

Intrauterin alultáplált patkányok táplálékfelvétel- és cukorháztartás-szabályozásában fellépő agyi változások vizsgálata

Doktori tézisek

Durst Máté

Semmelweis Egyetem
Szentágotthai János Idegtudományi Doktori Iskola



Témavezető: dr. Tóth Zsuzsanna, PhD, tudományos főmunkatárs

Hivatalos bírálók: Dr. Dávid Csaba, Ph.D., egyetemi docens

Dr. Kalló Imre, Ph.D., főmunkatárs

Szigorlati bizottság:

Elnöke: Dr. L. Kiss Anna, az MTA doktora, egyetemi tanár

Tagjai: Dr. Hrabovszky Erik, az MTA doktora, tud. tanácsadó

Dr. Barna János, Ph.D., egyetemi docens

Budapest
2022

1. Bevezetés

Intrauterin növekedési retardációról (IUGR) akkor beszélünk, amikor a magzat méhen belüli fejlődése kórosan elmarad a nemének és életkorának megfelelő normától. Ez az állapot a súlyos perinatalis kockázatokon túl hosszú távon növeli az elhízásra, metabolikus szindróma és 2-es típusú cukorbetegség kialakulására való hajlamot. A fenotípus kialakulásának hátterében az ún. magzati programozás áll, az a folyamat, melynek során a szervezet saját hosszútávú működését a korai károsodásra reagálva változtatja meg. Többek között megváltozik a táplálékfelvétel, az energialeadás, a cukorháztartás szabályozása is. Intrauterin retardáció esetén a sanyarú méhen belüli körülmények hatására a tápanyagok raktározására, felhalmozására rendezkedik be a szervezet. Egyik jele ennek az intenzív „catch-up” growth (felzárkózó növekedés), amikor az érintettek fiatal életkorban fokozott testtömegnövekedéssel reagálnak a korábbi lemaradásra, ezzel utolérve, vagy le is hagyva nem IUGR társaikat. Az anya tápjában jelenlevő fehérje markáns csökkentése a fenotípus kutatásának egyik leggyakrabban alkalmazott modellje, mi is ezt használtuk. Ez a modell abban segített minket, hogy az elhízás és a cukorbetegség megjelenése előtt kialakuló, az előbbiekk kóroktanában esetlegesen szerepet játszó változásokat tanulmányozhassuk.

A táplálékfelvétel központi idegrendszeri szabályozása két rendszeren: a homeosztatikussal és a jutalmi szabályozáson keresztül valósul meg.

A táplálkozási jutalom fiziológiás komponensei a „liking”, azaz ízletesség, a „wanting”, azaz a motivációs, étvágy-komponens és az előzőekhez társuló tanulás. Míg a „liking” megváltozását elsősorban a táplálékfelvétel finommotorikája jelzi, az elfogyasztott mennyiség, a táppreferencia inkább a „wanting” tényező változására utalnak. A wantingről azt is bebizonyították, hogy működése, szabályozása a mesotelencephalicus dopaminerg rendszereken keresztül valósul meg.

A jutalmi rendszer fő tengelye a ventralis tegmentalis areából a nucleus accumbens (NAc) nevű magba haladó mesolimbikus dopaminerg pálya, amely döntően 1-es (D1R) és 2-es típusú (D2R) dopaminreceptorok aktivitásán keresztül befolyásolja a nucleus accumbens működését. A NAc területén core és shell

alterületeket különböztetünk meg. A magon belül liking a medialis shell rostralis részén reprezentálódik, míg a wanting itt, valamint a core egész területén. Kimutatták, hogy a medialis shell D1-receptor-pozitív neuronjai beidegzik a lateralis hypothalamus rostralis részét, ott GABA-erg, orexin- és MCH-negatív orexigén neuronokat elérve. A D1R-pozitív neuronok aktivációja leállítja a táplálékfelvételt. Látható tehát a NAc részvételével megvalósuló jutalmi táplálékfelvétel funkcionális szerepe, kérdés, hogy mérhető-e ennek a rendszernek a megváltozása intrauterin alultápláltakban?

A központi idegrendszer a táplálékfelvételen kívül a vércukorszintet is szabályozza. A hypothalamuson belül kiemelendő az arcuatus mag (ARC) szerepe. Mind a medialis AgRP/NPY-t koexpresszáló sejtek, mind a lateralis POMC/CART koexpresszáló neuronok részt vesznek a szabályozásban. Az inzulin például az AgRP-neuronokon keresztül hatva csökkenti a máj glükóztermelését, amely csökkenés akár 40 %-ot is elérhet. Egy POMC-pozitív neuronpopuláció pedig a vagus motoros magján keresztül serkenti a máj glükóztermelését.

Az intrauterin alultápláltak cukorháztartásának vizsgálatát indokolja, hogy a 2-es típusú cukorbetegségben szenvedők egy jelentős hányada nem elhízott és ezen esetekben a betegség patomechanizmusában komolyan felmerül az intrauterin növekedési retardáció szerepe. Ilyenkor az érintettek catch-up growth jelenséget mutatnak, és a cukorbetegség előbb jelentkezik náluk, mint az esetleg meg sem jelenő elhízás.

A nesfatin-1 nevű peptid a nucleobindin-2 (Nuc2) prohormon 82 aminosav hosszú N-terminális fragmentje. Először 2006-ban írták le, egy olyan neuropeptidként, amely icv alkalmazva leptintől független módon anorexigén és hosszú távon súlycsökkentő hatással bír. Azóta azonban számos szervben és számos fiziológiás, illetve patológiás folyamatban való szerepét bizonyították. Kimutatták azt is, hogy a cukorháztartás központi idegrendszeri szabályozásában is szerepet játszik. Icv bejuttatása többek között csökkenti a vércukorszintet, mégpedig az izom cukorfelvételének fokozása, az inzulinreceptor-jelátvitel elősegítése, a

glükoneogenesis csökkentése és a máj foszfoenolpiruvát-karboxikináz gátlása révén. Hypothalamicus gátlása viszont növeli a máj glükóztermelését és csökkenti a perifériás szervek glükózfelvételét. Icv injekciója növeli a máj és más perifériás szervek inzulinérzékenységét. A hypothalamusban elsősorban a supraopticus (SON), paraventricularis (PVN), ARC magokban és a lateralis hypothalamicus area (LHA) területén expresszálódik.

Ezek az adatok tehát arra utalnak, hogy az agyi nesfatin-1-rendszer nem csak a táplálékfelvétel, hanem a glükózháztartás tekintetében is ígéretes célpontja lehet a metabolikus szindróma és a 2-es típusú cukorbetegség kezelésének. Mi a nem elhízott, intrauterin-alultápláltakban kialakuló cukorbetegségben játszott esetleges szerepére voltunk kíváncsiak.

2. Célkitűzések

Feltételeztük, hogy az intrauterin korban történő fehérje-alutáplálás a nucleus accumbens szabályozó köreiben hosszútávú változásokat okoz, és a jutalmi táplálékfelvétel leállításában részt vevő mechanizmusokat befolyásolja.

1. Egy olyan, működő intrauterin fehérje-alutáplált modell felállítását, amely catch-up growth jelenséget mutat
2. Az intrauterin alutáplált modellállatokon a jutalmi tápfelvétel és a tápfelvétel mozgásmintázatának mérése, karakterizálása
3. A jutalmi tápfelvétel közben a nucleus accumbens és a lateralis hypothalamus területén aktiválódó idegsejtek analízise
4. A nucleus accumbens dopaminreceptor expressziójának leírása
5. A jutalmi tápfelvétel közben aktiválódó accumbens sejtek dopaminreceptor-expressziójának vizsgálata
6. A jutalmi tápfelvétel befolyásolása DIR aktiválásával az accumbens mag medialis shell régiójában

Feltételeztük, hogy a rendszernek szerepe van az IUGR talaján létrejövő nem-elhízott 2TDM kialakulásában a hypothalamicus cukorháztartás-szabályozás befolyásolása révén. Emellett feltettük a kérdést, hogy az IUGR fenotípusban a Nucleus accumbens/nesfatin-1 rendszer részvételével zajló homeosztatisz táplálékfelvételi mechanizmusok megváltoznak-e.

7. Az intrauterin fehérjeredukált (FR) állatok cukorháztartásának vizsgálata
8. Az intrauterin fehérjeredukált állatok hypothalamicus nesfatin-expressziójának vizsgálata
9. A nesfatin-1-nek NR és FR állatok táp- és vízfelvételére, valamint éheztetés következtében megjelenő hypothalamicus sejtaktivációjára való vizsgálata
10. A nesfatin-1, illetve a nesfatin-1-rezisztencia lehetséges hatásának feltárása a kísérleti állatok cukorháztartására

3. Módszerek

Állatok

A kísérletekben patkányokkal (*Rattus norvegicus*) (Wistar) dolgoztunk. Standard laboratóriumi körülmények között voltak tartva, $20,5 \pm 1,5$ °C között, 12 h sötét és 12 h világos fényváltásban. Altatás céljából (műtétek és transcardialis perfúziók) ketamin (75 mg/ttkg) és xylasin (15 mg/ttkg) elegyét alkalmaztuk intramuscularisan. A kísérleteket a Semmelweis Egyetem Munkahelyi Állatjóléti Bizottsága engedélyezte (engedélyszámok: XIV-I-001/2262-4/2012; PE/EA/1563-7/2017; PE/EA/1122-2-7/2020).

Intrauterin fehérjeredukált modell

Az anyák egy része fehérjeredukált (fehérjetartalom a kontroll kb. 44 %-a), másik része kontroll tápot kapott a vemhesség időtartama alatt. A fehérjeredukált tápot fogyasztó anyák utódait intrauterin fehérjeredukált (FR), a kontroll tápot fogyasztó anyák utódait nem intrauterin fehérjeredukált (NR) állatoknak neveztük el.

A kísérleteket újszülött, 6 hetes és felnőtt 12-14 hetes állatokon végeztük.

Mágneses rezonancia képalkotás

Testösszetétel mérést (zsírtömeg, sovány tömeg, szabad és összes víztartalom) végeztünk felnőtt, éber állatokon egy EchoMRI készülék használatával.

A jutalmi tápfogyasztás értékelése

Az ízletes, magas élvezeti értékkel bíró táp fogyasztásához való affinitást cukrozott, sűrített tej (CST) (csapvízben 1:2 arányban hígítva) itatásával mértük. A kísérleti ketrecbe helyezett állatok 10 percig ihattak ebből a tápból. A kísérletről videófelvételt készítettünk, az állatokat 90 perccel később perfundáltuk.

D1R-agonista kezelés

A kísérlet az előző pontban leírtakkal megegyezően zajlott, az intraaccumbalis injekciót kivéve, amit az állatok a CST felkínálása előtt 10 perccel kaptak. A különböző csoportba tartozó állatoknak 0,5 vagy 3 µg-nyi 1 µl fiziológiás

sóoldatban feloldott SKF-82958-et, egy szelektív D1 receptor agonistát, illetve fiziológias sóoldatot (kontroll) adtunk be a NAc medialis shell alrégiójába.

Intraperitoneális glükóz (ipGTT) és inzulin- (ipITT) tolerancia tesztek

12 órás éheztetés után 2 g/ttkg glükózt vagy 0,75 NE/ttkg inzulint juttattunk be intraperitonealisan az állatokba, mindkettőt fiziológias sóoldatban oldva. A glükózkoncentrációt a farokhegyből vett vérmintákból határoztuk meg a beadás előtt, valamint utána 15, 30, 60, 90, 120 és 150 perccel.

Akut intracerebroventricularis (icv) nesfatin-1 beadás

Icv kanült ültettünk be felnőtt állatok jobb oldali oldalkamrájába.

Az állatokat négy csoportra osztottuk: NR-Sóoldat, NR-Nesfatin-1, FR-Sóoldat, FR-Nesfatin-1. 25 pmol nesfatin-1-et (5 µl fiziológias sóoldatban oldva) vagy sóoldatot kaptak az éjjeli, sötét fázis kezdetekor. Ezt az akut nesfatin-1-beadást kétféle kísérletben alkalmaztuk.

1. A nesfatin-1 táp- és vízfelvételekre kifejtett hatását vizsgálándó az icv beadás után a rendelkezésükre álló tápot, illetve vizet 4, 8, illetve 12 óra múlva visszamértük.

2. A nesfatin-1-nek az éhezés-indukálta hypothalamicus sejtaktivációra (cFos) kifejtett hatását vizsgálándó az állatokat 24 óra hosszan éhezettük a beadás előtt, majd 90 perccel a beadás után transcárdialisan perfundáltuk őket.

Krónikus icv nesfatin-1 beadás

Alzet ozmotikus minipumpát ültettünk be az állatok bőre alá, és az ahhoz csatlakoztatott agyba vezethető katétert az állatok jobb agykamrájába. A minipumpa nesfatin-1-et (70 pmol/nap) vagy csupán a vivőanyagot juttatta be az agykamrába 1 µl/h sebességgel 7 napon keresztül.

A beadási időszak hetedik napján ipGTT, egy napra rá ipITT tesztet végeztünk.

A jutalmi tápfelvétel mintázatának elemzése

A jutalmi tápfelvételekről készített videofelvételeken a tápfelvétel idejét, a nyelvcsapási klaszterek (több, mint 500 ezredmásodperc szünettel elválasztott ivási

folyamatok) számát és időtartamát, a kezdő és átlagos nyelvcsapási frekvenciát határoztuk meg.

Immunhisztokémia (IHC) és analízis

A standard IHC-i reakciókat (szimpla cFos, szimpla D1R, dupla cFos-orexin, dupla cFos-MCH) 50 µm vastag, perfundált és fixált, szabadon úszó metszeteken végeztük standard protokollok szerint.

Az *in situ* hibridizáció előtt alkalmazott cFos immunhisztokémia esetén módosított, szérumentes protokollt alkalmaztunk, steril oldatokat használtunk.

A cFos-jelölt sejtek számolását a metszetekről készített világos látóterű képeken végeztük bilaterálisan, előre kijelölt területek alapján.

A D1R-immunpozitív metszetek értékelése során a NAc medialis shell és a core területén szürkeárnyalatos képen határoztuk meg az optikai denzitást.

In situ hibridizáció

Preproenkephalin, D1R, D2R, valamint tirozin-hidroxiláz mRNS-t mutattunk ki *in situ* hibridizációs (ISH) technikával.

A D1R és D2R mRNS expressziót autoradiográfiás, emulzióval fedett metszeteken értékeltük. A sejt területén az ezüstszemcsék sűrűségét mértük le és a háttér levonása után az expressziót átlagos pixel/sejt formában fejeztük ki. A TH prekursor RNS expressziós szintjét értékelendő az autoradiográfiás metszeteket egy képpalkotó lemezre vetítettük és az erről nyert képet értékeltük.

A NAc-ben együttesen alkalmazott D1R-jelölés és cFos immunhisztokémia értékelésekor a kétszeresen (cFos+D1R) jelölt sejteknek az összes cFos-pozitív sejthez viszonyított arányát számoltuk ki.

Statisztika

A statisztikai számításokat a Sigmaplot 3.5 programot használva végeztük el. A különbségeket $p < 0.05$ esetén fogadtuk el statisztikailag szignifikánsnak. Az adatokat a grafikonokon átlag \pm átlag szórása alakban fejeztük ki.

4. Eredmények

Az FR állatok fejlődése

Az FR-ek születési súlya szignifikánsan alacsonyabb volt az NR csoportnál. Testtömegük ezután az első és a második, valamint a negyedik héten sem érte el az NR csoport testtömegét. Ezután az FR állatok súlyban kezdtek felzárkózni az NR csoporthoz, az 5. héttől már nem különbözött a testtömegük.

Az első életheten az FR-ek lemaradtak a NR-ek mögött relatív, testtömegre viszonyított gyarapodás tekintetében. A második, a harmadik, az ötödik és a hatodik héten viszont gyorsabban gyarapodtak, mint az NR-ek („*catch up*” növekedés).

Az FR csoport a tizenegyedik héttől kezdve többet evett, mint a NR.

Az Echo MRI segítségével végzett testösszetétel mérés azt igazolta, hogy a 12 hetes NR és FR állatok nem különböztek egymástól zsírosszetételben, sovány testtömegben, valamint a teljes- és szabadvíz-tartalomban sem.

Magas élvezeti értékkel bíró táp fogyasztásának elemzése

A tápfelvételi jutalmi mechanizmusok vizsgálata céljából igen ízletesnek minősülő, CST-et kínáltunk jóllakott állatoknak. Az FR patkányok többet fogyasztottak az édes oldatból.

A CST-ívás alatt mutatott motorikus cselekmények mintázatának elemzése az FR állatok enyhe, nem szignifikáns ivási idő növekedését mutatta. Az ivás alatt mérhető finommotorikai mutatókban nem volt különbség a csoportok között.

A táplálkozási jutalom hatása a cFos által jelzett neuronális aktivációra a NAc és a rostralis LHA területén

A CST fogyasztása következtében aktiválódó neuronokat cFos IHC segítségével azonosítottuk. A cFos-pozitív neuronokat megszámláltuk a NAc „core” al régiójában, amely a jutalom motivációs komponenséért felelős, és a medialis shell régióban, amely a motiváció mellett a „liking” reprezentációs helye is, de különbséget egyik területen sem találtunk.

Arra is kíváncsiak voltunk, hogy a jutalmi tápfelvétel tükröződik-e valahogyan az aktiválódott neuronok számában. Az elfogyasztott CST mennyisége és a cFos-pozitív sejtszám között szoros, lineáris, pozitív korrelációt találtunk a medialis shell területén mindkét csoportban. Mindazonáltal az FR csoportban több elfogyasztott mennyiséghez társult ugyanannyi pozitív sejt, mint a NR csoportban.

A „core” régióban csak az FR állatoknál találtuk meg ezt a szoros korrelációt.

A magas élvezeti értékkel bíró táp fogyasztására bekövetkező neuronális aktivációt a medialis shell idegsejtjeinek vetítési területén, a rostralis LHA régiójában is meghatároztuk. A magasabb jutalmi tápfelvételt mutató FR állatoknak több sejt aktiválódott a perifornicalis régióban, a tractus opticus melletti területen viszont nem volt különbség a csoportok között.

MCH- és orexin-pozitív sejteket nem találtunk ezen a rostrocaudalis szinten. Caudalisabban viszont a fornixtól medialisan több cFos-pozitív sejt orexin-pozitívnek is bizonyult.

A dopaminerg transzmisszió fő elemeinek kiértékelése

A medialis shell alrégióban jelentősen kevesebb D1R mRNS expresszáldott a neuronok számáján FR állatokban a NR csoporthoz képest, de ilyen különbséget a core területen nem találtunk. Sem a D2R, sem a preproenkephalin tekintetében nem találtunk különbséget a csoportok között egyik területen sem.

Ezzel párhuzamosan, a D1R immunhisztokémia eredménye ugyanezt mutatta: csak a medialis shell területén igazolódott csökkent D1R expresszió.

A dopaminháztartás további vizsgálata céljából megmértük a TH heteronukleáris RNS expresszióját a VTA területén, de nem találtunk különbséget a csoportok között.

A medialis shell-ben található D1R-pozitív neuronok jutalmi tápfelvételben való szerepe

Normálisan táplált állatokkal (NR) újra elvégeztük a jutalmi tápfelvétel értékelésére szolgáló kísérletet, hogy a D1R és a cFos kolokalizációját értékelhessük a medialis shell területén. Az aktiválódott, cFos-pozitív neuronok több mint 2/3-a

expresszált DIR mRNS-t is. A korrelációs analízis azt mutatta, hogy a korábban leírt erős lineáris korreláció az elfogyasztott CST mennyisége és a cFos-pozitív sejtek száma között csak a DIR-pozitív és nem a DIR-negatív sejteknek köszönhető.

A DIR-nak a táplálékfelvételi jutalmazási rendszerben betöltött szerepe vizsgálatához egy szelektív DIR agonistát, SKF-82958-at juttattunk be NR állatok jobb oldali medialis shell régiójába közvetlenül a jutalmi tápfelvétel előtt. Az alkalmazott mennyiségek (0,5 és 3 µg) jelentősen csökkentették az elfogyasztott CST mennyiségét, valamint a tápfelvétel időtartamát. A különböző dózisos hatása között nem volt szignifikáns különbség.

A csökkent tápfogyasztással összefüggésben, a medialis shell-beli DIR-stimuláció az LHA területén is a cFos-pozitív neuronok számának csökkenéséhez vezetett.

A DIR-agonista beadása nem befolyásolta a tápfogyasztási mintázat „liking”-gal összefüggésbe hozható finommotorikus elemeit.

Az FR állatok cukorháztartásának vizsgálata

Az intrauterin alultáplált állatok vizsgálatát intraperitoneálisan beadott glükóz és inzulin hatására változó vércukorszint mérésével folytattuk. 6 hetesen a két csoport képviselői ugyanúgy reagáltak glükózra, illetve inzulinra.

Azonban a 12. héten végzett mérések azt mutatták, hogy az FR állatok glükóztoleranciája és inzulinérékenysége is lecsökkent a NR csoporthoz képest. Ráadásul, az FR állatok már magasabb éhomi vércukorértékkel rendelkeznek, mint NR társaik.

In situ hibridizációval megvizsgáltuk a nesfatin-1 fehérje prekursorának, a Nucb2 fehérje mRNS-ének az expresszióját a hypothalamus különböző területein. Újszülött patkány agyában a Nucb2 minden vizsgált területen kimutatható volt, de nem volt génexpressziós különbség a csoportok között. Ezzel ellentétben, felnőtt, 12 hetes állatokból származó agyakon a PVN, ARC és LHA területén magasabb expressziós szintet mértünk.

A nesfatin-1 hatása a táp- és vízfelvétele

Icv nesfatin-1-et juttattunk 12 hetes patkányokba a sötét, aktív periódus kezdetekor és egy éjszakán keresztül mértük a táp- és vízfogyasztásukat. Míg a nesfatin-1 NR állatokba beadva a vivőanyaghoz képest az első, majd a második 4 órában is csökkentette a táp- és vízfogyasztást, az FR állatoknál ezt nem tapasztaltuk.

A nesfatin-1 hatása a hypothalamus éhezés-indukálta sejtaktivációjára

További kérdésként felmerült, hogy tudunk-e azonosítani a hypothalamusban egy olyan sejtsoprotot, amely aktiválódása szintén zavart szenved orexigén hajtóró (tápfelvételi késztetés) alatt nesfatin-1 hatására. Négy hypothalamicus régió (ARC, PVN, SON, LHA) sejteinek aktiválódását mértük le cFos markerrel, nesfatin-1 icv beadása után, amely 24 órás éheztetés végén történt. Azt láttuk, hogy egyedül az ARC régióban változott, nevezetesen csökkent a cFos-pozitív sejtek száma a nesfatin-1 hatására NR állatokban. Ez a csökkenés azonban nem volt kimutatható FR állatok esetén.

A krónikus centrális nesfatin-1 kezelés cukorházartásra való hatása

Következő kérdésként feltettük, hogy vajon a cukorházartás FR patkányokban tapasztalt elváltozásai összefügghetnek-e a tapasztalt nesfatin-1 rezisztenciával. 7 napos icv nesfatin-1 kezelésnek vetettük alá állatainkat. A nesfatin-1-kezelés lecsökkentette az NR állatok tápfelvételét. Az ipGTT és az ipITT, amely teszteket a krónikus kezelés végén végeztünk el, emelkedett glükóztoleranciát és inzulinérzékenységet igazolt a nesfatin-1-kezelt állatokban.

A kezelést megismételtük FR állatokon, feltéve a kérdést, hogy vajon az esetükben akutan kimutatott nesfatin-1 rezisztencia krónikus nesfatinkezelés esetén érvényesül-e a tápfelvétel és a cukorházartás tekintetében. Érdekes módon a nesfatinkezeltek tápfelvétele az első és a negyedik napon is alacsonyabb volt, mint a vivőanyagot-injektált csoportnak. Azonban sem az intraperitonealisan alkalmazott glükóz, sem az intraperitonealis inzulin hatására nem különbözött a vércukorgörbe a két kezelt csoport között az FR állatokban.

5. Következtetések

1. A nucleus accumbens rostralis medialis shell területén azonosítottunk egy DIR-pozitív sejtsoportot, amelynek aktivációja tükrözi a jutalmi tápfelvétel mértékét.
2. Az intrauterin fehérjeredukált (FR), metabolikus betegségre hajlamos, de még nem elhízott patkány medialis shell régiójában a neuronok jutalmi tápfelvételre való érzékenysége csökken, emellett a DIR alacsonyabb szinten expresszálódik.
3. DIR-agonista alkalmazásával bizonyítottuk, hogy a DIR funkcionális zavara hozzájárul az FR állatok megnövekedett jutalmi táplálékfelvételéhez. Ennek mechanizmusa a LHA orexigén neuronjainak nem megfelelő gátlása.
4. Az FR állatoknál a 6. és a 12. hét között csökkent glükóztolerancia és inzulinérzékenység kezdődik el, emelkedett éhomi glükózzal.
5. Az FR állatokban újszülött korban még nem, de felnőtt korban megnövekszik a Nucb2 expresszió a hypothalamus ARC, PVN és LHA területein.
6. Az icv beadott nesfatin-1 jól ismert, a homeosztikus táplálékfelvételi szabályozás elemeként azonosított táp- és vízfelvételt csökkentő hatása nem váltható ki FR állatokban.
7. Az ARC neuronok éhezésre való aktivációját a centrálisan alkalmazott nesfatin-1 gátolja. Ezzel szemben, FR állatok ARC magjában nesfatin-1 rezisztenciát mutattunk ki.
8. A krónikusan, 7 napig alkalmazott intracerebroventricularis nesfatin-1 javítja a glükóztoleranciát és az inzulinérzékenységet, viszont a 2TDM-re hajlamos FR állatok rezisztensek erre a hatásra.

6. Saját publikációk jegyzéke

Az értekezés alapjául szolgáló közlemények

Durst M, Könczöl K, Balázs T, Eyre MD, Tóth ZE. (2019) Reward-representing D1-type neurons in the medial shell of the accumbens nucleus regulate palatable food intake. *Int J Obes (Lond)*, 43: 917-927.

Durst M, Könczöl K, Ocskay K, Sípos K, Várnai P, Szilvássy-Szabó A, Fekete C, Tóth ZE. (2022) Hypothalamic Nesfatin-1 Resistance May Underlie the Development of Type 2 Diabetes Mellitus in Maternally Undernourished Non-obese Rats. *Frontiers in Neuroscience*, 16.

Egyéb, az értekezéshez fel nem használt közlemény

Matuska R, Zelena D, Könczöl K, Papp RS, Durst M, Guba D, Török B, Várnai P, Tóth ZE. (2020) Colocalized neurotransmitters in the hindbrain cooperate in adaptation to chronic hypernatremia. *Brain Structure & Function*, 225: 969-984.