

EGYETEMI DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

**A glukagon-típusú peptid-1 (GLP-1) és a melanin koncentrázó
hormon (MCH) mérésére szolgáló radioimmunoassay (RIA)
módszerek kifejlesztése és gyakorlati alkalmazásuk**

Lelesz Beáta



DEBRECENI EGYETEM

GYÓGYSZERÉSZETI TUDOMÁNYOK DOKTORI ISKOLA

Debrecen, 2017.

EGYETEMI DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

**A glukagon-típusú peptid-1 (GLP-1) és a melanin koncentráció
hormon (MCH) mérésére szolgáló radioimmunoassay (RIA)
módszerek kifejlesztése és gyakorlati alkalmazásuk**

Lelesz Beáta

Témavezető: Prof. Dr. Szilvássy Zoltán



DEBRECENI EGYETEM

GYÓGYSZERÉSZETI TUDOMÁNYOK DOKTORI ISKOLA

Debrecen, 2017.

**A GLUKAGON-TÍPUSÚ PEPTID-1 (GLP-1) ÉS A MELANIN KONCENTRÁLÓ
HORMON (MCH) MÉRÉSÉRE SZOLGÁLÓ RADIOIMMUNOASSAY (RIA)
MÓDSZEREK KIFEJLESZTÉSE ÉS GYAKORLATI ALKALMAZÁSUK**

Értekezés a doktori (PhD) fokozat megszerzése érdekében
a gyógyszerészeti tudományok tudományágban*

Írta: Lelesz Beáta okleveles molekuláris biológus

Készült a Debreceni Egyetem Gyógyszerészeti Tudományok doktori iskolája
(Farmakológia programja) keretében

Témavezető: Prof. Dr. Szilvássy Zoltán, az MTA doktora

A doktori szigorlati bizottság:

elnök: Prof. Dr. Tószaki Árpád, az MTA doktora
tagok: Prof. Dr. Wittmann István, az MTA doktora
Prof. Dr. Balla József, az MTA doktora

A doktori szigorlat időpontja: Debreceni Egyetem GyTK Gyógyszerhatástani Tanszék
Elméleti Tömb 5. emelet könyvtár
2017. október 24., 11:00 óra

Az értekezés bírálói:

Dr. Gardi János, PhD
Dr. Bhattoa Harjit Pal, PhD

A bírálóbizottság:

elnök: Prof. Dr. Tószaki Árpád, az MTA doktora
tagok: Prof. Dr. Balla József, az MTA doktora
Prof. Dr. Wittmann István, az MTA doktora
Dr. Bhattoa Harjit Pal, PhD
Dr. Gardi János, PhD

Az értekezés védésének időpontja: Debreceni Egyetem ÁOK
Belgyógyászati Intézet 'A' épület tanterme
2017. október 24., 13:00 óra

IRODALMI ÁTTEKINTÉS

Glukagon típusú peptid-1 (GLP-1) irodalmi áttekintése

A proglucagon, amely molekula prekuzora a glucagonnak és további más glucagon-típusú peptideknek (GLP-1, GLP-2, oxintomodulin), kódoló gént 1983-ban klónozták. Kiderült, hogy ugyanaz a gén egyaránt megtalálható a pancreas α -sejtjeiben, valamint a vékonybél L-sejtjeiben. A kétfajta sejtípusban termelődő proglucagon azonos felépítésű (160 aminosavat tartalmaz), ellenben a poszt-transzlációs folyamat, valamint az ennek során képződő biológiailag aktív peptidhormonok teljesen különböznek. A pancreas α -sejtjeiben képződik a glucagon, a vékonybél L-sejtjeiben a GLP-1 és GLP-2.

A GLP-1 megjelölés nem egy adott peptidre vonatkozik, hanem egy egész molekula csoportra, nevezetesen magába foglalja az alábbi peptideket: GPL-1 (1-37), GLP-1 (7-37), GLP-1 (9-37) továbbá az amidált formákat: GLP-1 (1-36)-NH₂, GLP-1 (7-36)-NH₂, GLP-1 (9-36)-NH₂. Biológiailag aktív formák ezek közül a GLP-1 (7-37) és a GLP-1 (7-36)-NH₂.

A GLP-1 peptidhormon számos biológiai hatással rendelkezik az élő szervezetben. Javítja a glükóz homeosztázist a tápanyag bevitel által kiváltott inzulin felszabadulás stimulálása és a glucagon elválasztás csökkentése révén. Cukorszint arányában fokozza az inzulin szekrécióját a pancreas-ból, ugyanakkor csökkenti a glucagon termelődését és felszabadulását. Fokozza a pancreas β -sejtjeinek növekedését és az inzulin termelődéséért felelős gén expresszióját. Nagymértékben fokozza az inzulin szenzitivitást. Gátolja a gyomorsav termelődést és csökkenti a gyomor kiürülés sebességét, ezáltal az éhségérzet kialakulása lelassul, a táplálék bevitelt mennyisége visszaesik. Látható, hogy a GPL-1 direkt és indirekt úton is hatással van a szervezet cukor háztartására, ezáltal fontos és tanulmányozandó faktorrá válik az obezitás és cukorbetegség mechanizmusának tanulmányozásában.

A GLP-1 RIA kifejlesztésében nagy nehézséget jelent a molekuláris sokféleség. Lehetetlen olyan RIA módszert kifejleszteni, amelyik egyforma mértékben méri valamennyi GLP-1 peptidet, ugyanakkor olyan assay sem dolgozható ki, amelyik csak egyetlen formát mér a hat variáns közül.

Melanin koncentráló hormon (MCH) irodalmi áttekintése

A melanin koncentráló hormont először 1983-ban, lazacok agyalapi mirigyéből izolálták és azonosították kémiai szerkezetét. Megállapítást nyert, hogy a halakból izolált MCH 17 aminosavból áll és ciklikus szerkezetű. Biológiai hatását tekintve, nagy szerepet játszik a csontos halak bőrének pigmentáció szabályozásában. Pár évvel később patkány hypothalamusból is sikerült izolálni az MCH-t. A patkány és egyben az emlős MCH szintén ciklikus szerkezetű, de nem azonos a korábban lazacokból izolált MCH-val. Az emlős MCH 19 aminosavból áll, (az N-terminális szakaszon 2 aminosavval hosszabb, továbbá a peptidláncban 4 helyen aminosav csere történt), amelyben di-szulfid híd kapcsolja össze a 7-es és 16-os pozícióban található Cys aminosavakat. A peptid Tyr-t is tartalmaz (13-as pozíció), amely a radioaktív (¹²⁵I) jelölés, a RIA kifejlesztés szempontjából fontos tényező.

A kémiai szerkezet és biológiai hatás összefüggéseit vizsgáló kísérletek során kimutatták, hogy a hurkos szerkezet elengedhetetlen a biológiai aktivitás szempontjából, valamint hogy a gyűrűben található Arg (arginin) és Tyr (tirozin) aminosavak fontos szerepet töltenek be az MCH biológiai hatásának kialakulásában. Az emlős MCH a poszt-transzlációs folyamat során egy 165 aminosavat tartalmazó prekursor polipeptid molekulából képződik. Az MCH eredetileg a preprohormon C-terminális részében foglal helyet, majd a 145-ös és 146-os Arg aminosavak közötti proteolitikus hasítás következtében válik szabaddá és alakul át biológiailag aktív peptid hormonná.

Az MCH emlősökben túlnyomórészt a laterális hipotalamuszban valamint a zona incertában expresszálódik, de megjelenése alacsony szinten néhány perifériás szervben, szövetben is megfigyelhető, mint például a hasnyálmirigyben, a vastagbél epiteliális sejtjeiben, valamint az adipocitákban.

A peptid emlősökben játszott élettani szerepével kapcsolatban kimutatták, hogy kulcsszerepet tölt be a táplálkozási viselkedés szabályozásában. Kontrol alatt tartja az energia egyensúlyt, a táplálék felvételt, a testsúlyt valamint az anyagcserét. MCH adásával fokozható a táplálék felvétel, ami hosszú távon súlygyarapodáshoz, majd elhízáshoz vezet. Ezekon túl bizonyítottan, vagy feltételezhetően részt vesz a cukorbetegség, a bélgyulladás kialakulásában, valamint az alvás-ébrenlét ciklus szabályozásában.

Radioimmunoassay (RIA) irodalmi áttekintése

A radioizotóppal jelzett reagenst alkalmazó ligandassay-k kifejlesztése a XX. század hatvanas éveiben kezdődött a radioimmunoassay, vagy röviden RIA kidolgozásával. Steve Berson és Rosalyn Yalow az inzulin mérésére alkalmazta először a módszert 1960-ban. Ligandassay-kben az antigén (mérendő anyag) meghatározására többségében immunglobulinok (immunoassay), de szükség szerint receptor fehérjék (receptorassay), vagy fiziológiás szállító fehérjék (kompetitív fehérje kötési analízis (CPBA)) használhatók specifikus kötőanyagok. A RIA alapja az antigén és az ellene termelt antitestek közötti immunkémiai reakció, amelynek során az antigén izotóppal jelölt és jelöletlen formája vetélkedik az antitest kötési helyeiért. A vetélkedés csak akkor valósul meg, ha a kötőhelyek száma jóval kevesebb, mint a bemért, kötődni képes hideg és jelölt antigén mennyisége. A módszer detektálhatóságát a jól mérhető jelet hordozó radioaktív anyag, a tracer biztosítja. Egy jó RIA-nál a mérési határ a 0,1 fmol/ml antigén koncentráció. A rendkívüli érzékenység abból adódik, hogy a módszer egyesíti magában az antigén-antitest reakciók specifikusságát, valamint az izotópos méréstechnika nagy érzékenységet. Az eljárásnak a kifejlesztése óta fennálló töretlen népszerűsége abban rejlik, hogy nagyon kis anyagmennyiségekből lehet pontos koncentráció meghatározást végezni sorozatmérésben. A módszer (amely szövetek és testnedvek hormontartalmának, szteroid koncentrációjának meghatározására alkalmas és ezzel hozzájárult az endokrinológia forradalmi megújításához) kifejlesztését 1977-ben Nobel-díjjal jutalmazták.

CÉLKITŰZÉS

Két olyan új radioimmunoassay (RIA) módszer kidolgozását terveztük, amelyek gyakorlati alkalmazása hasznos információkkal járulhat hozzá a Debreceni Egyetem, Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézetében folyó élettani alapkutatáshoz, nevezetesen a táplálkozás, az obezitás, az inzulin rezisztencia és a 2-es típusú cukorbetegség összefüggéseinek tanulmányozásához. RIA kifejlesztéshez kiválasztott két peptid hormon: a glukagon típusú peptid-1 (GLP-1) és a melanin koncentráló hormon (MCH). Ezek a peptidok biológiai hatásaik alapján (inzulintermelés szabályozása, táplálék felvétel kontrollálása)

fontos szerepet játszanak a szervezet energia egyensúlyának és anyagcseréjének a szabályozásában.

A RIA módszerek kifejlesztéséhez az alábbi részfeladatokat kellett megoldani:

- a GLP-1 és az MCH peptidek szintézise,
- immunogének készítése (a peptidek hordozó fehérjéhez történő kapcsolása),
- immunizálás (ellenanyagok termelése),
- az antiszérumok karakterizálása (titer, affinitás, specificitás),
- a peptidek radioaktív izotóppal történő jelölése,
- a RIA tracerek tisztítása,
- a RIA módszerek gyakorlati kivitelezése (optimális mérési körülmények meghatározása, szeparációs eljárás kiválasztása, az assay-k kiértékelése és ellenőrzése),
- a plazma- és szövetminták mérésre történő előkészítése.

Az újonnan kifejlesztett GLP-1 RIA módszerünk esetében tervbe vettük alkalmazását atípusos, antipszichotikum okozta elhízás és inzulin rezisztencia patkány modellben. A kísérletben patkányokat kezeltünk olanzapinnal, majd a vizsgálat végén megmértük az éhgyomri és a glükóz tolerancia teszt alatti plazma GLP-1 szinteket és meghatároztuk a glükóz toleranciát.

Laboratóriumunkban beállított MCH RIA módszerünk alkalmazásaként szöveti MCH tartalom meghatározásokat terveztünk. Wistar patkányok gasztorintesztinális traktusának egyes szakaszaiból, központi idegrendszeri területeikből és egyéb más perifériás szerveikből szöveti peptid koncentráció meghatározásokat végeztünk.

RIA MÓDSZEREK KIFEJLESZTÉSE

A GLP-1 és MCH RIA módszerek kifejlesztése során a következő részfeladatokat oldottuk meg:

A RIA módszerek kifejlesztéséhez szükséges peptid származékok (GLP-1 (19-37), Cys⁽⁰⁾-GLP-1 (19-37), MCH) szintézise a Szegedi Egyetem, Orvosi Vegytani Intézetében történt, Prof. Dr. Tóth Gábor vezetése mellett.

A GLP-1 és MCH peptidek hordozó fehérjéhez történő kapcsolására Michael addíciót, illetve glutaraldehydes technikát alkalmaztunk.

GLP-1 és MCH ellenes antitesteket nyulak immunizálásával termeltettünk. Elvégeztük az antiszérumok karakterizálását, amelynek során meghatároztuk titerüket, affinitási konstansukat, majd a specificitási vizsgálatok során kimutattuk, hogy a „GLP-1 3/7” jelzésű antiszérum gyakorlatilag 100 %-ban méri a GLP-1 (19-37) forma mellett a GLP-1 (1-37), GLP-1 (7-37) és GLP-1 (9-37) formákat, ellenben nem detektálja az azonos hormoncsaládba tartozó más peptideket.

Az MCH RIA módszer esetében használt „MCH 1/5” jelzésű antiszérum 100 %-ban méri az emlős MCH-t, a módosított MCH-t (Tyr⁽²⁾,Phe⁽¹³⁾-MCH), ellenben nem kötődik a peptid molekula gyűrűs szerkezetét adó aminosav szekvenciához, valamint az azonos hormoncsaládba tartozó más peptidekhez.

A GLP-1 és MCH peptidek ¹²⁵I izotóppal történő jelölésére iodogénes eljárást alkalmaztunk. A mono-jódozott radioaktív peptidek (RIA tracer) tisztítására fordított fázisú HPLC-t használtunk. A jelölési reakció során a jód beépülés határfoka mindkét peptid esetén elérte a 90 %-ot.

A RIA módszerek kifejlesztéséhez szükséges alapvető komponensek előállítását után meghatároztuk a módszerek optimális működési feltételeit, kiválasztottuk a megfelelő szeparációs eljárást, a kiértékelési módokat és az ellenőrzési rendszert.

A plazma GLP-1 koncentráció meghatározása alkoholos extrakciót követően történt. A patkány szöveti MCH tartalom mérése neutrális extraktumból valósult meg.

RIA MÓDSZEREK GYAKORLATI ALKALMAZÁSA

Az újonnan kifejlesztett GLP-1 RIA módszerünket atípusos, antipszichotikum okozta elhízás és inzulin rezisztencia patkány modellben alkalmaztuk elsőként. A kísérlet során olanzapinnal kezeltünk patkányokat, majd a vizsgálat végén megmértük az éhgyomri és a glükóz tolerancia teszt alatti plazma GLP-1 szinteket és meghatároztuk a glükóztoleranciát. A plazma GLP-1 koncentrációk az olanzapinnal kezelt csoportban alacsonyabb értékeket mutattak a kontroll csoporthoz képest, a vércukorszint értékek ezzel szemben az antipszichotikummal kezelt csoportban voltak magasabbak.

MCH RIA módszerünk első alkalmazásaként, patkányok gasztrintesztinális traktusának egyes szakaszaiból, központi idegrendszeri területeikből és egyéb más perifériás szerveikből szöveti peptid koncentráció meghatározásokat végeztünk. A gyomor-bél traktus, valamint a perifériás szervek MCH tartalmának eloszlására vonatkozó eredményeink teljesen új irodalmi adatokat szolgáltatottak. Nagyon magas MCH koncentrációt mértünk a vékonybélben, elsősorban a duodenumban, majd ezt követte a jejunum és az ileum. Szintén magas MCH koncentrációkat találtunk a hasnyálmirigyben és a vesében. Alacsonyabb MCH tartalom volt kimutatható a légcsőben és a májban, nagyon alacsony értékeket mértünk a többi vizsgált szövetmintában (fundus, antrum, vastagbél, végbél, tüdő, vázizom, szív). Nagy érzékenységű RIA módszerünket felhasználva, kutatócsoportunk alacsony, de jól mérhető MCH szinteket talált humán plazmában (nem publikált adat).

Kísérleti eredményeink és tudományos ismereteink alapján feltételezzük, hogy az MCH a szervezetben kettős szereppel rendelkezik. Egyrészt neuro-transzmitter a központi idegrendszerben, másrészt étkezés hatására felszabaduló gasztrintesztinális keringő hormon is, amely fontos szerepet játszhat nemcsak a táplálékfelvétel szabályozásában, hanem az emésztés folyamatában is. Feltételezhetően hatással van olyan betegségek kialakulására, mint a kóros elhízás, vagy éppen a kóros soványság. Nagy érzékenységű és specifikus MCH RIA módszerünk klinikai alkalmazása távlatokat nyithat meg akár még eddig ismeretlen kórképek (pl. MCH termelő adenoma) megismeréséhez is.

ÖSSZEFOGLALÁS

Az értekezésben két biológiailag aktív peptid hormon, nevezetesen a glukagon típusú peptid-1 (GLP-1) és a melanin koncentráció hormom (MCH) mérésére szolgáló radioimmunoassay (RIA) módszerek kifejlesztését, valamint elsődleges gyakorlati alkalmazásukkal kapott eredményeinket foglaltam össze. Mindkét peptid fontos szerepet tölt be a szervezet energiaháztartásának szabályozásában és miután intézetünk egyik fontos kutatási területe a táplálkozás, az elhízás, az inzulin rezisztencia, valamint a 2-es típusú cukorbetegség kialakulásának tanulmányozása, a magas színvonalú laborhátter biztosítása érdekében fontosnak tartottuk ezen új RIA eljárások kifejlesztését, hogy használatuk napi rutinszerű alkalmazása váljon elérhetővé.

A módszerek kidolgozásához szükséges GLP-1 és MCH peptidek szintézise, valamint a nyulak immunizálásához szüksége immunogének előállítása (a peptidek BSA hordozó fehérjéhez történő kapcsolása) a Szegedi Tudományegyetem, Orvosi Vegytani Intézetében történt, prof. Dr. Tóth Gábor vezetése mellett. A RIA módszerek kifejlesztésének többi lépését: ellenanyagok termelése nyulak immunizálásával, az antiszérumok karakterizálása (titer, affinitás, specificitás), a ^{125}I izotóppal jelölt RIA tracer előállítása (radioaktív jelölés, HPLC tisztítás), a RIA eljárások optimális működési körülményeinek beállítása, a módszerek analitikai jellemzőinek meghatározása, majd a beállított módszer gyakorlati alkalmazása (plazma GLP-1, valamint szöveti MCH szintek mérése), intézetünk izotóp laboratóriumában magunk végeztük.

GLP-1 RIA módszerünk esetében a kalibrációs görbe D_{50} értéke 10 meghatározás alapján: $15,18 \pm 2,02$ fmol/ml. Az assay kimutatási határkoncentrációja GLP-1 peptide: 0,4 fmol/ml. MCH RIA esetében a kalibrációs görbe D_{50} értéke: $11,93 \pm 1,78$ fmol/ml, az MCH-ra vonatkoztatott kimutatási határkoncentráció: 0,2 fmol/ml.

A GLP-1 és MCH mérésére kidolgozott RIA módszereink nagy érzékenységűek és specifikusak a mérni kívánt hormonokra. Egyaránt felhasználhatók plazma és szöveti peptid koncentrációk meghatározására.

KULCSSZAVAK

RIA, GLP-1, MCH, ^{125}I , HPLC tisztítás, radioaktív jelölés

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Kiemelt köszönettel tartozom Szilvássy Zoltán Professzor Úrnak, a Debreceni Egyetemek Rektorának, valamint az Általános Orvostudományi Kar, Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet vezetőjének és egyben témavezetőmnek, hogy támogatta és lehetővé tette számomra az intézetben végzett munkát.

Köszönetemet szeretném kifejezni mentoromnak Dr. Németh Józsefnek, hogy időt és energiát nem sajnálva, munkámat hasznos elméleti és gyakorlati tanácsaival maximálisan támogatta és lehetővé tette, hogy sikeresen végezzem tudományos munkámat, és ez által megírhassem doktori disszertációm.

Köszönettel tartozom a Szegedi Egyetem, Orvosi Vegytani Intézetében dolgozó Tóth Gábor Professzor Úrnak, az antigének szilárd fázisú szintézisének elkészítéséért.

Külön köszönöm a munkáját Dr. Kovács Diána Klárának és Dr. Hegedűs Csabának, akik az állatkísérletek kivitelezésében, a patkány szervek és szövetminták kivételében nyújtottak nélkülözhetetlen segítséget, valamint a Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet valamennyi dolgozójának.

Külön köszönettel tartozom családomnak és barátaimnak, akik mindvégig kitartottak mellettem és maximálisan támogattak céljaim elérésében.

KONFERENCIASZEREPLÉSEK

Horvath G., Nemeth J., **Lelesz B.**, Tamas A., Reglodi D., Kiss P.:
Environmental enrichment changes the levels of PACAP in the central nervous system.
The 11th International Symposium on VIP, PACAP and Related Peptides
Pécs, 2013. augusztus 27-31.

Tamas A., Javorhazy A., Csanaky K., Ragnhildstveit E., Vikjord S.A., Sarlos P.D., Sarszegi Zs., Zapf I., Szanto Z., Faludi B., Molnar T., Nemeth J., Banki E., **Lelesz B.**, Reman Gy., Reglodi D.:
Examination of PACAP-like immunoreactivity in different pathological clinical samples.
The 11th International Symposium on VIP, PACAP and Related Peptides
Pécs, 2013. augusztus 27-31.

Sandor B., Szanto I., Szanto Z., Krajczar K., Hani E., Nemeth J., **Lelesz B.**, Reglodi D., Tamas A.:
Pituitary adenylate cyclase activating polypeptide-like immunoreactivity in human dental pulp samples.
The 11th International Symposium on VIP, PACAP and Related Peptides
Pécs, 2013. augusztus 27-31.

Koppan M., Szogyi D., Varnagy A., Bodis J., Tamas A., Brubel R., Nemeth J., **Lelesz B.**, Mark L., Reglodi D.:
Presence of PACAP in human female genital system
The 11th International Symposium on VIP, PACAP and Related Peptides
Pécs, 2013. augusztus 27-31.

Horvath G., Nemeth J., **Lelesz B.**, Tamas A., Reglodi D., Kiss P.:
Changes in PACAP levels following environmental enrichment in the central nervous system of rats.
IBRO Workshop
Debrecen, 2014. január 16-17.

Lelesz B., Tóth A., Juhász B., Szilvássy Z., Németh J.:
Radio-analitikai módszerek alkalmazása a melanin-koncentráló hormon (MCH) mérésére és receptorának detektálására.
Magyar Farmakológiai, Anatómus, Mikrocirkulációs és Élettani Társaságok Közös Tudományos Konferenciája (FAMÉ)
Pécs, 2016. június 1-4.

Lelesz B., Szilvássy Z., Tóth A., Juhász B., Kiss R., Németh J.:
Radioanalytical methods for the measurement of melanin-concentrating hormone (MCH) and detection its receptor in rat tissues.
8th National Congress with International Participation of the Romanian Society for Cell Biology
Nagyvárad, 2016. június 8-12.

Lelesz B., Szilvássy Z., Tóth A., Juhász B., Kiss R., Németh J.:
Radioanalitikai metodikák kifejlesztése a melanin koncentráció hormon (MCH) szöveti peptid tartalmának meghatározására és receptorának kimutatására patkányban.
Magyar Klinikai Farmakológusok XVIII. Továbbképző Kongresszusa
Debrecen, 2016. december 8-10.

Lelesz B., Tóth A., Juhász B., Szilvássy Z., Németh J.:
Radio-analitikai módszerek alkalmazása a melanin-koncentráció hormon (MCH) mérésére és receptorának detektálására.
Magyar Klinikai Farmakológusok XVIII. Továbbképző Kongresszusa
Debrecen, 2016. december 8-10.



Nyilvántartási szám: DEENK/99/2017.PL
Tárgy: PhD Publikációs Lista

Jelölt: Lelesz Beáta
Neptun kód: SRGZTO
Doktori Iskola: Gyógyszerészeti Tudományok Doktori Iskola

A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. **Lelesz, B.**, Szilvássy, Z., Tóth, G. K., Tóth, A., Enyedi, A., Felszeghy, E. N., Varga, A., Juhász, B., Németh, J.: Radioanalytical methods for the measurement of melanin concentrating hormone (MCH) and detection its receptor in rat tissues.
J. Radioanal. Nucl. Chem. 310 (3), 1325-1333, 2016.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s10967-016-4952-9>
IF: 0.983 (2015)
2. **Lelesz, B.**, Tóth, G. K., Peitl, B., Hegedűs, C., Drimba, L., Sári, R., Szilvássy, Z., Németh, J.:
Description and application of a novel glucagon-like peptide-1 (GLP-1) radioimmunoassay.
J. Radioanal. Nucl. Chem. 299, 157-164, 2013.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s10967-013-2751-0>
IF: 1.415





További közlemények

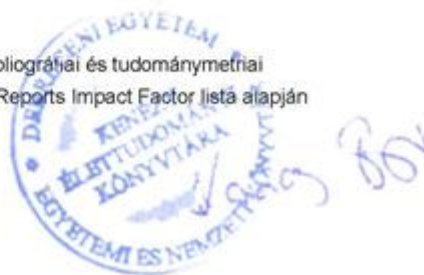
3. Fűrjes, G., **Lelesz, B.**, Tóth, G. K., Arday, A., Szilvássy, Z., Varga, A., Berényi, E., Németh, J.:
Comparative distribution of somatostatin and thirtene bioactive peptides in the central nervous system of rat measured by radioimmunoassay.
J. Radioanal. Nucl. Chem. 311, 1741-1749, 2017.
IF: 0.983 (2015)
4. Tamás, A., Jávorszky, A., Reglődi, D., Sarlós, D. P., Bányai, D., Semjén, D., Németh, J., **Lelesz, B.**, Fülöp, D. B., Szántó, Z.: Examination of PACAP-Like Immunoreactivity in Urogenital Tumor Samples.
J. Mol. Neurosci. 59 (2), 177-183, 2016.
IF: 2.352 (2015)
5. Horváth, G., Kiss, P., Németh, J., **Lelesz, B.**, Tamás, A., Reglődi, D.: Environmental enrichment increases PACAP levels in the CNS of adult rats.
Neuroendocrinol. Lett. 36 (2), 143-147, 2015.
IF: 0.946
6. Fűrjes, G., Tóth, G. K., Peitl, B., Pórszász, R., **Lelesz, B.**, Sári, R., Tóth, A., Szilvássy, Z., Németh, J.: Thirtene radioimmunoassay: description and application of a novel method.
J. Radioanal. Nucl. Chem. 292 (1), 113-118, 2012.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s10967-011-1516-x>
IF: 1.467

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 8,146

**A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapjául szolgáló közleményekre):
2,398**

A DEENK a Jelölt által az IDEa Tudóstérbe feltöltött adatok bibliográfiai és tudományos ellenőrzését a tudományos adatbázisok és a Journal Citation Reports Impact Factor lista alapján elvégezte.

Debrecen, 2017.04.13.



A téziszfüzet a Magyar Nemzeti Kutatási, Fejlesztési  s Innovációs Hivatal OTKA-75965 pályázatának és az AGR-PIAC-13-1-2013-0008 számú projektjének támogatásával készült.