

EGYETEMI DOKTORI (PH. D.) ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

# A csirke tobozmirigy vizsgálata, mint az experimentális *jet lag* modellje

Dr. Siri Kommedal



PTE ÁOK Anatómiai Intézet

Elméleti Orvostudományok Doktori Iskola

Doktori Iskola vezető: Dr. Lénárd László

Neuroendokrinológia és Neurohisztológia Doktori Program

Programvezető: Dr. Csernus Valér

Témavezető: Dr. Csernus Valér

2013

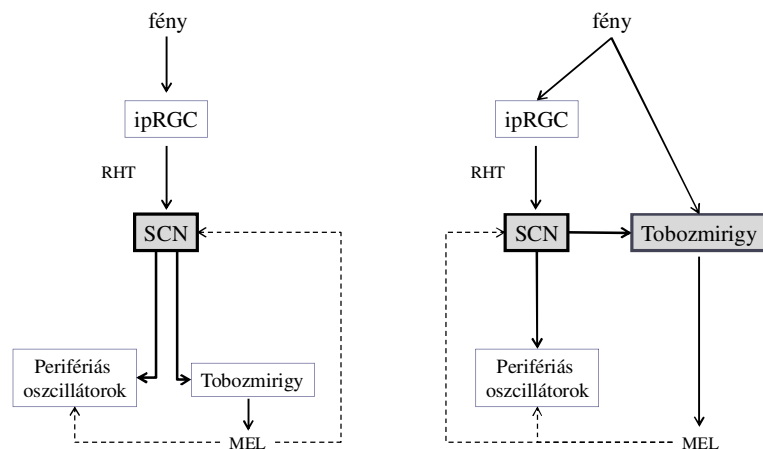


## **BEVEZETÉS**

A Föld tengelykörüli rotációjához igazodó, megközelítőleg 24 órás periódusidejű biológiai ritmust **cirkadián ritmusnak** nevezzük (*circa diem* körülbelül egy nap). A cirkadián ritmus az élőlényekben veleszületett, endogén jelenség, amely periodikus környezeti inger hiányában is megmarad (szabadon fut). A cirkadián ritmus fázisa igazodik a periodikus, ún. *zeitgeber* ingerek által meghatározott környezeti ciklushoz. A cirkadián ritmus az élővilág ősi, konzervált jelensége, ami valószínűleg már a fotoszintetizáló ősbaktériumokban megjelent: ezekben az organizmusokban - sejtorganellumok hiányában – az óra fontos szerepet játszhatott az egymással nem kompatibilis biokémiai mechanizmusok térbeli elkülönítésében és az UV fény DNS-károsító hatásával szembeni védekezésben, ezáltal evolúciós előnyt jelenthetett.

Emlősökben a **cirkadián rendszert** egy központi és számos perifériás óra, valamint afferenseik és efferenseik alkotják (1.ábra). A központi alkotórészek pontos feltérképezésének egyik jelentős állomása a pécsi Anatómiai Intézet munkatársainak léziós kísérlete volt: megfigyelték, hogy a hypothalamicus magvak közötti kapcsolatok megszakítását számos neuroendokrin ritmus megszűnése követte. A fény-sötét viszonyok váltakozása és a hypothalamus közötti kapcsolat további feltérképezésében a tractus retinohypothalamicus (RHT) azonosítása fontos lépést jelentett. A retina és a hypothalamus között kapcsolatot létesítő pálya rostjai a hypothalamus mediális zónájának anterior magvai közé tartozó nucleus suprachiasmaticuson (SCN) végződnek. Emlősökben az SCN ablációját az élettani folyamatok cirkadián ritmusának megszűnése követte, SCN-ablált patkányba ültetett SCN-graft a donor cirkadián ritmusának megfelelő mintázatot hozott létre. *In vitro* más sejtekkel ellentétben az SCN neuronok zeitgeber hiányában is képesek szinkronizált, robusztus amplitúdójú ritmus fenntartására. Ezen eredmények igazolták, hogy az emlősök központi oszcillátora az SCN-ban helyezkedik el. Az SCN neuronjai közötti kiterjedt intercelluláris kommunikáció biztosítja a sejtek oszcillátorainak szinkronitását, és ezen keresztül a megfelelő amplitúdójú output szignált a perifériás oszcillátorok részére.

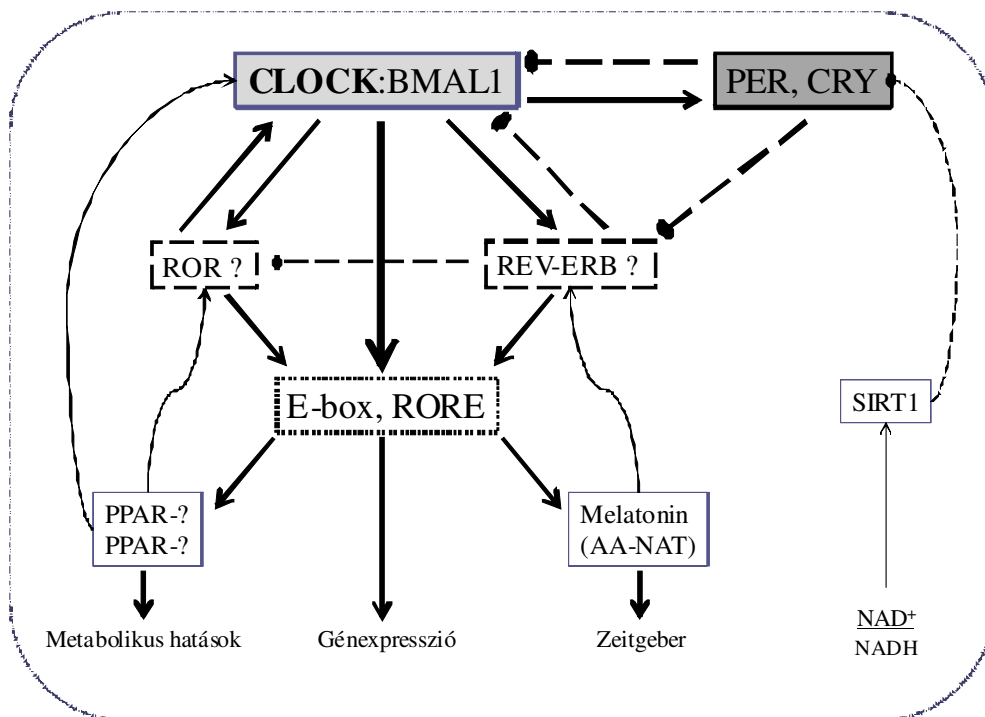
A fényexpozíció időpontjától és időtartamától függően az óra válasza szignifikánsan eltérő lehet. Diurnális életmódot folytató állatokban a hajnali fényexpozíció késlelteti, az esti megvilágítás sietteti a ritmus fázisát, ezzel szemben éjszakai életmódú állatokban ez a jelenség éppen ellenkező irányú változásokat okoz. Ennek hátterében az óraproteinek és a jelátviteli messengerek napszakonként eltérő elérhetősége állhat. A rövid időtartamú fényimpulzusok a cirkadián ritmus fáziseltolását eredményezik, míg a tartós megvilágítás az SCN neuronok működését deszinkronizálja az sejtek intercelluláris kommunikációjának befolyásolásával.



**1. ábra** A cirkadián rendszer. Bal oldalon az emlős, jobb oldalon a madár óramodell sematikus ábrázolása látható. Rövidítések: ipRGC= intrinsically photosensitive retinal ganglion cells, RHT=tractus retinohypothalamicus, SCN=nucleus suprachiasmaticus, MEL=melatonin

A cirkadián biológiai oszcillátor sejtszintű működtetése az óragének, valamint az általuk kódolt transzkripciós faktorok, az óraproteinek feladata. Ezek a faktorok aktiválják vagy gátolják az óragének expresszióját, ezáltal egy önfenntartó,

transzkripcionális szintű feedback-hurokrendszert alkotnak, amelyben a ciklus utolsó eleme az elsőt aktiválja. Az óragén feedback-hurok többszörös összefonódása biztosítja a rendszer nagyfokú redundanciáját, azon túlmenően felerősíti a ritmus amplitúdó-változásait. A ciklus pozitív szabályozói a CLOCK (circadian locomotor output cycles kaput) és a BMAL1 (brain and muscle ARNT-like) óraproteinek, fő gátló elemei a PER (Period) és a CRY (Cryptochrome) óraproteinek.



**2. ábra** A molekuláris oszcillátor. A ciklus kezdetén a CLOCK:BMAL1 aktiválja a cry és per gének promotereit. Transzkripciót és translációt követően a PER és CRY óraprotein komplexek a sejtmagba transzlokálódnak, ahol gátolják a CLOCK:BMAL1 aktivitását. Ezáltal a Cry és Per mRNA- és fehérjeszintek fokozatosan csökkennek, így a CLOCK:BMAL1 felszabadul a gátlás alól és újraindul a ciklus.

A **perifériás oszcillátorok** óragénkészlete a központival azonos, azonban a ritmusosan expresszált génkészlet az eltérő funkciók és igénybevétel következtében nagymértékben szövetspecifikus. A perifériás oszcillátorok feladata a lokális génexpresszió ritmusának amplifikálása és szinkronizálása a neurohumorális zeitgeberek által meghatározott

ciklushoz. Perifériás oszcillátort tartalmaz többek között a tobozmirigy, a máj, a vesék és a mellékvesék, a szív és a zsírszövet. A tobozmirigynek jelentős szerepe van mind a központi, mind a perifériás oszcillátorok szabályozásában: az SCN-ből a vegetatív idegrendszer közvetítésével érkező információ hatására melatonin (MEL) választ el, ami keringő zeitgeberként minden sejtnek jelzi a környezeti fényviszonyok aktuális állapotát. A MEL  $MT_1$  és  $MT_2$  receptorai a központi idegrendszerben (így az SCN-ben is) és a perifériás szövetekben egyaránt jelen vannak.

Madarakban a cirkadián rendszer multioszcillátoros felépítésű (1.ábra): a retina, az SCN és a tobozmirigy fajoként eltérő mértékben vesz részt a ritmus szabályozásában. A tobozmirigy-ablált madarak számos élettani folyamata ritmustalanná válik, ezzel szemben emlősökben a mirigy eltávolítása nem okoz szignifikáns változást. Emlősöktől eltérően **a madár tobozmirigyét** az SCN-ből érkező órajelen kívül a közvetlen megvilágítás is befolyásolja. A csirke tobozmirigy a cirkadián ritmusok vizsgálatára alkalmas kísérleti modell, mert:

1. Endogén oszcillátort tartalmaz, amely *in vitro* körülmények között, zeitgeber hiányában is képes szinkronizált működésre az emlős SCN-hez hasonlóan. Ezzel szemben az emlős tobozmirigy hasonló körülmények között néhány ciklus alatt deszinkronizálódik.
2. Fotopigment-tartalmának (pinopszin, melanopszin) köszönhetően működését a megvilágítás közvetlenül befolyásolja, így *in vitro* is képes a megváltozott fény-sötét viszonyokhoz való alkalmazkodásra.
3. A madár tobozmirigy izolálása technikailag egyszerűbben kivitelezhető, mint az emlős SCN eltávolítása.
4. A madarak biológiai ritmusainak kialakulását embrionális korban az anyai humorális környezet nem befolyásolja, azaz a tojások kontrollált körülmények közötti inkubálása további előnyt biztosít a kísérletek kivitelezésének szempontjából.

A **jet lag** rapid, több időzónán átívelő utazás következtében fellépő tünetegyüttes, melynek háttérében az akutan megváltozott környezeti ciklushoz késéssel adaptálódó cirkadián óra áll. Míg ez a jelenség a populáció kisebb hányadát érinti, a „krónikus jet lag”, azaz a váltóműszak megközelítőleg a Föld lakosságának 20%-ának életmódját, egészségét befolyásolja. Mindkét jelenség cirkadián diszrupcióhoz (CD) vezet. A CD az élettani, biokémiai és magatartási cirkadián ritmusok és a 24 órás környezeti ciklusok közötti fázisszinkron kapcsolat megszakadásaként definiálható. Ez az állapot a ritmusos működés teljes megszűnését, a centrális és perifériás oszcillátorok deszinkronizálódását vagy a ciklus fáziseltolását is jelentheti. A CD kialakulásában szerepet játszó faktorok a kronodiszruptorok. Ilyen faktor többek között a jet lag és a váltóműszak, valamint az alvásmegvonás, az éjszakai étkezés és a fényszennyezés. Az endogén óra által jelzett belső idő és a környezet közötti inkongruencia akutan jelentkező tünetekben (fáradékonyság, szomnolencia, gasztrointesztinális tünetek), valamint a metabolikus szindróma, kardiovaszkuláris és bizonyos daganatos betegségek kialakulásának magasabb rizikójában nyilvánulhat meg. 2007-ben az IARC a karcinogének 2A csoportjába, azaz a lehetséges rákkeltő tényezők közé sorolta a cirkadián diszrupciót involváló váltóműszakot. Mindezek alapján a CD több népbetegség patogenezisében szerepet játszhat.

## **Célkitűzések**

Az experimentális jet-lagnek az óragének mRNS expressziójára gyakorolt hatása korábban nem került leírásra. Miután a CLOCK központi szerepet tölt be a cirkadián molekuláris oszcillátor működésében, valamint újabb adatok szerint népbetegségek potenciális patogenetikai tényezője, ezért a kísérlet során az volt a célunk, hogy a *clock* mRNS expresszióját vizsgáljuk csirke tobozmirigy modellben akutan változó fény-sötét viszonyok között, azaz experimentális jet lag során. Munkánk során arra kerestük a választ, hogy a *clock* transzkripció alkalmazkodik-e az akutan megfordított megvilágítási rezsimhez, továbbá az esetleges adaptáció sebességéről is adatokat kívántunk gyűjteni. Ezenkívül szándékunkban állt megvizsgálni, hogy a csirke tobozmirigy eltérő fény-sötét viszonyokhoz való alkalmazkodása mennyiben tekinthető a mirigy intrinsic képességének, vagyis ezt az adaptációt mennyiben befolyásolhatják az extrapineális neurohumorális szignálok. Ezen kérdéseink megválaszolása céljából *in vivo* és *in vitro* kísérleteket terveztünk.

## **ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK**

### **Kísérleti állatok**

Kísérleteink során Hubbard típusú tyúkok megtermékenyített tojásait normál fény-sötét viszonyok között keltettük (14 óra fény, 10 óra sötétség, továbbiakban: **LD**).

### **Szemikvantitatív RT-PCR**

Az izolált csirke tobozmirigyek RNS-extraktumainak vizsgálata egy lépéses RT-PCR eljárással történt (MMLV Reverz Transzkriptáz/Life Technologies, RedTaq DNS-polimeráz/Sigma-Aldrich). A reverz transzkripció változó hatékonyságából és az egyes minták eltérő RNS-mennyiségeiből adódó különbségek normalizálására belső standardként  $\beta$ -aktint használtunk, mivel az mRNS-expressziója nem mutat cirkadián ritmust a csirke tobozmirigyben. A reverz transzkripció (42°C/15 perc, 94 °C/5 perc) és az amplifikáció (26 ciklus – 94°C/30 s, 60°C/30 s, 72°C/1 min) csirkespecifikus *clock* (5' primer: TCCCAGTCTCTTGGACAACC, 3' primer: GCTGTTGCTGGATCATG-



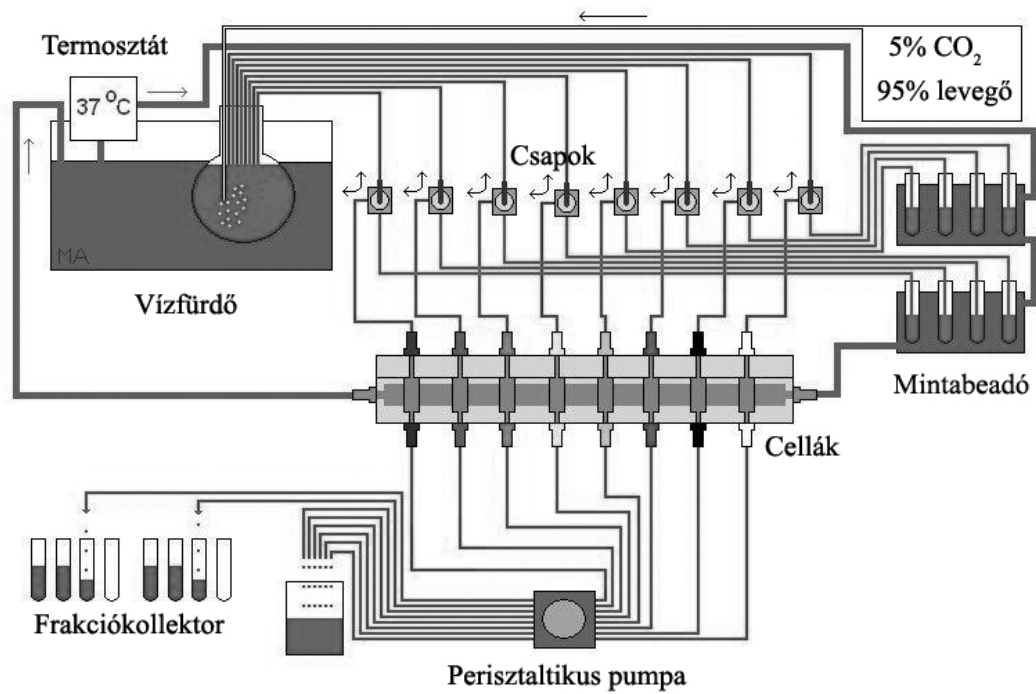
TGT) és  $\beta$ -aktin (5' primer: GATGGACTCTGGTGATGGTG, 3' primer: AGGGCTGTGATCTC CTTCTG) primerek jelenlétében történt. A cDNS-specifikus primerpárok tervezését és validálását munkacsoportunk már ezt megelőzően elvégezte.

A PCR-termékeket 1,5%-os agaróz gélen, TBE pufferben szeparáltuk, a gélt SYBR Green-nel festettük. A megfestett gélt kék fényel (Dark Reader, Clare Chemicals, USA) világítottuk meg, a fluoreszcens jel dokumentálásához egy egyedileg összeállított rendszert használtunk. A DNS-hez kötődött festék fluoreszcenciáját a gélfotókon látható DNS-csíkok pixel-intenzitása alapján határoztuk meg (ImageJ software, NIH).

**In vivo kísérlet.** Az *in vivo* kísérleteknél az előzőleg **LD** viszonyok között tartott állatokat 10 óra megvilágítás/ 14 óra sötétség **DL** környezetbe helyeztük, ezzel modellezve a jet laget. Minden vizsgálati csoportból azonos fejlődési stádiumú csirkéket (n=3) dekapitáltunk 4 óránként, majd eltávolítottuk a tobozmirigyeket. Az izolált tobozmirigyeket egészben, egyenként homogenizáltuk 0.5 ml TRI reagensben. A homogenizált minták tárolása -70°C-on történt a további vizsgálatokig.

**In vitro kísérlet.** Az *in vitro* vizsgálatoknál **LD** környezetben tartott 6 hetes csirkéket a kísérlet napján 12:00-kor dekapitáltuk. Minden egyes izolált tobozmirigy (n=6) egyenként 3-4 darabra vágunk, ezt követően a mirigydarabokból egy csoportot alkottunk. Az így nyert keveréket 6 egyenlő részre osztottuk fel, majd a mintákat a perifúziós rendszer (

**3. ábra Perifúziós rendszer (sémás rajz és fotó).** *A vízfürdőben tartott lombikból a médium egy négyállású csapon keresztül áramlik a cellákban található szövetmintákhoz, majd a perisztaltikus pumpán át a gyűjtőedénybe. A rajzot Matkovits Attila készítette.)* 6 cellájába helyeztük. A cellákon a szövettenyésztő médium (Sigma Medium 199) átáramlási sebessége 4 ml/óra, hőmérséklete 37,8°C volt. A rendszer másnap 20:00-ig **LD** (14 óra 225 Lux, 10 óra sötét) viszonyok között működött, ezt követően **DL** (10 óra 225 Lux, 14 óra sötét) környezetet biztosítottunk. A mintavétel 30 órával a rendszer elindítása után (másnap 18:00) kezdődött, amelynek során 4 óránként egy-egy cella tartalmát nyertük ki.



**3. ábra** Perifúziós rendszer (sémás rajz és fotó). A vízfürdőben tartott lombikból a médium egy négyállású csapon keresztül áramlik a cellákban található szövetmintákhoz, majd a perisztaltikus pumpán át a gyűjtőedénybe. A rajzot Matkovits Attila készítette.

## **Statisztikai módszerek**

A statisztikai próbákat a  $\beta$ -aktinhez normalizált fluoreszcencia-értékeken végeztük. A különböző időpontokban gyűjtött minták közti különbségeket variancia-analízissel (egyutas ANOVA) és kétmintás t-próbával (kétmintás, kétvégű, egyenlőtlen varianciájú) vizsgáltuk meg. Az LD és DL csoportok közti különbségek analizálása variancia-analízissel (két-utas ANOVA) és Tukey-féle post hoc teszttel történt. Minden statisztikai próbánál szignifikancia-határnak  $p=0,05$ -öt tekintettük.

## **EREDMÉNYEK**

### **Éjszakai megvilágítás akut hatása a *clock* mRNS-expressziójára *in vivo***

**LD** körülmények között tartott 6 hetes csirkéket ( $n=18$ ) két csoportra ( $n=9$ ) osztottuk fel. A kontroll csoportot továbbra is **LD** környezetben tartottuk, míg az exponált csoport esetében a megvilágítást 20:00 órától további 6 órán át folytattuk. A tobozmirigy mintákat ( $n=3$ ) 4 órás időközönként gyűjtöttük 18:00 órától, azaz 2 órával a 20:00 órákor alkalmazott akut fényexpozíciót megelőzően. A kontroll csoport esetében a *clock* mRNS szintek megemelkedtek a sötét fázisban, egy csúccsal 2:00-kor, ezzel szemben a 18:00-kor és a 22:00-kor kimutatott mRNS-mennyiség nem mutatott jelentős eltérést. Az exponált csoportban a *clock* expresszió 18:00-kor és 2:00-kor lényegében nem változott a kontrollhoz képest, azonban 22:00-kor magasabb volt a kontrollhoz viszonyítva.

### **A *clock* mRNS-expressziós mintázata fordított fény-sötét viszonyok között *in vivo***

**LD** körülmények között tartott 6 hetes csirkéket ( $n=36$ ) két csoportra ( $n=18$ ) osztottuk fel. A kontroll csoportot továbbra is **LD** környezetben tartottuk, míg a **DL** csoport esetében a kísérletet megelőző napon 20:00 órától a fény-sötét viszonyokat megfordítottuk. A tobozmirigy mintákat ( $n=3$ ) 4 órás időközönként gyűjtöttük 6:00 órától 2:00 óráig. A kontroll **LD** csoportban nappal alacsony *clock* mRNS szinteket mértünk, a sötét fázisban a *clock* expressziója 2:00-kor érte el a maximumot. **DL** viszonyok között a kontrollhoz képest a nappali sötétség végén magasabb, míg a második éjszakai megvilágítás során alacsonyabb *clock* mRNS szinteket mutattunk ki.

### **A *clock* mRNS-expressziós mintázata fordított fény-sötét viszonyok között *in vitro***

LD körülmények között tartott 6 hetes csirkékből izolált tobozmirigyek darabjait (n=18) perifúziós rendszerbe helyeztük (n=3 cellánként) és továbbra is LD viszonyok között. A kísérlet második napján 20:00-kor megfordítottuk a fény-sötét viszonyokat (**DL**). Kontrollként (**LD**) egy másik *in vitro* kísérletet is végeztünk, amely az eredeti LD ciklusokban futott. A cellákból a mintagyűjtést 4 órás időközönként, 18:00-14:00 között végeztük.

A kontroll csoport (**LD**) esetében a *clock* mRNS tartalom a sötét fázisban, 22:00-kor ért el csúcserőtet, nappal a génextpresszió alacsony volt. **DL** viszonyokra való átállást követően a ciklus első 12 órájában a *clock* mRNS szintek egyenletesek maradtak, csúcserőtet nem észleltünk. Az akutan fáziseltolást szenvedett ciklus első 12 órájában a **DL** és az **LD** értékek között nem mutatkozott szignifikáns különbség, míg a **DL** mintákban 10:00-kor magasabb *clock* mRNS szinteket mértünk.

### **DISZKUSSZIÓ**

Az *in vivo* kontroll (LD) kísérletek adatai alapján a csirke tobozmirigyben a *clock* mRNS expressziós mintázata cirkadián ritmust mutat, éjszakai expressziós csúcserőtével. Ez a *clock* transzkripció sötétséghez köthető aktivációjára utal, amit alátámaszt, hogy az éjszakai aktiváció eltűnik az *in vivo* második fordított (DL) ciklusban, valamint az aktiváció megjelenik nappali sötétségkor. Ezen megfigyelés ellentétes néhány korábbi adattal, ugyanakkor összhangban áll más eredményekkel. Ezek alapján a csirke tobozmirigy *clock* mRNS expressziós mintázata hasonló az emlős SCN esetében leírt ritmushoz. Ezt a hasonlóságot már korábban a *per*, *cry* és *bmal* óragének esetében is megfigyelték. Egyes közlemények szerint a *clock* óragén transzkripciója nem mutat cirkadián oszcillációt a csirke tobozmirigyben, ami azzal magyarázható, hogy a *clock* mRNS expresszió oszcillációjának az amplitúdója viszonylag alacsony más óragénekhez viszonyítva (vizsgálatunkban 1.5-szörös).

A clock mRNS expressziójának vizsgálatával a cirkadián oszcillátor működésének változásai jól mérhetőek. *In vivo* a fordított fényviszonyok már az első két órában szignifikáns eltérést okoztak, azaz *in vivo* az mRNS-expresszió akutan megváltozik éjszakai megvilágítás hatására, ami megerősíti hipotézisünket, hogy a *clock* mRNS expresszió vizsgálatával a cirkadián óra működésének akut változásai jól mérhetőek.

*In vivo* az éjszakai megvilágításnak kitett kísérletes csoport („exponált”) esetében a clock mRNS szint már 22:00-kor szignifikáns emelkedést mutatott, azaz a váratlanul érkező éjszakai fényexpozíciót követő második órában. A clock mRNS expressziójában bekövetkezett rapid változás az első DL ciklusban azt jelzi, hogy a clock gén transzkripció szabályozása akutan megváltozott a periódikus környezeti stimulus akut fáziseltolása miatt. Ezenkívül míg *in vivo* az első fordított (DL) ciklusban éjszakai fényexpozíció hatására növekszik a clock mRNS expressziója, a másodikban ugyanilyen behatásra csökken, ami arra utalhat, hogy az első ciklusban váratlanul jelentkező fényexpozíció és a második ciklus kevésbé váratlan expoziója eltérő transzkripció szabályozást vált ki. Az mClock promoter konzervált szekvenciái a molekuláris óraszerkezet mind represszor (RRE: Rev/Erb $\alpha$ -ROR-binding Element), mind aktivátor komplexeinek a kötőhelyeit (E-box) tartalmazzák. További vizsgálatokra lesz szükség, hogy meghatározzuk, hogy ezen komplexek felelősek a clock transzkripció gyors fénydependens válaszáért a csirke tobozmirigyben *in vivo* vagy egy eddig ismeretlen mechanizmusra fog fény derülni.

Az *in vitro* kísérlet során a kontroll csoport (LD) esetében a clock mRNS expresszió a sötét fázisban ért el csúcspontot (22 órakor). Eredményeink egybevágóak korábban leírt vizsgálatokkal, melyek szerint az *in vitro* körülmények között a clock mRNS maximumértékének az időpontja megegyezik az *in vivo* észlelten. DL viszonyokra való átállást követően a clock mRNS szintek egyenletesek maradtak, az első DL ciklusban csúcspontot nem észleltünk. Az akutan megfordított fény-sötét viszonyok között az első 12 órában a DL és az LD értékek között nem mutatkozott szignifikáns különbség. Ez az eredmény arra utal, hogy a Per2-vel ellentétben a clock expressziót nem indukálja közvetlenül a fényexpozíció, hasonlóan az emlős SCN-ben leírtakhoz. *In vivo* DL

viszonyok között mért clock mRNS szintek esetében a kontrollcsoporthoz képest szignifikáns változást mutattunk ki, ezzel szemben *in vitro* DL körülmények között az mRNS expresszió nem mutatott szignifikáns változást. Ebből az a következtetés vonható le, hogy a környezeti fényviszonyok akut változásaira adott rapid clock expresszió-változás neurohumorális szignálok szabályozása alatt állhat. *In vitro* DL körülmények között a fényviszonyok megváltoztatását követő napon 10 és 14 órakor a kontrollhoz képest magasabb clock mRNS értékeket mértünk, ami azt jelzi, hogy a clock mRNS expressziója neurohumorális szignálok hiányában is megváltozik, azonban az *in vivo* esetben észleltekhöz képest később és más mintázattal. Ezek az adatok arra is utalnak, hogy az experimentális jet lag során a clock expressziója a csirke tobozmirigyben csak a retinából származó fényinformációhoz képes gyorsan alkalmazkodni. Kísérletünk megerősíti azt az elméletet, miszerint a clock és más óragének 24 órás mRNS expressziós mintázata alapján a csirke tobozmirigy molekuláris oszcillátora nem az emlős tobozmirigyéhez, hanem az emlős SCN-éhez hasonló, így ezen a modellen nyert adatok az emberi óramű pontosabb megismerését is segíthetik.

A cirkadián óramű intra- és intercelluláris mechanizmusainak további feltárása a jövőben lehetőséget nyújthat az oszcillátor molekuláris szintű befolyásolására, az óragén-expresszió megváltoztatására. Ez számos népbetegségben és pszichiátriai kórképekben szenvedő beteg és kezelőorvosaik számára biztosíthatna új terápiás lehetőséget.

## KÖZLEMÉNYEK

### A dolgozathoz kapcsolódó lektorált folyóiratcikkek:

1. S. Kommedal, G. Bódis, A. Matkovits, V. Csernus, A.D. Nagy: Expression pattern of clock under acute phase-delay of the light/dark cycle in the chicken pineal model. – *Gen. Comp. Endocrinol.* 172: 170-172. 2011. [IF: **3.267**]
2. S. Kommedal, V Csernus, AD Nagy.: The embryonic pineal gland of the chicken as a model for experimental jet lag - *Gen Comp Endocrinol* 188: 226-231. 2013. [IF: **2.823**]

### Egyéb lektorált cikkek:

3. A. D. Nagy, S. Kommedal, K. Seomangal and V. Csernus: Circadian Expression of clock genes clock and cry1 in the embryonic chicken pineal gland. - *Annals N.Y. Acad. Sci.* 1163: 484-487. 2009. [IF: **2.303**]
4. A. D. Nagy, K. Seomangal, S. Kommedal and V. Csernus: Expression of cry2 in the chicken pineal gland: effects of changes in the light/dark conditions. - *Annals N.Y. Acad. Sci.* 1163: 488-490. 2009. [IF: **2.303**]
5. Lengyel Zs., Lovig Cs, Kommedal S., Keszthelyi R, Szekeres Gy, Battyáni Z, Csernus V, Nagy AD. Altered expression patterns of clock gene mRNAs and clock proteins in human skin tumors. *Tumour Biol.* 2013 Apr;34(2):811-9. [IF: **2.568**]

### Konferencia Absztraktok

1. Nagy A. D., Kommedal S., Csernus V.: Effects of PACAP exposure on the pineal clock gene expression in birds. - *Clin Neurosci/Ideggy Szle* 60 (S1). 47. 2007.
2. Nagy A.D., Kommedal S., Csernus V.: PACAP hatása az óragén-expresszió cirkadián ritmusára csirke tobozmirigyben. - Magyar Idegtudományi Társaság 12. Kongresszusa, Szeged, 2007. január 26-29.
3. Nagy A.D., Kommedal S., Seomangal K., Csernus V.: Az óragén expresszió cirkadián ritmusának kialakulása csirke tobozmirigyben. - XIV. Sejt- és Fejlődésbiológiai Napok, Balatonfüred, 2007. április 15-17.

4. Kommedal S., Seomangal K., Nagy A.D., Csernus V.: An insight into the development of the circadian clock in the chicken pineal model - Magyar Élettani Társaság Vándorgyűlése, Pécs, 2007. június 8-11. (**poster**)
5. Seomangal K., Kommedal S., Nagy A.D., Csernus V.: Expression of Cry2 in the chicken pineal gland: Effects of changes in the light/dark conditions. - Magyar Élettani Társaság Vándorgyűlése, Pécs, 2007. június 8-11.
6. Nagy A.D., Kommedal S., Seomangal K., Matkovits A., Csernus V.: Expression of clock genes in the embryonic chicken pineal gland. – 11<sup>th</sup> Biennial Meeting of the Society for Research on Biological Rhythms, Destin, Florida, USA. May 17-22. 2008.
7. Kommedal S., Seomangal K., Nagy A.D., Csernus V.: Expression of Cry2 in the chicken pineal gland: Effects of changes in the light/dark conditions. – 24<sup>th</sup> Conference of the European Comparative Endocrinologists, Genoa, Italy, Sept 1-6. 2008. (**poster**)
8. Nagy A.D., Kommedal S., Seomangal K., Matkovits A., Csernus V.: Expression of clock genes in the embryonic chicken pineal gland. – 24<sup>th</sup> Conference of the European Comparative Endocrinologists, Genoa, Italy, Sept 1-6. 2008.
9. Nagy A.D., Kommedal S., Butenschön V., Bódis G., Csernus V.: The pineal oscillators in chicken embryos need no LD cycles to start. – XI<sup>th</sup> Conference of the European Biological Rhythms Society, Strasbourg, France, Aug 22-28. 2009.
10. Kommedal S., Bódis G., Matkovits A., Nagy A.D., Csernus V.: An insight into the development of the circadian clock in the chicken pineal model – 25<sup>th</sup> Conference of the European Comparative Endocrinologists, Pécs, Hungary, Aug 31-Sept 4. 2010. (**oral**)
11. Bódis G., Kommedal S., Matkovits A., Nagy A.D., Csernus V.: Clock mRNA expression patterns in the chick pineal gland under experimental jet lag – 25<sup>th</sup> Conference of the European Comparative Endocrinologists, Pécs, Hungary, Aug 31-Sept 4. 2010.
12. Lengyel Zs., Kommedal S. (presenting author), Lovig Cs., Battyáni Z., Keszthelyi R., Szekeres Gy., Csernus V., Nagy A.D.: Expression of circadian clock genes per1, per2, clock, and cry1 in human melanoma skin biopsies. 13<sup>th</sup> Biennial Meeting of the Society for Research on Biological Rhythms, Destin, Florida, USA. May 19-24. 2012. (**poster**)
13. Lengyel Zs., Kommedal S., Lovig Cs., Battyáni Z., Keszthelyi R., Szekeres Gy., Csernus V., Nagy A.D.: Expression of circadian clock genes per1, per2, clock, and cry1 in human melanoma skin biopsies. 26<sup>th</sup> Conference of the European Comparative Endocrinologists, Zürich, Switzerland, Aug 21-25. 2012.
14. Kommedal S., Lengyel Zs., Matkovits A., Csernus V., Nagy A.D.: The Embryonic Chicken Pineal Gland as a Model for Experimental Jet Lag. 26<sup>th</sup> Conference of the European Comparative Endocrinologists, Zürich, Switzerland, Aug 21-25. 2012. (**Oral**)
15. Kommedal S., Csernus V., Nagy A.D.: The embryonic pineal gland of the chicken as a model for experimental jet lag. 13<sup>th</sup> Conference of the European Biological Rhythms Society, Munich, Germany, Aug 18-23. 2013. (**poster**)