csoport esetében szisztémás ghrelin injekciót végeztünk.

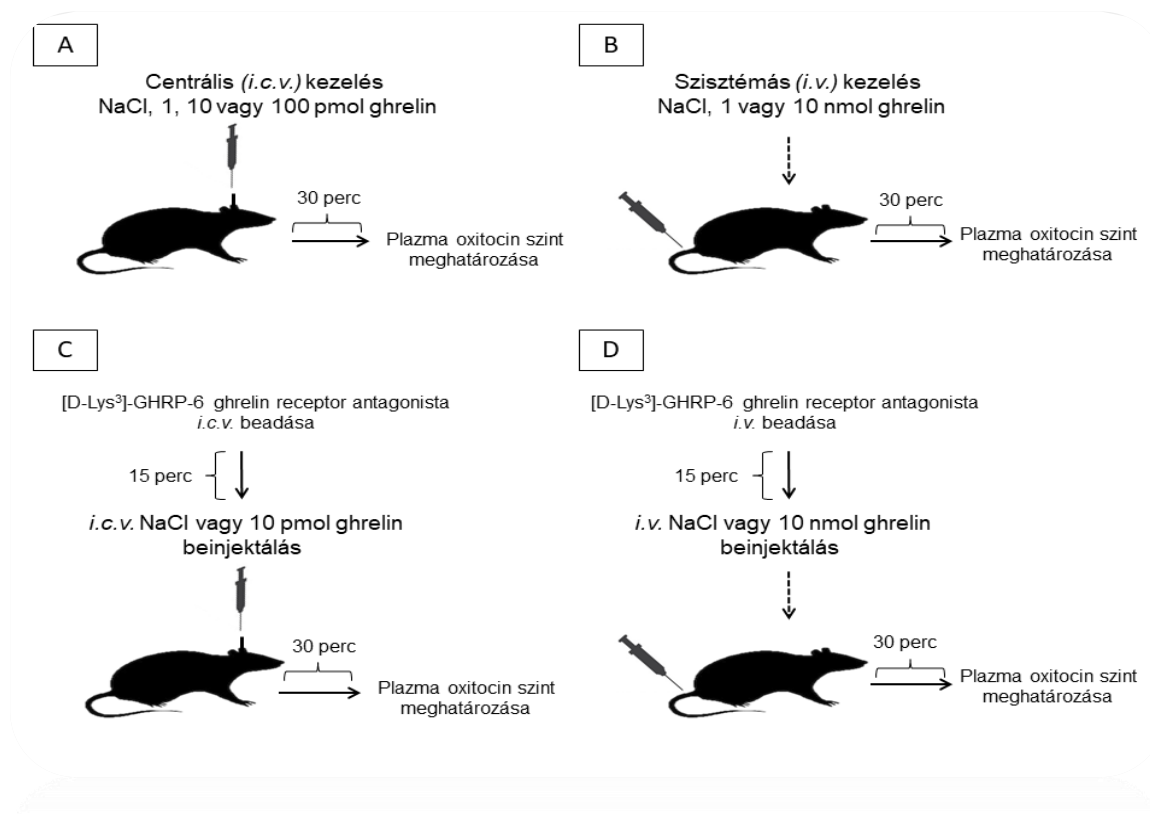
A ghrelin centrális bejuttatásához az állatok jobb oldali laterális agykamrájába (intracerebroventrikulárisan, *i.c.v.*) agykanült helyeztünk altatásban. A patkányokat sztereotaxiás készülékbe rögzítettük, majd a jobb falcsonton keresztül 4 mm hosszúságú kanült helyeztünk a bregmától számított 0,7 mm anterior és 1,0 mm laterális pozícióban. A kanült gyorsan száradó fogászati cement segítségével rögzítettük a koponyához. Egyhetes pihenőfázist követően, Hamilton fecskendő segítségével 10 µl végtérfogatban különböző dózisu (1, 10 és 100 pmol) ghrelint injektáltuk az állatok agykamrájába 1 percen keresztül. A vivőanyag kezelésben részesülő állatok 10 µl végtérfogatú fizioiogiás sóoldatot (0,9 % NaCl) kaptak a jobb agykamrába.

A ghrelin receptor antagonistá hatásának igazolására, 1 percen keresztül, 10 pmol koncentrációjú [D-Lys<sup>3</sup>]-GHRP-6 antagonistát injekciótuk az állatok agykamrájába 10 µl térfogatban, 0,9 %-os fizioiogiás sóoldatban oldva. A ghrelin receptor antagonistát bejuttatását önállóan, 15 perccel a 10 pmol koncentrációjú ghrelin kezelést megelőzően vagy azt követően végeztük. A ghrelin-kezelt, illetve az antagonistá kezelésben részesített csoportok állataiból 30

perccel a kezelést követően plazma vérmintákat gyűjtöttünk a további oxitocin szint meghatározásához.

Az állatok terminálása után az agykanülbe 1%-os metilénkék oldatot (Reanal, Budapest, Magyarország) juttatunk, melynek segítségével ellenőriztük a kanülök pontos helyzetét. Abban az esetben, ha a kanül nem megfelelő orientációban lett beillesztve (az esetek 6,5%-ában találtuk ezt), az adott egyed mintáit kizártuk a kísérletből.

A szisztémás vizsgálatokhoz az állatok farokvénájába 1 és 10 nmol koncentrációjú ghrelint juttattunk 200 µl végtérfogatban, míg a vivőanyaggal kezelt csoportok azonos térfogatú 0,9 % NaCl oldatot kaptak intravénásan (*i.v.*). Az antagonistá kezelést a centrális vizsgálatokhoz hasonlóan zajlott, mely során a 10 nmol koncentrációjú [D-Lys<sup>3</sup>]-GHRP-6 antagonistát 200 µl térfogatban önállóan, 15 perccel a ghrelin kezelést megelőzően vagy pedig azt követően injektáltuk az állatok farokvénájába 1 percen keresztül. A kísérleti protokollt az 5. ábra szemlélteti.



**5. ábra: Az eredményekben feltüntetett, *in vivo* centrális és szisztémás kezelések sematikus protokollja**

*i.c.v.*: intracerebroventrikuláris kezelés; *i.v.*: intravénás kezelés; NaCl: fiziológiás sóoldat; [D-Lys<sup>3</sup>]-GHRP-6: ghrelin receptor antagonist

## 6.2. Oxitocin radioimmunassay

A plazma oxitocin koncentrációt radioimmunassay (RIA) módszerrel határoztuk meg. Méréseinkhez szintetikus oxitocin használtunk referencia preparátumként, míg az izotópos jelölést specifikus oxitocin antitesttel (Bachem, USA) végeztük. A jelzett hormon tisztítását reverz fázisú kromatográfiás módszerrel végeztük. A felülúszó oxitocin tartalmát Amprep C8 oszlop (RPN 1902, Amersham, Buckinghamshire, UK) segítségével határoztuk meg, több mint 95 %-os visszanyeréssel. Az extrahált mintákat 125 µl térfogatú RIA pufferben oldottuk, majd a RIA mérésekhez 50 µl-es duplikátumokat használtunk. Mérésünk alapját Dogterom és mtsai. [63], valamint Vecsernyés és mtsai. [64] által kidolgozott metodika képezte. A fehérje

meghatározást a korábbi vizsgálataink során is alkalmazott, Lowry módszer alapján végeztük [65]. A módszer érzékenysége 1 pg/ml, melynek intra-assay koefficiense 13,3%, inter-assay koefficiense pedig 16,3%. Az oxitocin értékeket pg/mg fehérjeként fejeztük ki.

### **6.3. Statisztikai analízis**

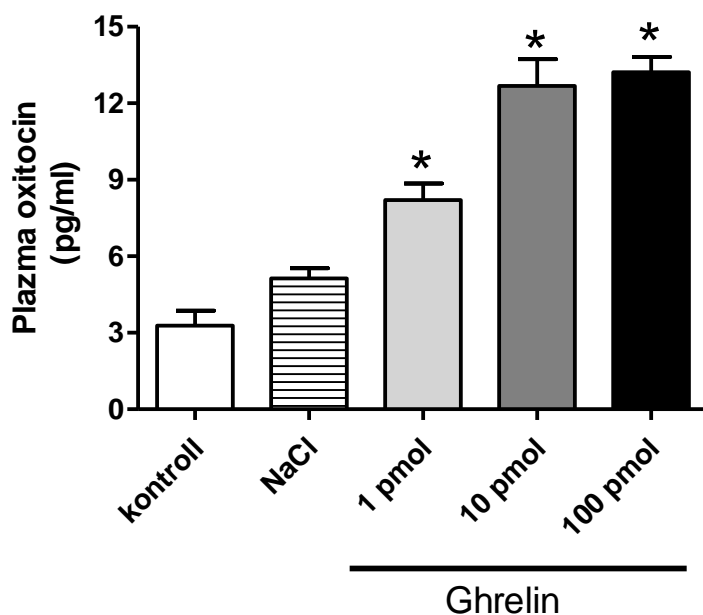
Az adatokat átlag  $\pm$  S.E.M.-ként fejeztük ki. A statisztikai analízist Tukey-Kramer próba alapján többszörös összehasonlítást végeztünk, az eltéréseket  $p < 0,05$  esetén tekintettük szignifikánsnak.



## 7. Eredmények

### 7.1. A centrális (i.c.v.) ghrelin kezelés hatása a plazma oxitocin felszabadulásra

A jobb oldali laterális agykamrába juttatott 1 pmol koncentrációjú ghrelin szignifikáns növekedést eredményezett a plazma oxitocin szintjében a kontroll/intakt csoporthoz viszonyítva. A ghrelin koncentrációjának emelése (10 pmol és 100 pmol) tovább fokozta az oxitocin elválasztását, azonban a két dózis között már nem tapasztaltunk szignifikáns különbséget. Kísérletünkben a vivőanyaggal (NaCl) történő kezelés nem eredményezett változást az oxitocin koncentrációban a kontroll/intakt állatokhoz viszonyítva, ezzel kizárható a vivőanyag esetleges befolyásoló hatása az oxitocin mérések tekintetében. Az eredményeket az 6. ábra mutatja be.



### **6. ábra: A centrális (i.c.v.) ghrelin kezelés hatása a plazma oxitocin felszabadulásra**

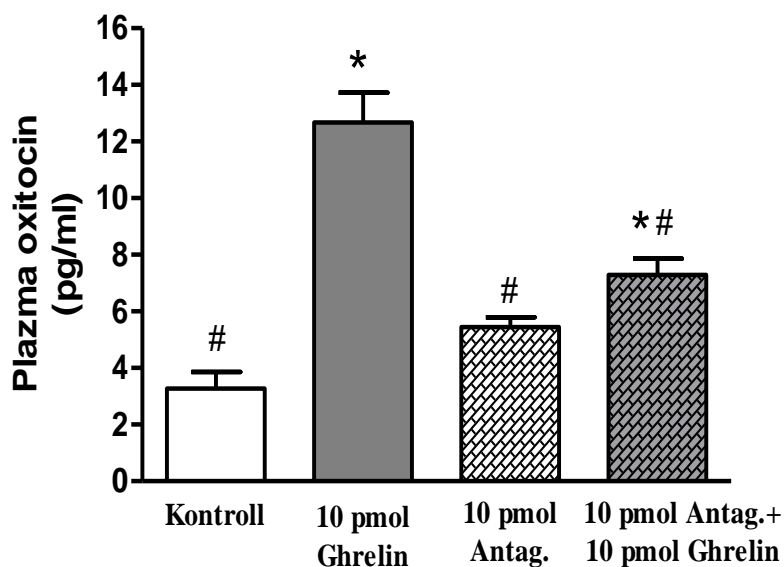
Az eredmények pg/ml-ben fejeztük ki és átlag  $\pm$  S.E.M.-ben adtuk meg, n=10

\* $p < 0,05$ : Szignifikáns különbség a kontroll/intakt csoporthoz viszonyítva

## 7.2. A centrális (i.c.v.) [D-Lys<sup>3</sup>]-GHRP-6 antagonistista kezelés hatása a plazma oxitocin felszabadulásra

A ghrelin-oxitocin hatásmechanizmus igazolására az állatokat 10 pmol koncentrációjú [D-Lys<sup>3</sup>]-GHRP-6 antagonistával (10 pmol Antag.) kezeltük. Az önmagában beinjektált (Antag.), valamint a ghrelin kezelést megelőző antagonistista (10 pmol Antag. + 10 pmol Ghrelin) szignifikáns csökkenést eredményezett a plazma oxitocin elválasztásában a 10 pmol koncentrációjú ghrelin-kezelt csoporthoz képest. A ghrelin kezelést megelőző antagonistista beadása egyértelműen igazolja, hogy az oxitocin szint csökkenése a ghrelin moduláción keresztül érvényesül (7. ábra).

A ghrelin beadását követő antagonistista kezelés nem okozott változást az oxitocin szintben (az eredményeket nem tüntettük fel).



**7. ábra: A centrális (i.c.v.) [D-Lys<sup>3</sup>]-GHRP-6 antagonistista kezelés hatása a plazma oxitocin felszabadulásra**

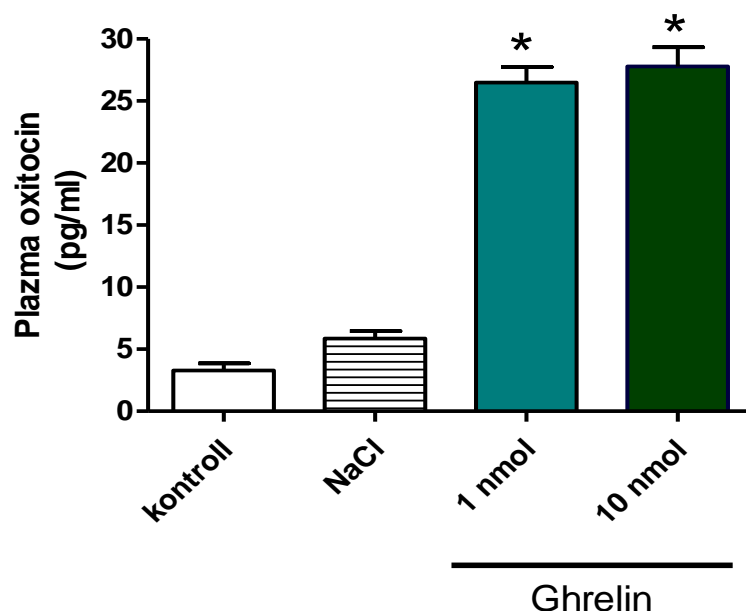
Az eredmények pg/ml-ben fejeztük ki és átlag ± S.E.M.-ben adtuk meg, n=10

\*p<0,05: Szignifikáns különbség a kontroll/intakt csoporthoz viszonyítva

#p<0,05: Szignifikáns különbség a 10 pmol ghrelin-kezelt csoporthoz viszonyítva

### 7.3. A szisztémás (i.v.) ghrelin kezelés hatása a plazma oxitocin felszabadulásra

A szisztémás vizsgálatok során az állatok farokvénájába 1 nmol és 10 nmol koncentrációjú ghrelint injekciótunk. Mindkét dózis esetén hasonló mértékű növekedést tapasztaltunk a plazma oxitocin szintben a kontroll/intakt csoporthoz viszonyítva. Hasonlóan az *i.c.v.* kezeléshez látható, hogy a vivőanyag (0,9 % NaCl) nem eredményezett változást az oxitocin koncentrációjában a kontroll csoporthoz viszonyítva (8. ábra).



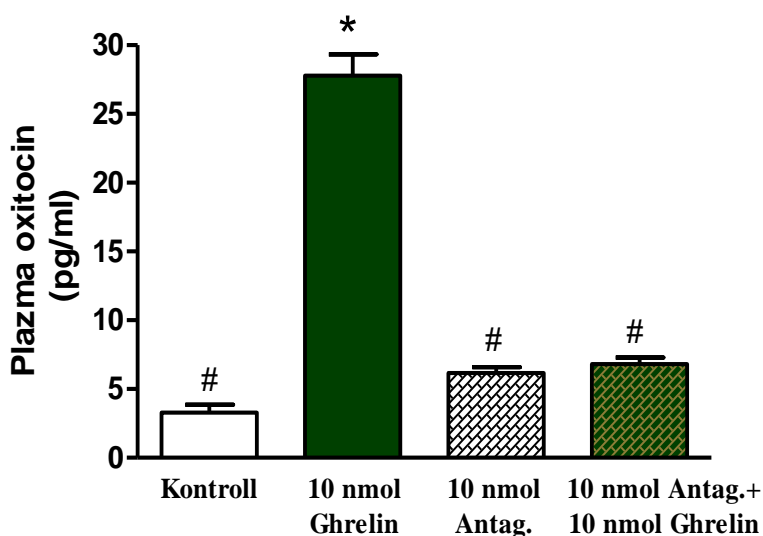
### **8. ábra: A szisztémás (i.v.) ghrelin kezelés hatása a plazma oxitocin felszabadulásra**

Az eredmények pg/ml-ben fejeztük ki és átlag  $\pm$  S.E.M.-ben adtuk meg, n=10

\* $p < 0,05$ : Szignifikáns különbség a kontroll/intakt csoporthoz viszonyítva

#### 7.4. A szisztémás (i.v.) [D-Lys<sup>3</sup>]-GHRP-6 antagonistá kezelés hatása a plazma oxitocin felszabadulásra

Eredményeink egyértelműen szemléltetik, hogy a 10 nmol koncentrációjú ghrelin kezelésben részesülő állatok oxitocin elválasztása jelentősen magasabb volt a kontroll/intakt csoporthoz képest. Míg a 10 nmol [D-Lys<sup>3</sup>]-GHRP-6 antagonistá utókezelés hatására nem tapasztaltunk változást (eredményeket nem tüntettük fel), az önmagában (10 nmol Antag.), illetve megelőző kezelésként alkalmazott antagonistá (10 nmol Antag. + 10 nmol Ghrelin) szignifikáns csökkenést eredményezett a ghrelin-kezelt csoport oxitocin szintjéhez viszonyítva. A szisztémás antagonistá kezelés következtében a kontroll csoport oxitocin szintjéhez hasonló értékeket detektáltunk (9. ábra).



**9. ábra: A szisztémás (i.v.) [D-Lys<sup>3</sup>]-GHRP-6 antagonistá kezelés hatása a plazma oxitocin felszabadulásra**

Az eredmények pg/ml-ben fejeztük ki és átlag ± S.E.M.-ben adtuk meg, n=10

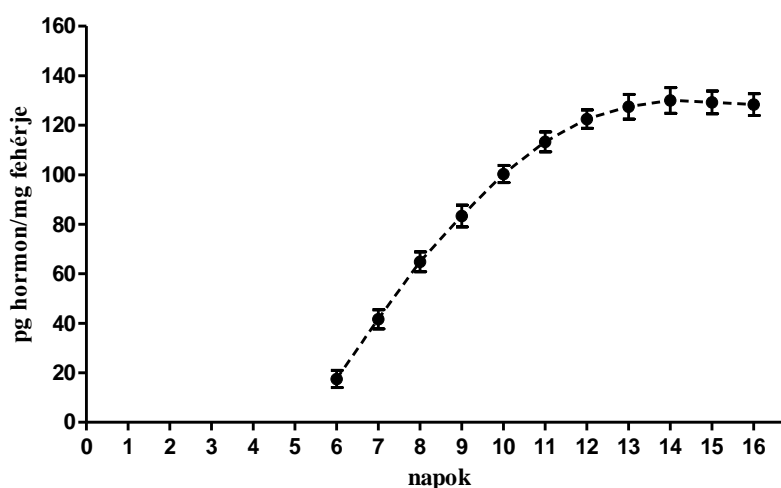
\*p<0,05: Szignifikáns különbség a kontroll/intakt csoporthoz viszonyítva

#p<0,05: Szignifikáns különbség a 10 nmol ghrelin-kezelt csoporthoz viszonyítva

## 8. Diszkusszió

Számos tanulmány vizsgálja a hipotalamusz sejtcsoportjaiban termelődő neurohormonok biológiai hatásait, melyek a megfelelő fiziológia stimuláció eredményeként, a hipotalamusz-hipofízis tengely közvetítésével kerülnek a vérkeringésbe [66]. A hipotalamusz-hipofízis tengely aktiválásában a különböző peptiderg és aminerg neuromodulátorok/neuromediátorok is jelentős szerepet töltenek be, beleértve az adrenalint és noradrenalint [67], dopamint [68], szerotonint [69], hisztamint [70], illetve a galanint [71] is.

Munkacsoportunk korábbi kísérleteiben célul tűzte ki egy új neuromodulátor, a ghrelin hatásainak vizsgálatát az oxitocin elválasztásban *in vitro*. Igazolták, hogy az oxitocin termelése és szekréciója a hipotalamusztól függetlenül is megvalósulhat [1]. Munkacsoportunk az *in vitro* vizsgálatokat izolált neurohipofízis szövetkultúrán végezte. A szövetkultúra kialakításánál a kiindulási naptól mérték a médium oxitocin hormontartalmát. Az oxitocin a 6. naptól volt kimutatható a szövetkultúrában, majd fokozatosan növekedett és a 13-14. naptól vált konstanssá, így az *in vitro* méréseket a 13-14 napos tenyészeteken alkalmazták (10. ábra).

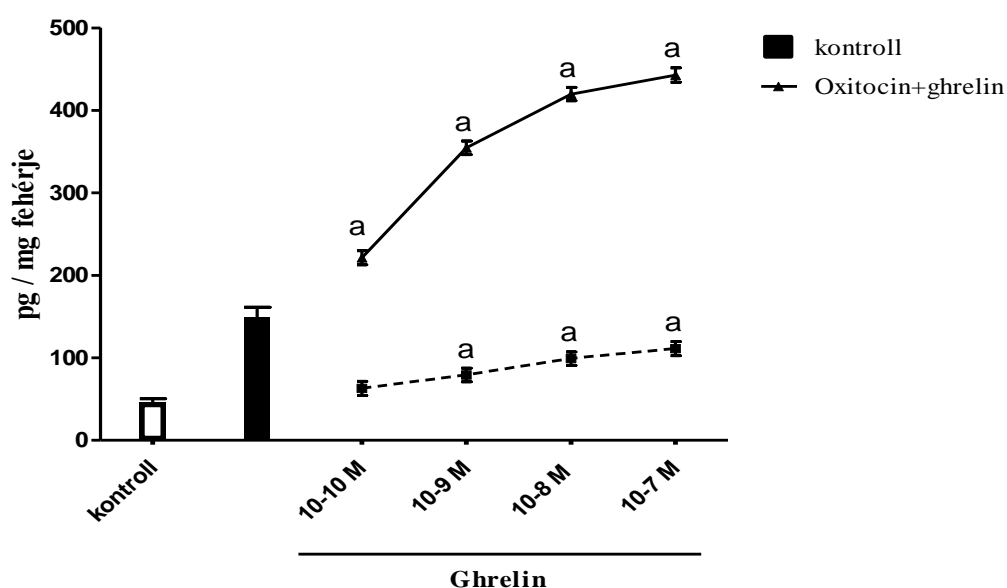


**10. ábra: Az oxitocin szekréciójának változása az idő függvényében, izolált szövetkultúrában vizsgálva**

Az eredmények pg hormon/mg fehérjeként lettek kifejezve, átlag  $\pm$  S.E.M.-ben megadva, n=10

Forrás: Gálfi és mtsai., 2016, nyomán [1]

A ghrelin-oxitocin összefüggés meghatározásához növekvő koncentrációban ( $10^{-11}$ - $10^{-8}$  M) injektálták a ghrelint a médiumhoz. Eredményeik egyértelműen igazolják, hogy a ghrelin hozzáadása dóziszfüggő növekedést eredményezett a médium oxitocin elválasztásában a kontroll médiumhoz viszonyítva (felső görbe) (11. ábra). Az alábbi eredmények segítettek meghatározni az *in vivo* kísérletek során általunk alkalmazott dózisokat.



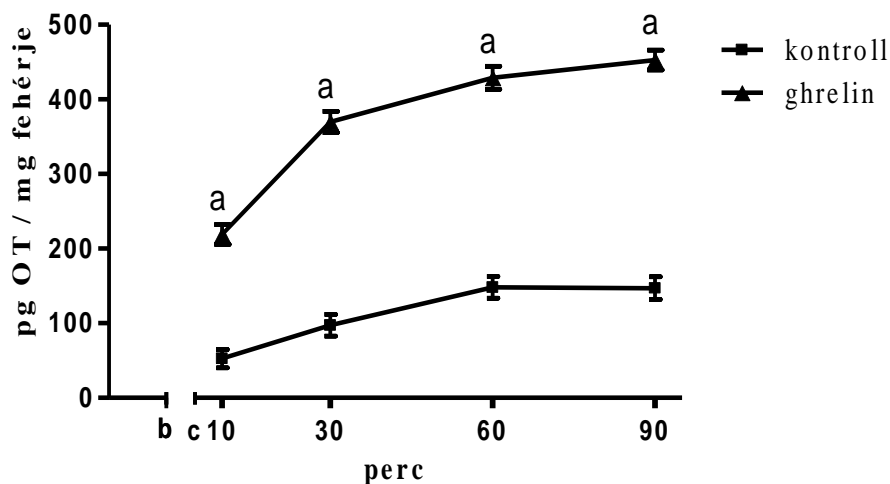
**11. ábra: A ghrelin dóziszfüggő hatása az oxitocin felszabadulására, izolált szövetkultúrában vizsgálva**

Az eredmények pg/mg fehérjeként lettek kifejezve, átlag  $\pm$  S.E.M.-ben megadva, n=10

<sup>a</sup>p<0,05: Szignifikáns különbség a kontroll médiumhoz viszonyítva

Forrás: Gálfi és mtsai., 2016, nyomán [1]

Az *in vitro* körülmények között megjelenő oxitocin termelés kinetikus görbéjének vizsgálatához a szövetkultúra felülszó médiumát 60 percig inkubálták. Egyórás ghrelin inkubációt követően, 90 perces időintervallumban vizsgálták az oxitocin szint kinetikus görbéjét, mely szignifikáns növekedést mutatott. A legnagyobb mértékű oxitocin szint növekedés a ghrelin inkubációt követő 10-30. percben volt kimutatható (12. ábra). Az alábbi adatok alapján választottuk az *in vivo* kezeléseket követő mintavételi időpontot.



### **12. ábra: Az oxitocin termelés kinetikus görbéje *in vitro***

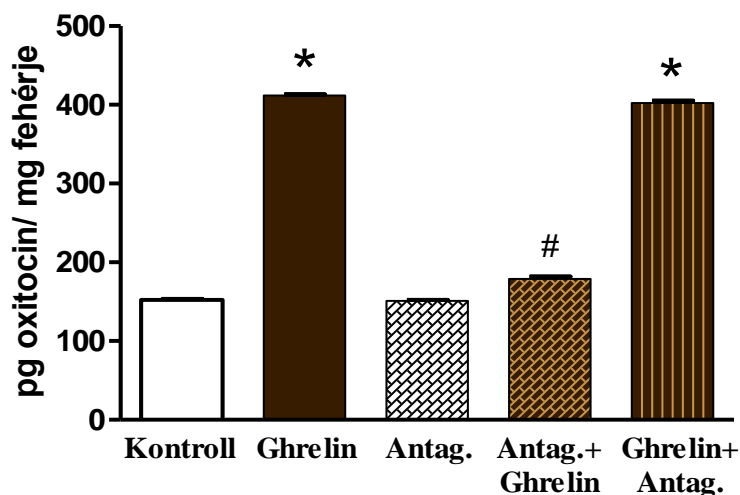
Az eredmények pg OT/mg fehérjeként lettek kifejezve, átlag  $\pm$  S.E.M.-ben megadva, n=6

<sup>a</sup>p<0,05: Szignifikáns különbség a kontroll médiumhoz viszonyítva;

OT: oxitocin; b: 60 perces előinkubáció; c: mosás

Forrás: Gálfi és mtsai., 2016, nyomán [1]

A ghrelin moduláló hatásának igazolására, [D-Lys<sup>3</sup>]-GHRP-6 antagonistát injektáltak a médiumhoz. Eredményeik egyértelműen demonstrálják, hogy a ghrelin adagolást követő antagonist (Ghrelin + Antag.) injektálása nem eredményezett csökkenést a médium oxitocin szekréciójában. Abban az esetben azonban, amikor a ghrelin antagonistát önállóan (Antag.) vagy 20 perccel a ghrelin bejuttatást megelőzően (Antag. + Ghrelin) adták a médiumhoz, szignifikáns csökkentés jelentkezett az oxitocin koncentrációban a ghrelin-kezelt médiumok értékeihez viszonyítva (13. ábra). Ezen eredmények munkánk során *in vivo* körülmények között is igazolást nyertek.



**13. ábra: A ghrelin és a [D-Lys<sup>3</sup>]-GHRP-6 antagonistá kezelés hatása az oxytocin termelésre izolált szövetkultúrában vizsgálva**

Az eredmények pg/ml-ben fejeztük ki és átlag ± S.E.M.-ben adtuk meg, n=8

\*p<0,05: Szignifikáns különbség a kontroll médiumhoz viszonyítva

#p<0,05: Szignifikáns különbség a ghrelin-kezelt médiumhoz viszonyítva

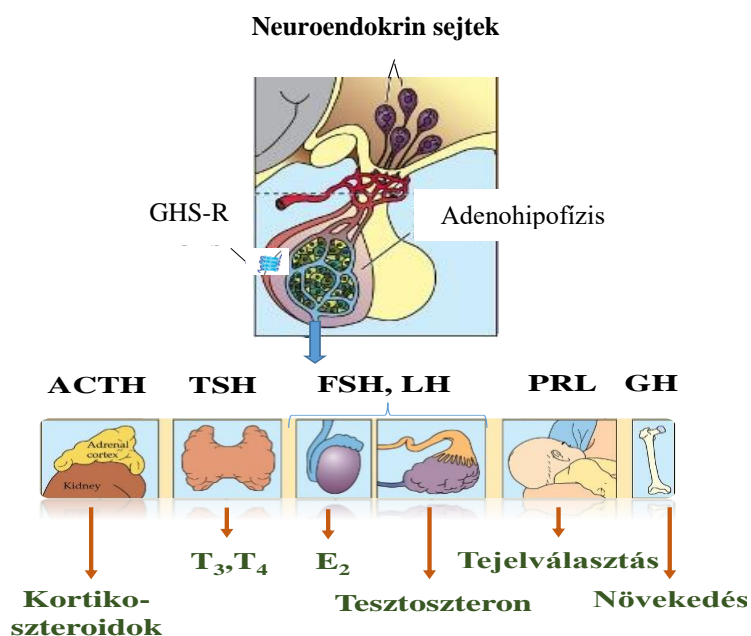
Forrás: Gálfi és mtsai., 2016, nyomán [1]

A ghrelin és a GHS-R-ok hipofízeális lokalizációját további tanulmány is igazolja. Gálfi és mtsai. korábbi kísérleteikben a ghrelin-oxytocin hatásmechanizmus leírásához hasonló megfigyeléseket tettek a dopamin-galanin-oxytocin interakció kapcsán *in vitro*. A dopamin okozta oxytocin fokozódást a galanin preinkubáció szignifikánsan csökkentette, mely hatást a galanin antagonistával történő előkezeléssel is bizonyítottak [72].

A ghrelin indukálta neurohipofízeális változások mellett, a ghrelin-indukált hatások az adenohipofízis hormonszekréciójában is megmutatkoznak. Korbonits és mtsai. molekuláris vizsgálataikkal humán szomatotróp, kortikotróp, laktotróp, gonadotróp és thyreotropin pituitáris sejteken egyaránt igazolták a GHS-R-ok jelenlétét [73]. Stresszhatás következtében a ghrelin, a hipotalamusz-hipofízis-mellékvese tengely (HPA-tengely) aktiválásával serkenti az



adrenokortikotróp hormon (ACTH) elválasztását [74]. Broglio és mtsai. a ghrelin indukálta ACTH felszabadulásban nemfüggő és korfüggő eltéréseket is igazoltak [75]. In vitro és in vivo tanulmányok egyaránt megerősítették, hogy a ghrelin a HPA-tengely aktiválása mellett a gonadális tengely hormonelválasztásában is kulcstényező, továbbá a prolaktin elválasztásban is szabályozó hatású. A ghrelin kezelés a prolaktin (PRL) [76], luteinizáló hormon (LH) [77] és a thyreoidea-stimuláló hormon (TSH) [78] szekréciójában egyaránt stimuláló hatással bír. A ghrelin hatását az adenohipofízis hormonszekréciója a 14. ábra összegzi.



#### **14. ábra: A ghrelin hatása az adenohipofízis hormonszekréciójára**

GHS-R: növekedési hormon szekretagóg receptor/ghrelin receptor; ACTH: adrenokortikotrop hormon; TSH: thyreoidea stimuláló hormon; FSH: follikulus stimuláló hormon; LH: luteinizáló hormon; PRL: prolaktin; GH: növekedési hormon; T<sub>3</sub>: 3,5,3'-trijód-tironin; T<sub>4</sub>: 3,5,3',5'-tetrajód-tironin; E<sub>2</sub>: ösztrogén

A szövetkultúrákon végzett vizsgálatok eredményei igazolják, hogy az oxitocin termelése és szekréciója, valamint az egyes neuropeptidek közötti interakció a hipotalamusz jelenlététől függetlenül is megvalósulhat. Az eddigi *in vitro* eredmények arra engednek következtetni, hogy a neurohipofizeális pituiciták membránján expresszálandó receptorok felelősek az egyes peptidhormonok moduláló hatásainak közvetítéséért.

Noha a ghrelin közvetítette hatásokat a hipofízis hormonszekréciójában már számos tanulmány igazolta, a ghrelin-oxitocin interakció *in vivo* hatásainak elemzéséről kevés adat áll rendelkezésünkre.

A 28 aminosavból álló ghrelin elsődleges termelődési helye a gyomor, azonban a hipotalamuszban is találunk hormontermelő sejteket. A G-fehérje kapcsolt GHS-R-ok expressziója kimutatható a perifériás szervekben is, azonban a legnagyobb receptordenzitás az adenohipofízisben, az ARC és a DVC területén figyelhető meg, beleértve az area postrema (AP), NTS, illetve a dorsalis magcsoportot (DMV) [9]. Jelen munkánk során a centrálisan (*i.c.v.*) és szisztémásan (*i.v.*) injektált ghrelin hatásait vizsgáltuk a plazma oxitocin szint változásain keresztül. A jobb oldali laterális agykamrába juttatott 1 pmol koncentrációjú ghrelin szignifikáns növekedést eredményezett a plazma oxitocin koncentrációjában, valamint 10, illetve 100 pmol dózisú ghrelin alkalmazása eredményeként további oxitocin emelkedést tapasztaltunk. A ghrelin és az oxitocin hormonok közötti funkcionális kapcsolatot korábbi tanulmányok is igazolják. A ghrelin-oxitocin interakció eredménye megmutatkozik a laktáció, parturáció, stresszválaszok, a szorongási viselkedési mintázat, tanulás, valamint a memóriafunkciókban egyaránt [79-81]. Olszewski és mtsai. az *i.c.v.* agykamrába juttatott ghrelin hatásait vizsgálták a nucleus paraventricularis, illetve a nucleus supraopticus területén termelődő oxitocin aktivitásában. Immunhisztokémiai vizsgálataikkal igazolták, hogy a centrális ghrelin kezelés szignifikáns növekedést eredményezett a nucleus paraventricularis területén, továbbá alátámasztották, hogy a ghrelin-oxitocin neuropeptid rendszer védő szerepet

tölt be a hiperfágiával szemben. A különböző koncentrációban alkalmazott ghrelin, dózisfüggő emelkedést okozott a táplálékbevitel mennyiségében. Amennyiben a ghrelin kezelést különböző dózisú oxitocin receptor antagonistá kezeléssel is kiegészítették, a magasabb antagonistá koncentráció esetén fokozott étváagnövelő hatást tapasztaltak [82]. Jelen kísérletünkben a ghrelin-oxitocin hatásmechanizmus igazolására ghrelin receptor antagonistával kezeltük az állatokat. A ghrelin, receptorához kötődve fejt ki pleiotróp hatását, így a specifikus GHS-R-ok vizsgálatával igazolhatjuk a ghrelin hormon hatásait. A növekedési hormont felszabadító peptid-6 (GHRP-6) az elsőként alkalmazott olyan szintetikus agonista, mely a ghrelin receptor közvetítette hatást igazolta. Korábbi szerkezetét [D-Lys<sup>3</sup>]-GHRP-6 (H-His-D-Trp-D-Ala-Trp-D-Phe-Lys-NH<sub>2</sub>) módosították, az alanin aminosavat D-lizinre cserélték [D-Lys<sup>3</sup>]-GHRP-6 (H-His-D-Trp-D-Lys-Trp-D-Phe-Lys-NH<sub>2</sub>), ezáltal az *in vitro* és *in vivo* kísérletekben is egyaránt alkalmazható szelektív antagonistát hoztak létre [83-85]. A 10 pmol koncentrációjú [D-Lys<sup>3</sup>]-GHRP-6 antagonistá jelentős csökkenést eredményezett a plazma oxitocin szekrécióban. A ghrelin kezelés előtti alkalmazott antagonistá hatás egyértelműen alátámasztja a ghrelin serkentő szerepét az oxitocin elválasztásában.

A centrális ghrelin indukálta oxitocin szignalizáció tanulmányozása mellett a szisztémás változásokat is nyomon követtük. Eredményeink egyértelműen igazolják, hogy az *i.v.* szervezetbe juttatott 1 és 10 nmol koncentrációjú ghrelin szignifikáns növekedést eredményezett a plazma oxitocin szintjében. A ghrelin-oxitocin szignalizáció további bizonyítására a ghrelin injektálását-megelőző antagonista kezelést is alkalmaztunk. Hasonlóan a centrális vizsgálatokhoz, a [D-Lys<sup>3</sup>]-GHRP-6 antagonistá hozzáadása mérsékelte a plazma oxitocin elválasztást. Ahhoz, hogy a szisztémásan injektált ghrelin interakcióba léphessen a centrálisan termelődő oxitocinnal, illetve egyéb idegrendszeri egységekkel, át kell jutni a vér-agy gáton. A vér-agy gát az agy homeosztázisának fenntartásáért felelős, melyen keresztül a plazma peptidek átjutása korlátozott. A ghrelin penetrálása a cirkumventrikuláris szervek

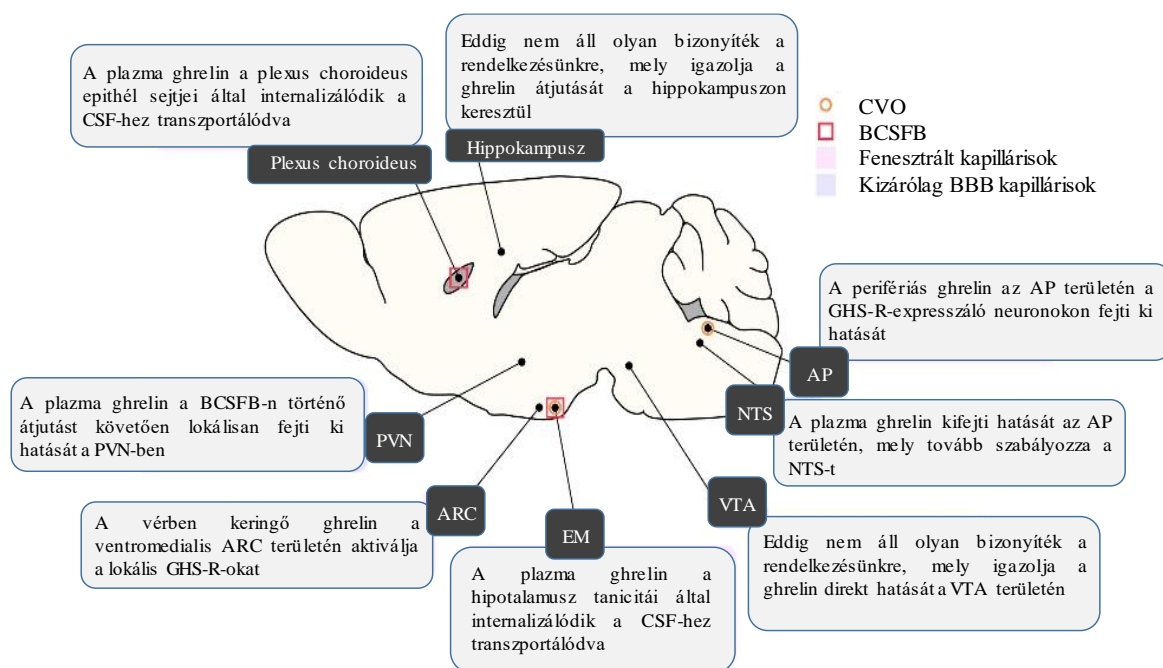
(CVO) fenesztrált kapillárisain keresztüli diffúzióval vagy a vér-cerebrospinalis folyadék barrierjén történő átjutással valósul meg [3].

Emlősökben a CVO-k magában foglalják az eminentia medialis, illetve a szenzoros CVO-kat, beleértve az area postrema területét, melyek fontos szerepet játszanak a peptid hormonok által befolyásolt hatások közvetítésében. Az eminentia medialis a III. agykamra alatt található, mely laterálisan az ARC területéhez, posterior irányultságban a chiasma opticumhoz, rostrálisan pedig az infundibulumhoz kapcsolódik [86, 87]. Míg az eminentia medialis belső zónájában a neurohipofízishez projektáló SON és a PVN magnocelluláris neuronok axonjai találhatók, a külső zónát a hipofizeális portális keringés fenesztrált kapillárisai, illetve a hipofízis neuroszekréciós sejtjeinek (PVN) terminális axonjai alkotják. A szenzoros CVO-k nagy denzitású peptiderg receptorkészlettel rendelkeznek, szoros kapcsolatban állva az autonóm szabályzó központokkal. Ennek értelmében, a szenzoros CVO-k mintegy transzducerként funkcionálva a keringésen belül felfogott jeleket továbbítják más idegi struktúrákhoz, ahol az integráció és feldolgozás folyamatai zajlanak. Három szenzoros CVO különíthető el, melyek a szubfornikális szerv (SFO), az area postrema, illetve az organum vasculosum (OVLT). Mind a SFO, mind pedig az area postrema GHS receptorokat expresszál, továbbá ghrelin-szenzitív neuronok is találhatóak területükön. A SFO a lamina terminalistól dorsálisan helyezkedik el, mely a PVN és SON területén szintetizálódó vazopresszin és oxitocin neuronokhoz közvetett és közvetlen módon projektál [88]. Takayama és mtsai. perifériás ghrelin kezelést követően megnövekedett c-Fos festődést detektáltak a SFO területén, ezzel igazolva a ghrelin átjutását a vér-agy gáton [89]. A SFO a vízfogyasztás és szomjúságérzet fontos idegi központja, így a ghrelin és a SFO kapcsolatának igazolásával bizonyítható a ghrelin vízfogyasztás és táplálékfogyasztásban betöltött együttes szerepe [90]. Az area postrema a IV. agykamrában helyezkedik el, mely a NTS-szal, illetve a dorsalis motoros maggal kiegészítve együttesen alkotják a dorsalis vagus komplexet. Az area postrema számos idegi területtel áll kölcsönös

kapcsolatban. Descendens kapcsolat mutatkozik a PVN és az area postrema között, míg a NTS-ból és a nucleus parabrachialis lateralis-ból felszálló projekciók indulnak a PVN és az ARC területeire [91]. Hasonlóan a SFO-hoz az area postrema területén is intenzív GHS receptor expresszió figyelhető meg. Perifériás ghrelin bejuttatást követően fokozott c-Fos immunreaktivitás jelentkezett az area postrema, dorsalis motoros mag és a NTS területén [92, 93]. A fehérje molekulák átjutása a vér-cerebrospinális folyadék barrierjén keresztül is megvalósulhat, melyet a plexus choroideus, illetve a taniciták képeznek a III. és IV. agykamra területére lokalizálódva [87, 94]. A plazma ghrelin a vér-cerebrospinális gáton áthaladva eljut a liquor-hoz, mely biztosítja a hormon transzlokációját a PVN területére. A PVN számos neuront tartalmaz, melyek a különböző agyi régiókhoz projektálva számos fiziológiai funkciót határoznak meg. Korábbi tanulmányokban a ghrelin, valamint a PVN kortikotropin-felszabadító hormonjának (CRF) interakcióját vizsgálták. Noha a PVN neuronok folyamatos innervációt kapnak az ARC területéről, a kísérleti eredmények arra engednek következtetni, hogy a subcutan ghrelin kezelés ARC-független módon, a GABA felszabadulás gátlásával fejt ki a hatását a CRF neuronokon [95, 96]. Jelen kísérletünkben a CRH neuronokhoz hasonlóan ghrelin-oxitocin kölcsönhatást igazoltunk szisztémás és centrális ghrelin kezelést követően egyaránt. A ghrelin és a különböző agyi régiók közötti interakciókat a 15. ábra szemlélteti.

Kísérletünk eredményei egyértelműen alátámasztják, hogy a ghrelin indukálta oxitocin elválasztás a hipofízis mellett, *in vivo* állatmodellben is kimutatható. Az *i.c.v.* és *i.v.* injektált ghrelin centrális receptoraihoz kapcsolódva serkenti a hipotalamusz oxitocin termelését és a neurohipofízis oxitocin elválasztását. Mind a ghrelin, mind pedig az oxitocin szerepet játszik a táplálékfelvétel-, illetve felhasználás szabályozásában. A kardiovaszkuláris megbetegedések mellett [57], az obezitás [97] a 21. század vezető egészségügyi problémájává vált. A peptidhormonok interakciójának vizsgálata új lehetőségeket nyithat a metabolikus folyamatok

szabályozásában, valamint a táplálékfelvétellel- és felhasználással kapcsolatos rendellenességek kezelésében.



### **15. ábra: A plazma ghrelin interakciója a különböző agyi régiókkal**

CVO: cirkumventrikuláris szerv; BCSFB: vér-cerebrospinális folyadék barrier; BBB: vér-agy gát; PVN: nucleus paraventricularis; ARC: nucleus arcuatus; EM: eminentia medialis; VTA: ventralis tegmentalis area; NTS: nucleus tractus solitarii; AP: area postrema; CSF: cerebrospinalis folyadék/liquor; GHS-R: növekedési hormon szekretagóg receptor/ghrelin receptor

Forrás: Perello és mtsai., 2018, nyomán [3]

## 9. Következtetések

A célkitűzéseinkben megfogalmazott kérdéseinkre az alábbi válaszokat kaptuk:

- A centrális (*i.c.v.*) kezelés során 1 pmol koncentrációjú ghrelin több, mint kétszeres növekedést eredményezett az oxitocin elválasztásban, melyet a ghrelin dózis emelése (10 pmol és 100 pmol) tovább fokozott a kontroll/intakt csoporthoz viszonyítva.
- Az *i.c.v.* kezeléshez hasonlóan, a szisztémás (*i.v.*) 1 nmol ghrelin kezelés szignifikáns plazma oxitocin szint emelkedést eredményezett. A 10 nmol koncentrációjú ghrelin kezelés azonos mértékben növelte a plazma oxitocin szintet.
- Mind a centrális, mind pedig a szisztémás vizsgálatok során a [D-Lys<sup>3</sup>]-GHRP-6 antagonisták már önmagában is csökkentették az oxitocin koncentrációt.
- Annak igazolására, hogy az antagonisták kezelése a ghrelin modulációján keresztül csökkenti az oxitocin elválasztást, a [D-Lys<sup>3</sup>]-GHRP-6 beinjektálást a ghrelin beadását megelőzően és azt követően is elvégeztük mind a centrális, mind pedig a szisztémás modellben. Amennyiben az antagonisták kezelése a ghrelin beadását megelőzően történt, szignifikánsan alacsonyabb plazma oxitocin szint volt kimutatható az antagonistával nem kezelt csoporthoz viszonyítva. Az oxitocin kezelést követő antagonisták kezelése nem okozott változást a plazma oxitocin szintjében.

## 10. Összefoglalás

A hipotalamusz-hipofízis tengely a szervezet homeosztázisának központi szabályozója. A neurohormonok szekrécióját a fiziológiai stimuláció mellett a neuropeptidek között fellépő interakció is nagymértékben befolyásolhatja. Korábbi tanulmányok igazolták, hogy a neurohipofízisben raktározódó oxitocin felszabadulását számos aminerg és peptiderg neurotranszmitter szabályozhatja, beleértve az adrenalint és noradrenalint, dopamint, szerotonint, hisztamint és a galanint is.

Az utóbbi néhány évtized, a bél-agy tengely szerepének leírásával, új lehetőségeket nyitott a gasztroenterológiai, valamint az idegrendszeri kutatások területén. A 28 aminosavból álló ghrelin elsődleges termelődési helye a gyomor, azonban kisebb mértékben a hasnyálmirigyben, vesékben, vékonybélben és a hipotalamuszban is találhatunk hormontermelő sejteket. A ghrelin a G-fehérje kapcsolt növekedési hormon szekretagóg receptor (GHS-R) természetes ligandja, melynek expressziója centrálisan és perifériásan egyaránt igazolt. A központi idegrendszerben a legnagyobb denzitású GHS-R expresszió a nucleus arcuatusban, valamint a dorsalis vagus komplexben figyelhető meg, melyek a ghrelin táplálékfelvételben, vízfogyasztásban és a metabolikus folyamatokban betöltött szerepét közvetítik. Munkacsoportunk korábbi kutatásai a hipofízis szintjén megnyilvánuló ghrelin-oxitocin interakciót egyértelműen alátámasztják, azonban a hipotalamusz-hipofízis tengely közvetítésével megvalósuló kölcsönhatásról kevés adat áll rendelkezésünkre. Munkánk célja a ghrelin-oxitocin interakció tanulmányozása állatkísérletes modellben.

Kísérletünkben *in vivo* vizsgáltuk a centrálisan és szisztémásan beinjektált ghrelin hatásait az oxitocin elválasztásában. A centrális ghrelin kezeléshez során a jobb oldali laterális agykamrába helyezett kanülön keresztül 1, 10 és 100 pmol koncentrációjú ghrelint adagoltunk intracerebroventrikulárisan (*i.c.v.*). Eredményeink egyértelműen mutatják, hogy 1 pmol ghrelin



kezelés szignifikáns növekedést eredményezett a plazma oxitocin elválasztásban, mely a 10 és 100 pmol dózisok tekintetében tovább fokozódott. Annak érdekében, hogy a ghrelin hatását egyértelműen bizonyíthassuk, 10 pmol koncentrációjú ghrelin receptor antagonistát ([D-Lys<sup>3</sup>]-GHRP-6) juttattunk az állatok agykamrájába önállóan, illetve 15 perccel a ghrelin hozzáadását megelőzően vagy követően. Amennyiben az antagonista kezelés a ghrelin-injektálás előtt történt, szignifikáns csökkenést tapasztaltunk az oxitocin koncentrációban. Az utókezelés nem okozott változást. A szisztémás ghrelin hatások vizsgálatához az *i.c.v.* kezelés során is kialakított kísérleti csoportokat alkalmaztuk. Az állatok egy részét különböző dózisu (1 és 10 nmol) ghrelinnel kezeltük intravénásan (*i.v.*), majd a ghrelin-oxitocin hatásmechanizmus igazolására 10 nmol koncentrációjú [D-Lys<sup>3</sup>]-GHRP-6 antagonistát injekcióztunk az állatok farokvénájába. Az *i.v.* úton szervezetbe juttatott ghrelin szignifikáns növekedést eredményezett a plazma oxitocin szekréciójában, azonban ez az emelkedés antagonista előkezeléssel blokkolható volt. *In vivo* vizsgálataink igazolják a ghrelin moduláló szerepét a hipotalamusz-hipofízis tengely által közvetített hatásokban. A központi idegrendszerbe injektált ghrelin, a lokálisan kifejeződő receptoraihoz kapcsolódva, valamint a szomszédos idegi területekre projektálva szabályozza a plazma oxitocin elválasztást. Ellentétben az *i.c.v.* kezeléssel, a szisztémásan szervezetbe juttatott ghrelinnel át kell jutnia a vér-agy gáton, hogy oxitocin-serkentő hatását kifejthesse. A ghrelin penetrálása megvalósulhat a cirkumventrikuláris szervek (CVO) fenesztált kapillárisain átdiffundálva vagy a vér-cerebrospinális folyadék barrierjén történő átjutással. Mind a vér-agy gáton, mind pedig a vér-cerebrospinális folyadékon keresztüli átlépéssel a ghrelin a nucleus paraventricularisban termelődő oxitocin elválasztás fokozására, valamint a neurohipofízis oxitocin felszabadítására képes.

A ghrelin, receptorához kapcsolódva *in vitro* sejtenyészetben és *in vivo* állatmodellben is serkenti az oxitocin elválasztást. A peptidhormonok interakciója új utakat nyithat a metabolikus

folyamatok szabályozásában, mely a táplálékfelvétellel- és felhasználással kapcsolatos rendellenességek kezelésének egy potenciális célpontja.

## 11. Summary

The hypothalamic-pituitary axis is a complex pathway with a central role in maintaining body homeostasis. Neurohormones are known to be released not only via physiological stimulation but also via coexisting various peptides. Previous studies verified that the secretion of neurohypophyseal oxytocin is regulated by different aminergic and peptidergic neurotransmitters, including adrenaline, noradrenaline, dopamine, serotonin, histamine, and galanin.

Describing the role of the gut-brain axis has opened up new possibilities for gastroenterology and neurobiological researches over the past few decades. Ghrelin is a 28-amino-acid hormone, mainly secreted by the stomach. Beside the stomach, other tissues possess ghrelin production, such as pancreas, kidneys, small intestine, and hypothalamus. Ghrelin is the natural ligand for G protein-coupled growth hormone secretagogue receptor (GHS-R) that is expressed in various regions of the brain and also in peripheral tissues. In the central nervous system, the density of the GHS-R is especially high in the nucleus arcuatus, and dorsal vagal complex, which mediate the effect of ghrelin on food intake, water consumption, as well as metabolic processes. While previous data clearly support the hypophyseal expression of GHS-R, only few studies are available on their relationship related to the hypothalamic-pituitary axis. The aim of our work was to determine the effect of the ghrelin-oxytocin interaction in animal model.

In our experiment, we studied the central and systemic effects of ghrelin on oxytocin release *in vivo*. During central measurements, different doses of ghrelin (1, 10, and 100 pmol) were administrated into the right lateral cerebral ventricle *intracerebroventricularly* (*i.c.v.*). Our results show that 1 pmol ghrelin significantly increased the plasma oxytocin level, which was further elevated as a result of the ghrelin injection in doses of 10 pmol and 100 pmol. In order

to clearly demonstrate the ghrelin-mediated effects, [D-Lys<sup>3</sup>]-GHRP-6 ghrelin receptor antagonist was administered in a dose of 10 pmol in itself, and 15 min before/after to ghrelin. [D-Lys<sup>3</sup>]-GHRP-6 resulted in a significant decrease in oxytocin concentration if the injection of the antagonist was prior to the ghrelin. The post-antagonist injection did not cause any change on the oxytocin release. The experimental groups for systemic measurements was similar to the previous *i.c.v.* ones. For systemic effects, different doses of ghrelin (1 and 10 nmol) were injected intravenously (*i.v.*). To verify the ghrelin-oxytocin effects, [D-Lys<sup>3</sup>]-GHRP-6 antagonist was injected in a dose of 10 nmol into the animal's tail vein. Intravenous administration of ghrelin caused a significant increase in the oxytocin secretion, which was blocked by [D-Lys<sup>3</sup>]-GHRP-6 prior to ghrelin injection. *In vivo* measurements prove that ghrelin plays a role on the modulation of the hypothalamic-pituitary axis-mediated effects. Central administration of the ghrelin regulates the plasma oxytocin release via binding to its locally expressed receptors or projecting to the adjacent brain areas. If the ghrelin is systemically injected, it needs to pass the blood-brain barrier to enhance the oxytocin level. Both circumventricular organs (CVO) with their fenestrated capillaries as well as the blood-cerebrospinal barrier are well positioned areas, which facilitate the ghrelin penetration. Passing the blood-brain barrier, ghrelin is able to enhance the nucleus paraventricularis-derived oxytocin secretion as well as its release from the neurohypophysis.

The receptor-bound ghrelin is able to stimulate oxytocin release *in vitro* cell cultures as well as *in vivo* animal models. Interactions of peptide hormones hold the promise of being a potential regulator of metabolic processes as a potential target for treatment of disorders related to food intake and consumption.

## 12. Irodalomjegyzék

1. Galfi M, Radacs M, Molnar Z, Budai I, Toth G, Posa A, Kupai K, Szalai Z, Szabo R, Molnar HA *et al*: **Ghrelin-Induced Enhancement of Vasopressin and Oxytocin Secretion in Rat Neurohypophyseal Cell Cultures.** *Journal of molecular neuroscience* : MN 2016, **60**(4):525-530.
2. Ho JM, Blevins JE: **Coming full circle: contributions of central and peripheral oxytocin actions to energy balance.** *Endocrinology* 2013, **154**(2):589-596.
3. Perello M, Cabral A, Cornejo MP, De Francesco PN, Fernandez G, Uriarte M: **Brain accessibility delineates the central effects of circulating ghrelin.** *J Neuroendocrinol* 2019, **31**(7):e12677.
4. Dieguez C, Vazquez MJ, Romero A, Lopez M, Nogueiras R: **Hypothalamic control of lipid metabolism: focus on leptin, ghrelin and melanocortins.** *Neuroendocrinology* 2011, **94**(1):1-11.
5. Cong WN, Golden E, Pantaleo N, White CM, Maudsley S, Martin B: **Ghrelin receptor signaling: a promising therapeutic target for metabolic syndrome and cognitive dysfunction.** *CNS Neurol Disord Drug Targets* 2010, **9**(5):557-563.
6. Gomez R, Lago F, Gomez-Reino JJ, Gualillo O: **Novel factors as therapeutic targets to treat diabetes. Focus on leptin and ghrelin.** *Expert Opin Ther Targets* 2009, **13**(5):583-591.
7. Mani BK, Zigman JM: **Ghrelin as a Survival Hormone.** *Trends Endocrinol Metab* 2017, **28**(12):843-854.
8. Muller TD, Nogueiras R, Andermann ML, Andrews ZB, Anker SD, Argente J, Batterham RL, Benoit SC, Bowers CY, Broglio F *et al*: **Ghrelin.** *Mol Metab* 2015, **4**(6):437-460.
9. Cowley MA, Smith RG, Diano S, Tschop M, Pronchuk N, Grove KL, Strasburger CJ, Bidlingmaier M, Esterman M, Heiman ML *et al*: **The distribution and mechanism of action of ghrelin in the CNS demonstrates a novel hypothalamic circuit regulating energy homeostasis.** *Neuron* 2003, **37**(4):649-661.
10. Hou Z, Miao Y, Gao L, Pan H, Zhu S: **Ghrelin-containing neuron in cerebral cortex and hypothalamus linked with the DVC of brainstem in rat.** *Regul Pept* 2006, **134**(2-3):126-131.
11. Gutierrez JA, Solenberg PJ, Perkins DR, Willency JA, Knierman MD, Jin Z, Witcher DR, Luo S, Onyia JE, Hale JE: **Ghrelin octanoylation mediated by an orphan lipid transferase.** *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008, **105**(17):6320-6325.

12. Broglio F, Gottero C, Prodam F, Destefanis S, Gauna C, Me E, Riganti F, Vivenza D, Rapa A, Martina V *et al*: **Ghrelin secretion is inhibited by glucose load and insulin-induced hypoglycaemia but unaffected by glucagon and arginine in humans.** *Clin Endocrinol (Oxf)* 2004, **61**(4):503-509.
13. Greenman Y, Golani N, Gilad S, Yaron M, Limor R, Stern N: **Ghrelin secretion is modulated in a nutrient- and gender-specific manner.** *Clin Endocrinol (Oxf)* 2004, **60**(3):382-388.
14. Engelstoft MS, Park WM, Sakata I, Kristensen LV, Husted AS, Osborne-Lawrence S, Piper PK, Walker AK, Pedersen MH, Nohr MK *et al*: **Seven transmembrane G protein-coupled receptor repertoire of gastric ghrelin cells.** *Mol Metab* 2013, **2**(4):376-392.
15. Fukumori R, Sugino T, Shingu H, Moriya N, Kobayashi H, Hasegawa Y, Kojima M, Kangawa K, Obitsu T, Kushibiki S *et al*: **Ingestion of medium chain fatty acids by lactating dairy cows increases concentrations of plasma ghrelin.** *Domest Anim Endocrinol* 2013, **45**(4):216-223.
16. Griffen SC, Oostema K, Stanhope KL, Graham J, Styne DM, Glaser N, Cummings DE, Connors MH, Havel PJ: **Administration of Lispro insulin with meals improves glycemic control, increases circulating leptin, and suppresses ghrelin, compared with regular/NPH insulin in female patients with type 1 diabetes.** *J Clin Endocrinol Metab* 2006, **91**(2):485-491.
17. Ryber L, Obrink K, Houe N, Frystyk J, Jorgensen JO: **Serum ghrelin levels are suppressed in hypopituitary patients following insulin-induced hypoglycaemia irrespective of GH status.** *Clin Endocrinol (Oxf)* 2006, **65**(2):210-214.
18. Iwakura H, Akamizu T, Ariyasu H, Irako T, Hosoda K, Nakao K, Kangawa K: **Effects of ghrelin administration on decreased growth hormone status in obese animals.** *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2007, **293**(3):E819-825.
19. Karczewska-Kupczewska M, Strackowski M, Adamska A, Nikolajuk A, Otziomek E, Gorska M, Kowalska I: **Increased suppression of serum ghrelin concentration by hyperinsulinemia in women with anorexia nervosa.** *Eur J Endocrinol* 2010, **162**(2):235-239.
20. Saad MF, Bernaba B, Hwu CM, Jinagouda S, Fahmi S, Kogosov E, Boyadjian R: **Insulin regulates plasma ghrelin concentration.** *J Clin Endocrinol Metab* 2002, **87**(8):3997-4000.
21. McLaughlin T, Abbasi F, Lamendola C, Frayo RS, Cummings DE: **Plasma ghrelin concentrations are decreased in insulin-resistant obese adults relative to equally obese insulin-sensitive controls.** *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 2004, **89**(4):1630-1635.
22. Gagnon J, Anini Y: **Glucagon stimulates ghrelin secretion through the activation of MAPK and EPAC and potentiates the effect of norepinephrine.** *Endocrinology* 2013, **154**(2):666-674.

23. Shimada M, Date Y, Mondal MS, Toshinai K, Shimbara T, Fukunaga K, Murakami N, Miyazato M, Kangawa K, Yoshimatsu H *et al*: **Somatostatin suppresses ghrelin secretion from the rat stomach.** *Biochem Biophys Res Commun* 2003, **302**(3):520-525.
24. Zhao TJ, Sakata I, Li RL, Liang G, Richardson JA, Brown MS, Goldstein JL, Zigman JM: **Ghrelin secretion stimulated by  $\beta$ 1-adrenergic receptors in cultured ghrelinoma cells and in fasted mice.** *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010, **107**(36):15868-15873.
25. Brennan IM, Otto B, Feltrin KL, Meyer JH, Horowitz M, Feinle-Bisset C: **Intravenous CCK-8, but not GLP-1, suppresses ghrelin and stimulates PYY release in healthy men.** *Peptides* 2007, **28**(3):607-611.
26. Shrestha YB, Wickwire K, Giraudo SQ: **Direct effects of nutrients, acetylcholine, CCK, and insulin on ghrelin release from the isolated stomachs of rats.** *Peptides* 2009, **30**(6):1187-1191.
27. Friis-Hansen L, Wierup N, Rehfeld JF, Sundler F: **Reduced ghrelin, islet amyloid polypeptide, and peptide YY expression in the stomach of gastrin-cholecystokinin knockout mice.** *Endocrinology* 2005, **146**(10):4464-4471.
28. Gambineri A, Pagotto U, De Lasio R, Meriggiola MC, Costantino A, Patton L, Pelusi C, Pelusi G, Pasquali R: **Short-term modification of sex hormones is associated with changes in ghrelin circulating levels in healthy normal-weight men.** *J Endocrinol Invest* 2005, **28**(3):241-246.
29. Mani BK, Chuang JC, Kjalarsdottir L, Sakata I, Walker AK, Kuperman A, Osborne-Lawrence S, Repa JJ, Zigman JM: **Role of calcium and EPAC in norepinephrine-induced ghrelin secretion.** *Endocrinology* 2014, **155**(1):98-107.
30. Nogueiras R, Tovar S, Mitchell SE, Rayner DV, Archer ZA, Dieguez C, Williams LM: **Regulation of growth hormone secretagogue receptor gene expression in the arcuate nuclei of the rat by leptin and ghrelin.** *Diabetes* 2004, **53**(10):2552-2558.
31. van der Lely AJ, Tschop M, Heiman ML, Ghigo E: **Biological, physiological, pathophysiological, and pharmacological aspects of ghrelin.** *Endocr Rev* 2004, **25**(3):426-457.
32. Theander-Carrillo C, Wiedmer P, Cettour-Rose P, Nogueiras R, Perez-Tilve D, Pfluger P, Castaneda TR, Muzzin P, Schurmann A, Szanto I *et al*: **Ghrelin action in the brain controls adipocyte metabolism.** *J Clin Invest* 2006, **116**(7):1983-1993.
33. Li Z, Xu G, Qin Y, Zhang C, Tang H, Yin Y, Xiang X, Li Y, Zhao J, Mulholland M *et al*: **Ghrelin promotes hepatic lipogenesis by activation of mTOR-PPARgamma signaling pathway.** *Proc Natl Acad Sci U S A* 2014, **111**(36):13163-13168.
34. Carlini VP, Monzon ME, Varas MM, Cragolini AB, Schioth HB, Scimonelli TN, de Barioglio SR: **Ghrelin increases anxiety-like behavior and memory retention in rats.** *Biochem Biophys Res Commun* 2002, **299**(5):739-743.

35. Diano S, Farr SA, Benoit SC, McNay EC, da Silva I, Horvath B, Gaskin FS, Nonaka N, Jaeger LB, Banks WA *et al*: **Ghrelin controls hippocampal spine synapse density and memory performance.** *Nat Neurosci* 2006, **9**(3):381-388.
36. Kern A, Mavrikaki M, Ullrich C, Albarran-Zeckler R, Brantley AF, Smith RG: **Hippocampal Dopamine/DRD1 Signaling Dependent on the Ghrelin Receptor.** *Cell* 2015, **163**(5):1176-1190.
37. Moon M, Kim S, Hwang L, Park S: **Ghrelin regulates hippocampal neurogenesis in adult mice.** *Endocr J* 2009, **56**(3):525-531.
38. Jiang H, Betancourt L, Smith RG: **Ghrelin amplifies dopamine signaling by cross talk involving formation of growth hormone secretagogue receptor/dopamine receptor subtype 1 heterodimers.** *Mol Endocrinol* 2006, **20**(8):1772-1785.
39. Andrews ZB, Erion D, Beiler R, Liu ZW, Abizaid A, Zigman J, Elsworth JD, Savitt JM, DiMarchi R, Tschoep M *et al*: **Ghrelin promotes and protects nigrostriatal dopamine function via a UCP2-dependent mitochondrial mechanism.** *J Neurosci* 2009, **29**(45):14057-14065.
40. Ding C, Leow MK, Magkos F: **Oxytocin in metabolic homeostasis: implications for obesity and diabetes management.** *Obesity reviews : an official journal of the International Association for the Study of Obesity* 2019, **20**(1):22-40.
41. Burbach JP, Luckman SM, Murphy D, Gainer H: **Gene regulation in the magnocellular hypothalamo-neurohypophysial system.** *Physiological reviews* 2001, **81**(3):1197-1267.
42. Eliava M, Melchior M, Knobloch-Bollmann HS, Wahis J, da Silva Gouveia M, Tang Y, Ciobanu AC, Triana Del Rio R, Roth LC, Althammer F *et al*: **A New Population of Parvocellular Oxytocin Neurons Controlling Magnocellular Neuron Activity and Inflammatory Pain Processing.** *Neuron* 2016, **89**(6):1291-1304.
43. Russell JA, Brunton PJ: **Oxytocin (Peripheral/Central Actions and their Regulation).** *Elsevier* 2009.
44. Gimpl G, Fahrenholz F: **The oxytocin receptor system: structure, function, and regulation.** *Physiological reviews* 2001, **81**(2):629-683.
45. Baribeau DA, Anagnostou E: **Oxytocin and vasopressin: linking pituitary neuropeptides and their receptors to social neurocircuits.** *Frontiers in neuroscience* 2015, **9**:335.
46. Lawson EA: **The effects of oxytocin on eating behaviour and metabolism in humans.** *Nature reviews Endocrinology* 2017, **13**(12):700-709.
47. Qian W, Zhu T, Tang B, Yu S, Hu H, Sun W, Pan R, Wang J, Wang D, Yang L *et al*: **Decreased circulating levels of oxytocin in obesity and newly diagnosed type 2 diabetic patients.** *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 2014, **99**(12):4683-4689.



48. Peters JH, McDougall SJ, Kellett DO, Jordan D, Llewellyn-Smith IJ, Andresen MC: **Oxytocin enhances cranial visceral afferent synaptic transmission to the solitary tract nucleus.** *J Neurosci* 2008, **28**(45):11731-11740.
49. Zhang G, Cai D: **Circadian intervention of obesity development via resting-stage feeding manipulation or oxytocin treatment.** *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2011, **301**(5):E1004-1012.
50. Carson DS, Hunt GE, Guastella AJ, Barber L, Cornish JL, Arnold JC, Boucher AA, McGregor IS: **Systemically administered oxytocin decreases methamphetamine activation of the subthalamic nucleus and accumbens core and stimulates oxytocinergic neurons in the hypothalamus.** *Addict Biol* 2010, **15**(4):448-463.
51. Hicks C, Jorgensen W, Brown C, Fardell J, Koehbach J, Gruber CW, Kassiou M, Hunt GE, McGregor IS: **The nonpeptide oxytocin receptor agonist WAY 267,464: receptor-binding profile, prosocial effects and distribution of c-Fos expression in adolescent rats.** *J Neuroendocrinol* 2012, **24**(7):1012-1029.
52. Lee H, Choi YK: **Regenerative Effects of Heme Oxygenase Metabolites on Neuroinflammatory Diseases.** *Int J Mol Sci* 2018, **20**(1).
53. da Silva JL, Zand BA, Yang LM, Sabaawy HE, Lianos E, Abraham NG: **Heme oxygenase isoform-specific expression and distribution in the rat kidney.** *Kidney Int* 2001, **59**(4):1448-1457.
54. Szalai Z, Szasz A, Nagy I, Puskas LG, Kupai K, Kiraly A, Berko AM, Posa A, Strifler G, Barath Z *et al*: **Anti-inflammatory effect of recreational exercise in TNBS-induced colitis in rats: role of NOS/HO/MPO system.** *Oxid Med Cell Longev* 2014, **2014**:925981.
55. Jazwa A, Cuadrado A: **Targeting heme oxygenase-1 for neuroprotection and neuroinflammation in neurodegenerative diseases.** *Curr Drug Targets* 2010, **11**(12):1517-1531.
56. Abdallah FB, Fetoui H, Zribi N, Fakhfakh F, Keskes L: **Protective role of caffeic acid on lambda cyhalothrin-induced changes in sperm characteristics and testicular oxidative damage in rats.** *Toxicol Ind Health* 2012, **28**(7):639-647.
57. Posa A, Kupai K, Menesi R, Szalai Z, Szabo R, Pinter Z, Palfi G, Gyongyosi M, Berko A, Pavo I *et al*: **Sexual dimorphism of cardiovascular ischemia susceptibility is mediated by heme oxygenase.** *Oxid Med Cell Longev* 2013, **2013**:521563.
58. Szabo R, Borzsei D, Karacsonyi Z, Gesztelyi R, Nemes K, Berko AM, Veszelka M, Torok S, Kupai K, Varga C *et al*: **Postconditioning-like effect of exercise: new paradigm in experimental menopause.** *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2019, **316**(2):H400-H407.
59. Mancuso C: **Heme oxygenase and its products in the nervous system.** *Antioxid Redox Signal* 2004, **6**(5):878-887.

60. Reis WL, Biancardi VC, Son S, Antunes-Rodrigues J, Stern JE: **Enhanced expression of heme oxygenase-1 and carbon monoxide excitatory effects in oxytocin and vasopressin neurones during water deprivation.** *J Neuroendocrinol* 2012, **24**(4):653-663.
61. Liu QS, Jia YS, Ju G: **Nitric oxide inhibits neuronal activity in the supraoptic nucleus of the rat hypothalamic slices.** *Brain Res Bull* 1997, **43**(2):121-125.
62. Stern JE, Ludwig M: **NO inhibits supraoptic oxytocin and vasopressin neurons via activation of GABAergic synaptic inputs.** *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2001, **280**(6):R1815-1822.
63. Dogterom J, van Wimersma Greidanus TB, De Wied D: **Vasopressin in cerebrospinal fluid and plasma of man, dog, and rat.** *Am J Physiol* 1978, **234**(5):E463-467.
64. Vecsernyes M, Torok A, Jojart I, Laczi F, Penke B, Julesz J: **Specific radioimmunoassay of oxytocin in rat plasma.** *Endocr Regul* 1994, **28**(3):145-150.
65. Galfi M, Radacs M, Juhasz A, Laszlo F, Molnar A, Laszlo FA: **Serotonin-induced enhancement of vasopressin and oxytocin secretion in rat neurohypophyseal tissue culture.** *Regul Pept* 2005, **127**(1-3):225-231.
66. Taylor SE, Gonzaga GC, Klein LC, Hu P, Greendale GA, Seeman TE: **Relation of oxytocin to psychological stress responses and hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis activity in older women.** *Psychosom Med* 2006, **68**(2):238-245.
67. Kapoor JR, Sladek CD: **Purinergic and adrenergic agonists synergize in stimulating vasopressin and oxytocin release.** *J Neurosci* 2000, **20**(23):8868-8875.
68. Lyons DJ, Broberger C: **TIDAL WAVES: Network mechanisms in the neuroendocrine control of prolactin release.** *Front Neuroendocrinol* 2014, **35**(4):420-438.
69. Heisler LK, Pronchuk N, Nonogaki K, Zhou L, Raber J, Tung L, Yeo GS, O'Rahilly S, Colmers WF, Elmquist JK *et al*: **Serotonin activates the hypothalamic-pituitary-adrenal axis via serotonin 2C receptor stimulation.** *J Neurosci* 2007, **27**(26):6956-6964.
70. Radacs M, Galfi M, Juhasz A, Varga C, Molnar A, Laszlo F, Laszlo FA: **Histamine-induced enhancement of vasopressin and oxytocin secretion in rat neurohypophyseal tissue cultures.** *Regul Pept* 2006, **134**(2-3):82-88.
71. Ciosek J, Drobnik J: **Galanin modulates oxytocin release from rat hypothalamo-neurohypophysial explant in vitro - the role of acute or prolonged osmotic stimulus.** *Endokrynol Pol* 2013, **64**(2):139-148.
72. Galfi M, Balaspiri L, Toth R, Pavo I, Csajbok E, Laszlo F, Morschl E, Varga C, Laszlo FA: **Inhibitory effect of galanin on dopamine induced increased oxytocin secretion in rat neurohypophyseal tissue cultures.** *Regul Pept* 2003, **116**(1-3):35-41.

73. Korbonsits M, Jacobs RA, Aylwin SJ, Burrin JM, Dahia PL, Monson JP, Honegger J, Fahlbush R, Trainer PJ, Chew SL *et al*: **Expression of the growth hormone secretagogue receptor in pituitary adenomas and other neuroendocrine tumors.** *J Clin Endocrinol Metab* 1998, **83**(10):3624-3630.
74. Spencer SJ, Xu L, Clarke MA, Lemus M, Reichenbach A, Geenen B, Kozicz T, Andrews ZB: **Ghrelin regulates the hypothalamic-pituitary-adrenal axis and restricts anxiety after acute stress.** *Biol Psychiatry* 2012, **72**(6):457-465.
75. Broglio F, Benso A, Castiglioni C, Gottero C, Prodham F, Destefanis S, Gauna C, van der Lely AJ, Deghenghi R, Bo M *et al*: **The endocrine response to ghrelin as a function of gender in humans in young and elderly subjects.** *J Clin Endocrinol Metab* 2003, **88**(4):1537-1542.
76. Messini CI, Dafopoulos K, Chalvatzas N, Georgoulas P, Anifandis G, Messinis IE: **Effect of ghrelin and metoclopramide on prolactin secretion in normal women.** *J Endocrinol Invest* 2011, **34**(4):276-279.
77. Ogata R, Matsuzaki T, Iwasa T, Kiyokawa M, Tanaka N, Kuwahara A, Yasui T, Irahara M: **Hypothalamic Ghrelin suppresses pulsatile secretion of luteinizing hormone via beta-endorphin in ovariectomized rats.** *Neuroendocrinology* 2009, **90**(4):364-370.
78. Susic-Jurjevic B, Stevanovic D, Milosevic V, Sekulic M, Starcevic V: **Central ghrelin affects pituitary-thyroid axis: histomorphological and hormonal study in rats.** *Neuroendocrinology* 2009, **89**(3):327-336.
79. Carlini VP, Varas MM, Cragolini AB, Schioth HB, Scimonelli TN, de Barioglio SR: **Differential role of the hippocampus, amygdala, and dorsal raphe nucleus in regulating feeding, memory, and anxiety-like behavioral responses to ghrelin.** *Biochem Biophys Res Commun* 2004, **313**(3):635-641.
80. Jaszberenyi M, Bujdoso E, Bagosi Z, Telegdy G: **Mediation of the behavioral, endocrine and thermoregulatory actions of ghrelin.** *Horm Behav* 2006, **50**(2):266-273.
81. Shibata K, Hosoda H, Kojima M, Kangawa K, Makino Y, Makino I, Kawarabayashi T, Futagami K, Gomita Y: **Regulation of ghrelin secretion during pregnancy and lactation in the rat: possible involvement of hypothalamus.** *Peptides* 2004, **25**(2):279-287.
82. Olszewski PK, Bomberg EM, Martell A, Grace MK, Levine AS: **Intraventricular ghrelin activates oxytocin neurons: implications in feeding behavior.** *Neuroreport* 2007, **18**(5):499-503.
83. Smith RG: **Development of growth hormone secretagogues.** *Endocrine reviews* 2005, **26**(3):346-360.
84. Patel K, Dixit VD, Lee JH, Kim JW, Schaffer EM, Nguyen D, Taub DD: **Identification of ghrelin receptor blocker, D-[Lys3] GHRP-6 as a CXCR4 receptor antagonist.** *Int J Biol Sci* 2012, **8**(1):108-117.

85. Maletinska L, Matyskova R, Maixnerova J, Sykora D, Pychova M, Spolcova A, Blechova M, Drapalova J, Lacinova Z, Haluzik M *et al*: **The Peptidic GHS-R antagonist [D-Lys(3)]GHRP-6 markedly improves adiposity and related metabolic abnormalities in a mouse model of postmenopausal obesity.** *Mol Cell Endocrinol* 2011, **343**(1-2):55-62.
86. Prevot V, Dehouck B, Sharif A, Ciofi P, Giacobini P, Clasadonte J: **The Versatile Tanycyte: A Hypothalamic Integrator of Reproduction and Energy Metabolism.** *Endocr Rev* 2018, **39**(3):333-368.
87. Rodriguez EM, Blazquez JL, Guerra M: **The design of barriers in the hypothalamus allows the median eminence and the arcuate nucleus to enjoy private milieus: the former opens to the portal blood and the latter to the cerebrospinal fluid.** *Peptides* 2010, **31**(4):757-776.
88. Rhodes CH, Morrell JI, Pfaff DW: **Immunohistochemical analysis of magnocellular elements in rat hypothalamus: distribution and numbers of cells containing neurophysin, oxytocin, and vasopressin.** *J Comp Neurol* 1981, **198**(1):45-64.
89. Takayama K, Johno Y, Hayashi K, Yakabi K, Tanaka T, Ro S: **Expression of c-Fos protein in the brain after intravenous injection of ghrelin in rats.** *Neurosci Lett* 2007, **417**(3):292-296.
90. Fry M, Ferguson AV: **The sensory circumventricular organs: brain targets for circulating signals controlling ingestive behavior.** *Physiol Behav* 2007, **91**(4):413-423.
91. Fraley GS, Ritter S: **Immunolesion of norepinephrine and epinephrine afferents to medial hypothalamus alters basal and 2-deoxy-D-glucose-induced neuropeptide Y and agouti gene-related protein messenger ribonucleic acid expression in the arcuate nucleus.** *Endocrinology* 2003, **144**(1):75-83.
92. Zigman JM, Jones JE, Lee CE, Saper CB, Elmquist JK: **Expression of ghrelin receptor mRNA in the rat and the mouse brain.** *J Comp Neurol* 2006, **494**(3):528-548.
93. Hashimoto H, Fujihara H, Kawasaki M, Saito T, Shibata M, Otsubo H, Takei Y, Ueta Y: **Centrally and peripherally administered ghrelin potently inhibits water intake in rats.** *Endocrinology* 2007, **148**(4):1638-1647.
94. Langlet F, Mullier A, Bouret SG, Prevot V, Dehouck B: **Tanycyte-like cells form a blood-cerebrospinal fluid barrier in the circumventricular organs of the mouse brain.** *J Comp Neurol* 2013, **521**(15):3389-3405.
95. Cabral A, Portiansky E, Sanchez-Jaramillo E, Zigman JM, Perello M: **Ghrelin activates hypophysiotropic corticotropin-releasing factor neurons independently of the arcuate nucleus.** *Psychoneuroendocrinology* 2016, **67**:27-39.
96. Cabral A, Suescun O, Zigman JM, Perello M: **Ghrelin indirectly activates hypophysiotropic CRF neurons in rodents.** *PLoS One* 2012, **7**(2):e31462.

97. Posa A, Szabo R, Kupai K, Csonka A, Szalai Z, Veszelka M, Torok S, Daruka L, Varga C: **Exercise training and calorie restriction influence the metabolic parameters in ovariectomized female rats.** *Oxid Med Cell Longev* 2015, **2015**:787063.

### **13. Köszönetnyilvánítás**

Elsőként témavezetőmnek, Dr. Pósa Anikó egyetemi docensnek szeretném kifejezni hálámat, aki szakmai észrevételeivel és útmutatásaival segítette munkámat.

Köszönettel tartozom egykori és jelenlegi tanszékvezetőnknek, Dr. Toldi József egyetemi tanárnak és Dr. Varga Csaba egyetemi docensnek, akik lehetővé tette számomra, hogy munkámat az Élettani, Szervezettani és Idegtudományi Tanszéken végezhessem.

Köszönetem szeretném kifejezni Dr. László A. Ferenc tudományos tanácsadónak, a neuroendokrinológiai ismeretek elsajátításában nyújtott segítségéért.

Köszönöm Dr. Gálfi Mártának, Dr. Radács Mariannának, Dr. Gardi Jánosnak, Dr. Tóth Gábornak, Dr. Molnár H. Andornak, Daruka Lejlának, valamint az endokrin labor további munkatársainak a kísérletekben nyújtott segítségüket, hasznos tanácsaikat.

A kutatást az Emberi Erőforrások Minisztériuma 20391-3/2018/FEKUSTRAT, továbbá a GINOP-2.3.2-15-2016-00035 támogatta.

## 14. Tudományos közlemények listája

Dr. Ménesi Rudolf MTMT azonosító:

<https://m2.mtmt.hu/gui2/?type=authors&mode=browse&sel=10066795>

### A doktori fokozatszerzéshez felhasznált tudományos közlemények:

1. Szabó R.\*, Ménesi R.\*, Molnár H A., Szalai Z., Daruka L., Tóth G., Gardi J., Gálfi M., Börzsei D., Kupai K., Juhász A., László F A., Varga C., Pósa A.

New Metabolic Influencer on Oxytocin Release: The Ghrelin

*Molecules* 2019 Feb 18;24(4)

IF: 3,060

\*= megosztott elsőszerezőség

2. Pósa A., Kupai K., Ménesi R., Szalai Z., Szabó R., Pintér Z., Pálfi G., Gyöngyösi M., Berkó A., Pávó I., Varga C.

Sexual dimorphism of cardiovascular ischemia susceptibility is mediated by heme oxygenase

*Oxid Med Cell Longev.* 2013;2013:521563

IF: 4,58