

PÉCSI TUDOMÁNYEGYETEM

Biológiai és Sportbiológiai Doktori Iskola

A puhatestűek neuroendokrin és reprodukciós rendszerének funkcionális és evolúciós jellemzése a nagy mocsári csiga (*Lymnaea stagnalis*), mint modellállat használatával

Egyetemi doktori (PhD) értekezés tézisei

Fodor István



Témavezető:

Dr. Pirger Zsolt

PhD

PÉCS, 2022

1. Bevezető

A progeszteront, tesztoszteront és 17 β -ösztradiolt - mint a legfőbb gerinces szex szteroidokat - az 1920-30-as években fedezték fel (Corner és Allen, 1929; David és mtsai, 1935; Huffman és mtsai, 1940), majd az 1950-es évek végén számoltak be először ezeknek a szex szteroidoknak a jelenlétéről a puhatestűekben (Hagerman és Wellington, 1957). Akkoriban ésszerű volt a feltételezés, hogy ezek a szteroidok endogén eredetűek és ugyanolyan hormonális funkciót töltenek be a puhatestűekben, mint a gerincesekben - az első ezt leíró funkcionális tanulmányt már 1959-ben publikálták (Aubry, 1959). Ebben a hitben az elmúlt 70 évben a puhatestűek szaporodásának szabályozásával foglalkozó számos tanulmány fókuszált a gerinces hipotalamusz-hipofízis-gonád tengely gerinctelen homológjaira, a szex szteroidokra, valamint a szintézisükkel és jelátviteli mechanizmusukkal kapcsolatos fehérjékre. Analitikai, biokémiai, immunhisztokémiai, molekuláris biológiai és viselkedési méréseket használva több száz cikk arra a következtetésre jutott, hogy 1) a gerinces gonadotropin-felszabadító hormon puhatestű homológjának ugyanaz a funkciója, mint a gerincesekben; 2) a puhatestűek képesek a gerinces szex szteroidok *de novo* szintézisére; 3) a puhatestűekben megtalálhatóak funkcionális szex szteroid kötő receptorok és 4) a puhatestűek így vagy úgy reagálnak, ha gerinces szteroidoknak vannak kitéve.

Azonban 2010-től kezdve kritikai összefoglalók kezdték megkérdőjelezni azt a hitet, hogy a puhatestűek endokrin rendszere hasonlít a jól jellemzett gerinces endokrin rendszerhez, valamint azt, hogy a szex szteroidoknak ugyanaz a funkciója a gerinctelenekben, mint a gerincesekben (Balbi és mtsai, 2019; Fernandes és mtsai, 2011; Fodor és mtsai, 2020; Fodor és Pirger, 2022; Horiguchi és Ohta, 2020; Minakata és Tsutsui, 2016; Pirger és mtsai, 2018; Scott, 2012, 2013, 2018).

2. Célkitűzések

A puhatestű neuroendokrinológia vita tárgyát képező hipotézisei és megválaszolatlan kérdései alapján munkánk fő célja az volt, hogy kísérletes úton részletesen elemezzük a nagy mocsári csiga (*Lymnaea stagnalis*), mint puhatestű modellállat neuroendokrin rendszerét funkcionális és evolúciós szempontok alapján. Eredményeinkkel hozzá kívántunk járulni a puhatestűek neuroendokrin és reprodukciós rendszerének kialakulásának és szabályozó folyamatainak pontosabb megértéséhez, egyben alapokat nyújtani a neuroendokrin szabályozás egyes általános törvényszerűségeinek pontosabb megismeréséhez.

Vizsgálataink során az alábbi célokat tűztük ki:

- Azonosítjuk a *L. stagnalis* GnRH/CRZ (1 γ -GnRH/CRZ) peptidjének kódoló régióját
- Elemezzük a GnRH neuropeptid szupercsalád evolúciós kapcsolatait
- Vizsgáljuk a 1 γ -GnRH/CRZ transzkript és peptid eloszlását a központban és periférián
- Azonosítjuk az aktív 1 γ -GnRH/CRZ peptidet és leírjuk annak fiziológiás szerepét

- Azonosítjuk a gerinces szex szteroid szintézisben és receptor-mediációban részt vevő gének homológjait a *L. stagnalis*-ban
- Vizsgáljuk a szteroidok felvételét, metabolizálódását és kiürülését
- Vizsgáljuk, hogy vajon változik-e a reprodukciót irányító neuropeptidok expressziója hosszútávú progesztogén kezelés hatására

3. Anyagok és módszerek

3.1. Kísérleti állatok

A kísérleteinkhez 4-5 hónapos, ivarérett (felnőtt) csigákat használtunk saját, parazitamentes tenyészetünkből (BLKI, Tihany). Az állatokat 20 L-es tartályokban tartottuk alacsony réz tartalmú, mesterséges „csigavízben” közel állandó, 20 ± 1.5 °C hőmérsékleten, folyamatos levegőztetéssel, 12 órás fény – sötét ciklusban, hetente minimum három alkalommal salátával etetve őket. Az állatokon végzett kísérleteket a Balatoni Limnológiai Kutatóintézet Munkahelyi Állatjóléti Bizottsága által kidolgozott és engedélyezett eljárás szerint végeztük (VE-I-001/01890-10/2013).

3.2. Neurális transzkriptom szekvenálás és bioinformatika

Nukleotid szekvenáláshoz a csigák teljes idegrendszerét kipreparáltuk, homogenizáltuk, majd az RNS-t a Direct-zol™ RNA MiniPrep kit segítségével izoláltuk. A minták RNS tartalmát Qubit 3.0 készülék és Qubit BR RNA Kit használatával kvantifikáltuk, majd minőségi ellenőrzést is végeztünk Agilent Bioanalyzer 2100 készülékkel és RNA 6000 Nano Kit-el. Nanopore szekvenálási módszert használtunk a kódoló régiók azonosításához. A szekvenáláshoz szükséges könyvtárat a cDNA-PCR Kit segítségével készítettük. A homológ szekvenciák kereséséhez releváns gerinctelen és gerinces szekvenciákat használtunk „query”-ként az NCBI adatbázisból. A szekvencia korrekcióhoz a konszenzus szekvenciákat összehasonlítottuk a *L. stagnalis* előzetes genom adatokból származtatott virtuális cDNS szekvenciákkal, amelyekhez konzorciumi partnerként hozzáférésünk van. Az azonosított szekvenciákat feltöltöttük az NCBI Nucleotide adatbázisba, majd konzervált domén keresést végeztük az NCBI CDD/SPARCLE szoftverrel, hogy ellenőrizzük azt, hogy a kulcsrégiók valóban megtalálhatóak-e a következtetett funkcionális fehérje szekvenciákban.

3.3 Filogenetikai elemzés

A ly-GnRH/CRZ neuropeptid molekuláris filogenetikai vizsgálata során a Maximum Likelihood módszert alkalmaztuk. A filogenetikai fa megalkotásához szükséges szekvencia összehangolás elvégzéséhez a ly-GnRH/CRZ preprohormonja/prepropeptide mellett a GnRH neuropeptid szupercsalád további, NCBI adatbázisban elérhető 56 preprohormonjának/prepropeptidének aminosav szekvenciáját használtuk. A szekvenciák összehangolását a Molecular Evolutionary Genetics Analysis v7 szoftver segítségével csináltuk. A filogenetikai elemzés megbízhatóságát adó „bootstrapping” 1000 „bootstrap” replikációval lett készítve.

3.4. Az aktív ly-GnRH/CRZ neuropeptid extrakciója és tömegspektrometriai vizsgálata

Az aktív ly-GnRH/CRZ peptid központi idegrendszerben való jelenlétének kimutatásához az állatok teljes központi idegrendszerét preparáltuk, extraháltuk és nagy teljesítményű folyadékkromatográfiával kapcsolt tömegspektrometriai módszerrel és mátrix-asszisztált lézeres deszorpciós/ionizációs repülési idő/repülési idő tömegspektrometriai módszerrel vizsgáltuk.

3.5. A ly-GnRH/CRZ expressziójának reverz transzkripciós-PCR elemzése

A ly-GnRH/CRZ expresszióját a központi idegrendszerben, a szívben, a hímnős mirigyben és a szeminális vezikulumokban vizsgáltuk. A mintákból RNS-t izoláltunk, majd a RevertAid H Minus First Strand cDNA Synthesis Kit-el cDNS-t csináltunk.

3.6. Immunhisztokémia

A teljes idegrendszerben (ly-GnRH/CRZ; GnRH) CYP19A; nPR), a szívben (ly-GnRH/CRZ; 5-HT) és a reprodukciós rendszerben (ly-GnRH/CRZ; 5-HT) végeztünk immunhisztokémiai vizsgálatokat. A mintákat fixáltuk, majd a mintákat 20%-os cukoroldatban tartottuk. Az inkubálást követően a mintákat kriomátrixba ágyasztuk, majd 12-14 μm vastag kriosztát sorozatmetszeteket készítettünk, amiket zselatinos tárgylemezre helyeztünk. Blokkolás után a mintákat különböző elsődleges antitestekkel, majd a megfelelő másodlagos antitestekkel inkubáltuk. A megfestett szöveteket egy megfelelő hullámhossz-szűrő beállításokkal és transzmissziós detektorral rendelkező TCS SP8 DMI konfokális lézer pásztázó mikroszkóppal értékeltük ki.

3.7. Neuronok retrográd jelölése nikkellizin töltéssel

A jobb oldali agydúc anterior és ventrális lebenyében található neuronok visszatöltéséhez a teljes idegrendszert a hozzá tartozó pénisz ideggel együtt kipreparáltuk az állatokból és az ideg végét egy nikkellizin oldatot tartalmazó kamrába tettük. Inkubálás után a nikkelt 5-10 csepp rubeánsav szaturált alkoholos oldatával precipitáltuk, majd immunhisztokémiát végeztünk.

3.8. Peptid szintézis és injektálás

A ly-GnRH/CRZ aktív peptid szintézisét szilárd fázisú folyamattal végeztük Fmoc kémia alkalmazásával. A peptidláncokat Tentagel S-Ram gyantán elongáltuk és a szintézist CEM Liberty Blue géppel végeztük. A kapott nyers peptidet reverz fázisú nagyhatékonyságú folyadékkromatográfia segítségével tisztítottuk. Ahhoz, hogy teszteljük a ly-GnRH/CRZ aktív peptid lehetséges szerepét a táplálkozásban, mozgási aktivitás és reprodukcióban, állatok testüregébe/hemolimfájába 10 μg peptidet injektáltunk.

3.9. Viselkedési tesztek

Az állatokat kontroll és ly-GnRH/CRZ injektált csoportokra osztottuk és a viselkedési tesztek során vizsgáltuk a táplálkozási rátát (harapások száma/2perc), a mozgási aktivitást (megtett útvonal/5perc), valamint a peterakást (lerakott peteszákok és peték száma).

3.10. *L. stagnalis* egyedek kezelése jelölt szteroidokkal

A szteroidok felvételének, metabolizálásának és kiürülésének vizsgálatához 17β -[^3H]-E₂, [^3H]-T, [^3H]-P) és 17-[^3H (N)]-EE₂ radioaktívan jelölt “standard”-eket használtunk. A radioaktivitás mennyiségét szcintilláció számoló készülékkel mértük. A kezelés után minden csoportból az állatok felét azonnal lefagyasztottuk (kiürülés 0. napja), a másik felét tiszta “csigavízbe” tettük kiürülés céljából, majd 10 nap elteltével lefagyasztottuk őket. Minden egyes szteroid esetében kiszámítottuk a “clearance” rátát.

3.11 Jelölt szteroidok extrakciója és elválasztása

Ahhoz, hogy extraháljuk a szövetekből a radioaktívan jelölt szteroidokat, a lefagyasztott állatokat szobahőmérsékleten felolvasztottuk, a lágy szövetet kipreparáltuk, szárítottuk és lemértük a tömegüket. A szöveteket metanollal és etil acetáttal extraháltuk. Hogy elválasszuk a szabad, vízdékony és észterifikált metabolitokat, az extraktumok egy részét bepároltunk és partíciónáltuk.

3.12. A gerinces antitestek által jelölt proteinek azonosítása Western blott-al és tömegspektrometriával

Ahhoz, hogy azonosítsuk a gerinces antitestek által jelölt molekulákat, az állatok teljes idegrendszerét kipreparáltuk, homogenizáltuk, futattuk 10%-os SDS-PAGE gélben és blottoltuk át nitrocellulóz membránra a „standard semi-dry blotting” módszert követve. A membránt blokkoltuk, majd a megfelelő elsődleges és másodlagos antitestekkel inkubáltuk. A kemilumineszcenciát a Western Blotting Luminol kit segítségével vizualizáltuk. A tömegspektrometriás azonosításhoz a megfelelő sávokat kivágtuk a párhuzamos SDS-PAGE gélből, ezt követte a festékmentesítés, tisztítás és gélen belüli emésztés. A peptideket szilárd fázisú extrakcióval tisztítottuk. A proteomikai vizsgálat egy Bruker EASY-nLC-vel kapcsolt nano-ESI tömegspektrométerrel történt.

3.13. Krónikus progesztogén kezelés

A hormonkezelések során progeszteron, drospirenon, gesztođen és levonorgesztrel hatóanyagokat használtunk. Az állatok 21 napig egyszerre kapták a 4 hatóanyagot 10 ng/L ekvi-koncentrációban, a kísérleti beállítás tükrözi a környezeti szituációt.

3.14. Összehasonlító neurális transzkriptom szekvenálás és bioinformatika

A 21 napos kezelés után az egyedekből kipreparáltuk a teljes idegrendszert, RNS-t izoláltunk, illetve mennyiségi- és minőségi ellenőrzést végeztünk. A szekvenáláshoz szükséges könyvtárat a NEBNext Ultra II Directional RNA Library Prep Kit for Illumina segítségével készítettük. A könyvtárhoz 400 ng mRNS-t izoláltunk a teljes RNS mintából a NEBNext Poly(A) mRNA Magnetic Isolation Module használatával. Az mRNS-eket fragmentáltuk, a szálak végének alakítása után ráligáltuk az adaptereket, majd amplifikáltuk a könyvtárat. Az elkészített könyvtárat minőségi ellenőrzését 4200 TapeStation System using D1000 Screen Tape, mennyiségi ellenőrzését pedig Qubit 3.0 készülékkel végeztük. A szekvenálás NovaSeq6000 készülékkel történt. A „read”-eket a 13 reprodukciót irányító neuropeptid prekursor kódoló szekvenciájára térképeztük, megszámloltuk hány „read” esett egy célszekvenciára és normalizáltuk az értékeket.

4. Eredmények

4.1. A ly-GnRH/CRZ nukleotid és peptid szekvenciája

A neurális transzkriptom szekvenálása után sikeresen meghatároztuk a kódoló szekvenciát, a teljes preprohormon nukleotid szekvenciája 1225 bp hosszú. Azonosítottuk a szignál peptidet, az “érett” peptidet egy tribázikus hasító hellyel és egy alfa amidációs szignállal (QNYHFSNGWYAGKKR), valamint ly-GnRH/CRZ-asszociált peptidet). Várakozásunknak megfelelően az “érett” peptid szekvenciája nagyon konzervált, míg a szignál peptid és a ly-GnRH/CRZ-asszociált peptid szekvenciája nagy variabilitást mutat. A tömegspektrometriai vizsgálatok megerősítették a prediktált aktív undekapeptid jelenlétét a központi idegrendszerben. Ezen korábbi eredmények és a mi eredményeink alapján úgy gondoljuk, hogy az amidált undekapeptid használata, mint funkcionális/aktív GnRH/CRZ egy közös vonás a csigákban és kagylókban

4.2. Filogenetikai elemzés

Hogy naprakésszé tegyük a GnRH neuropeptid szupercsalád evolúciós kapcsolatait az újonnan azonosított ly-GnRH/CRZ-vel (és egyéb közelmúltban azonosított szekvenciával), molekuláris filogenetikai vizsgálatot is végeztünk. Eredményeink egyértelműen alátámasztották, hogy az eredetileg puhatestű GnRH-nak nevezett peptidek nincsenek szorosabb rokonságban a gerinces GnRH családdal, mint a CRZ, AKH és ACP családokkal.

4.3. A ly-GnRH/CRZ transzkript és peptid jelenléte a központi és perifériás szövetekben

Az RT-PCR vizsgálataink azt mutatták, hogy a ly-GnRH/CRZ neuropeptid transzkriptje minden vizsgált szövetben jelen van. A specifikus antitestet alkalmazó immunhisztokémiai vizsgálataink azt mutatták, hogy a ly-GnRH/CRZ peptid jelen van a CNS minden idegdúcában. A specifikus anti-ly-GnRH/CRZ antitest és a nem specifikus anti-humán-GnRH antitest jelölésének összehasonlítása során megállapítottuk, hogy mindkettő ad pozitív jelet a központi idegrendszerben, de nagyon eltérő mintázattal. A perifériás szövetek közül abundáns ly-GnRH/CRZ-ip axon rostokat találtunk a szívpitvar felszínén az izomrostok hossz tengelyére merőlegesen, maguk a szívizomrostok nem jelölődtek. A hímnős mirigyben nem detektáltunk pozitív jelet, azonban a szeménalis vezikulumok szeménalis epitéliuma intenzív immunpozitivitást mutatott.

4.4. A ly-GnRH/CRZ szerepe a viselkedési mintázatokban

Megfigyeléseink alapján, a ly-GnRH/CRZ peptid nem okozott változást a táplálkozási rátában. Ezzel ellentétben, a ly-GnRH/CRZ peptid jelentős változást indukált a mozgási aktivitásban. A mozgási aktivitáshoz hasonlóan a ly-GnRH/CRZ peptiddel injektált állatok reprodukciós aktivitása is jelentősen megváltozott. Eredményeink egyrészt megerősítik, hogy az eredetileg gerinctelen GnRH-nak elnevezett peptidek multifunkcionálisak és egyaránt felelősek reproduktív és nem-reproduktív funkciók szabályozásáért, másrészt támogatják azt a javaslatot, hogy a peptidcsaládot CRZ-ként kellene klasszifikálni

4.5. A gerinces szex szteroid szintézisben és receptor-mediációban részt vevő gének homológjai a *L. stagnalis*-ban

A szex szteroidok szintézisében szerepet játszó enzimek közül nem találtunk homológ szekvenciát a gerinces CYP11A, CYP19A és 3 α -HSD génekhez. Ezzel ellenétben sikeresen azonosítottuk a szteroidgenézist akutan reguláló fehérje, 3 β -HSD, CYP17, 17 β -HSD és 5 α -reduktáz gének homológjait. Nem találtunk homológ szekvenciát a receptor-mediációban szerepet játszó gerinces nPR, nAR, szex szteroid-kötő globulin és transzkortin génekhez, azonban azonosítottuk a gerinces nER és PGRMC1 homológjait.

4.6. Radioaktívan jelölt szteroidok felvétele

Minden csigát tartalmazó tankban jelentős csökkenés volt a radioaktivásban, a P felvétele volt a leggyorsabb. Eredményeink alátámasztják, hogy bár a gerinces szex szteroidok kimutathatóak a puhatestű szövetekben, olyan könnyen fel tudják venni őket a környezetből és hosszú ideig tárolni azokat észterifikált formában, hogy a jelenlétük nem szükségszerűen bizonyíték az endogén szintézisükre.

4.7. Jelölt szteroidok megoszlása a szövetekben a kiürülési periódus elején és végén

A szövetekben található metabolitok extrakcióját és fázis elválasztását követő vizsgálatok nagyarányú radioaktivitást mutattak a P, E₂ és T esetében a lipidben gazdag heptán frakcióban, ahol az észterifikált szteroidok akkumulációját vártuk. Ugyanakkor a várakozásnak megfelelően, a potenciálisan észterifikálható EE₂ aránya sokkal alacsonyabb volt. A maradék radioaktivitás nagy része a szabad szteroidokat tartalmazó 80%-os etanol frakcióban volt mérhető. A vízdékony frakcióban a radioaktivitásnak csak egy nagyon alacsony aránya volt kimutatható. Tíz nap kiürülési periódust követően a radioaktivitásnak ~70%-a még mindig jelen volt az állatokban. Az EE₂-t kivéve minden szteroid aránya magasabb volt az észter frakcióban, ami a szabad szteroidok preferenciális kiürülését jelenti.

4.8. A gerinces antitestek által jelölt fehérjék azonosítása a központi idegrendszerben

Habár a CYP19A és nPR gének nem találhatók meg a *L. stagnalis*-ban, az anti-humán-CYP19A és az anti-humán-nPR antitesteket használó IHC vizsgálataink során immunpozitív jelet kaptunk a központi idegrendszerben. Ahhoz, hogy azonosítsuk (vagy legalább részben jellemezzük), melyek azok a molekulák, amikhez az antitestek kötődnek és nem specifikus immunjelet eredményeznek, WB vizsgálatot csináltunk a teljes CNS homogenizátumából. A CYP19A antitest egy diszkrét és két amorf sávot eredményezett, illetve a 140 kDa-os „marker” sávot is jelölte. A GnRH antitest 2 diszkrét sávot, az nPR antitest pedig 3 diszkrét sávot adott. A ~30 kDa-os sávot a CYP19A és az nPR antitest, míg az ~50 kDa-os sávot a GnRH és az nPR antitest is jelölte. A tömegspektrometriás vizsgálatok során a „band”-ekben kapott fragmentek és a humán CYP19A, GnRH és nPR protein szekvenciák, illetve az *in silico* prediktált fragmentjeik összehasonlítása során megerősítettük a homológ szekvenciák hiányát. A SWISS-Prot adatbázist használva néhány fehérjét is tudtunk azonosítani a „band”-ekben, amelyeket az antitestek lehetségesen jelölnek, de még további

vizsgálatokra van szükség ahhoz, hogy meghatározzuk pontosan mit jelölnek meg a gerinces antitestek. Összességében, ezek az eredmények alátámasztják azt a predikciót/hipotézist, hogy ezek a gerinces fehérjék nem jelennek meg a puhatestűekben.

4.9. A reprodukcióban szerepet játszó neuropeptidok génexpressziója hormonkezelt csigákban

Célkitűzéseink alapján vizsgáltuk, hogy a 10 ng/L-es progesztogén kezelés hatására megváltozik-e a felnőtt állatok központi idegrendszerében a reprodukcióban szerepet játszó neuropeptidok expressziós szintje. A génexpressziós elemzéseink azt mutatták, hogy a kontroll csoporthoz viszonyítva egyik neuropeptid expressziója sem változott szignifikánsan a kezelt csoportban. Mindezek alapján úgy véljük, hogy a *L. stagnalis*-ban – és általában a puhatestűekben – leírt progesztogén okozta viselkedési és sejtes változásoknak három lehetséges módja van: 1) specifikus ligand-receptor útvonal (mPR β és mPR γ receptorokon); 2) aspecifikus ligand-receptor útvonal (más molekulák receptorain, vagy ősi multifunkcionális receptoron - feltételezhetően NR1H vagy NR1I/J/K); 3) a felvett progesztogének metabolizálásával járó biokémiai és fiziológiás folyamatok anyag és energia re-allokációt igényelnek, ami különböző szintű változásokban megjelenhet.

5. Összefoglalás

Noha a puhatestűek széles körben a biológiai kutatások modellállatai, egyes viselkedési mintázataik, mint például a reprodukció, celluláris és molekuláris szintű szabályozása, a (neuro)endokrin rendszer működése, beleértve a GnRH és a szex szteroidok szerepét is, a mai napig nem tisztázott. Ezeket a nyitott kérdéseket szem előtt tartva, doktori munkám célja volt funkcionális és evolúciós szempontból megvizsgálni a puhatestűek neuroendokrin rendszerét, melynek modellállata a nagy mocsári csiga (*Lymnaea stagnalis*) volt. Eredményeimet az alábbi pontokban foglalom össze a témában megjelent publikációk feltüntetésével.

- 1) Azonosítottuk a ly-GnRH/CRZ peptid kódoló régióját, valamint leírtuk az aktív peptid jelenlétét a CNS-ben. Eredményeink alátámasztják, hogy az amidált undekapeptid a funkcionális/aktív molekula a kagylók és csigák esetében. Molekuláris filogenetikai vizsgálataink megerősítették, hogy az eredetileg puhatestű GnRH-nak nevezett peptidok a CRZ családdal vannak rokonságban.
- 2) Az *in vitro* és *in vivo* kísérleteink azt mutatták, hogy a ly-GnRH/CRZ részt vesz a mozgási aktivitás és peterakás szabályozásában, valamint potenciális szerepe van a szív szabályozás modulálásában is, azaz egy multifunkcionális peptid. Nem találtunk kapcsolatot a táplálkozási rátával, de fontos megjegyezni, hogy csak egy peptid koncentrációt (10 μ g peptid/egyed) használtunk az *in vivo* kísérleteinkben, így lehetséges, hogy ez túl alacsony volt ahhoz, hogy

hatással legyen a táplálkozási rátára. A jövőbeni vizsgálatoknak további koncentráció(k) használatát is kell célozniuk. Habár még csak kevés funkcionális tanulmányt publikáltak a gerinctelen GnRH/CRZ kapcsán, eredményeink egyrészt megerősítik, hogy az eredetileg gerinctelen GnRH-nak elnevezett peptidek multifunkcionálisak és egyaránt felelősek reproduktív és nem-reproduktív funkciók szabályozásáért, másrészt támogatják azt a javaslatot, hogy a peptidcsaládot CRZ-ként kellene klasszifikálni.

- 3) A neurális transzkriptom és genom adataink azt mutatták, hogy több, a szex szteroid szintézishez kulcsfontosságú gén (például CYP11A), valamint a funkcionális nukleáris szex szteroid receptorok (például nPR) nem található meg a *L. stagnalis*-ban. A meglévő gének és az enzimpromiszkuitás jelensége miatt nem zárjuk ki, hogy a *L. stagnalis* (és általában a puhatestűek) képesek a szintézis útvonal mindegyik lépésére, ugyanakkor a legtöbbet olyan alacsony hatásfokkal valósítják, hogy a hozamok valószínűleg túl alacsonyak lennének egy szteroid-alapú hormonrendszer fenntartásához. Kétségtől fel kell tenni a kérdést, hogy a puhatestűek természetes szelekciója kedvezett-e egy szex szteroid alapú endokrin rendszer kialakulásának.
- 4) Megerősítettük, hogy a puhatestűek képesek a környezetből felvenni, metabolizálni, illetve hosszú ideig tárolni a szex szteroidokat. Ez alátámasztja azt, hogy a puhatestű szövetekben megtalálható/mérhető gerinces szteroidok nem feltétlenül endogén eredetűek.
- 5) Az IHC vizsgálataink során fals pozitív immunjelet kaptunk a gerinces CYP19A és nPR ellen készített gerinces antitestek használatával. Mivel egyik gén sem található meg a puhatestű (és általában a gerinctelen) genomokban, eredményeink alátámasztják azt a nézetet, hogy a gerinces fehérjékre készített antitesteket használó IHC nagyon megbízhatatlan módszer a gerinctelenek fehérjéinek azonosítására és lokalizációjának vizsgálatára. A WB és MS vizsgálatok során kapott eredmények alátámasztották ezt a kijelentesünket.
- 6) Bár sem a *L. stagnalis*-ban sem általában a puhatestűekben nem található funkcionális nukleáris szex szteroid receptor, nem zárjuk ki, hogy a fiziológias működésük megváltozhat, ha gerinces szex szteroidoknak vannak kitéve. Ez végbemehet membrán szex szteroid receptorokon, más molekulák receptorain, vagy egyszerűen lehet a szteroidok metabolizálásával járó forrás re-allokáció következménye.

- 7) Kutatócsoportunk korábban több változást is kimutatott a *L. stagnalis* reprodukciójában krónikus progesztogén kezelések során, ugyanakkor nem mutattunk ki változást a reprodukciót irányító neuropeptidek expressziójában. Feltételezzük, hogy a hormonkezelés hatására megváltozik a hermafrodita egyedek reprodukzív allokációja, ugyanakkor ez a változás nem a reprodukciót irányító neuropeptidek expressziójának szintjén jelenik meg. A reprodukzív allokáció-változás pontos mechanizmusának megértéséhez még további kutatásokra van szükség.

Összefoglalva, eredményeink egyértelműen arra utalnak, hogy a puhatestűek neuroendokrin rendszere különbözik a gerincesek jól jellemzett neuroendokrin rendszerétől.

6. Irodalomjegyzék

- ¹**Aubry R.** [Effect of estradiol & progesterone on the gonads of Pulmonata]. *C R Hebd Seances Acad Sci* (1959) 248, 1225-7.
- ²**Balbi T, Ciacci C, Canesi L.** Estrogenic compounds as exogenous modulators of physiological functions in molluscs: Signaling pathways and biological responses. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C* (2019) 222, 135-144.
- ³**Corner GW, Allen WM.** Physiology of the corpus luteum, II: production of a special uterine reaction (progestational proliferation) by extracts of the corpus luteum. *American Journal of Physiology-Legacy Content* (1929) 88, 326-339.
- ⁴**David K, Dingemane E, Freud J, E. L.** Über krystallinisches männliches Hormon aus Hoden (Testosteron), wirksamer als aus Harn oder aus Cholesterin bereitetes Androsteron. *Hoppe-Seyler's Zeitschrift für Physiologische Chemie* (1935) 233.
- ⁵**Fernandes D, Loi B, Porte C.** Biosynthesis and metabolism of steroids in molluscs. *J Steroid Biochem Mol Biol* (2011) 127, 189-95.
- ⁶**Fodor I, Urban P, Scott AP, Pirger Z.** A critical evaluation of some of the recent so-called 'evidence' for the involvement of vertebrate-type sex steroids in the reproduction of mollusks. *Mol Cell Endocrinol* (2020) 516, 110949.
- ⁷**Fodor I, Pirger Z.** From dark to light - an overview of over 70 years of endocrine disruption research on marine mollusks. *Frontiers in Endocrinology* (2022) 13, 903575.
- ⁸**Hagerman DD, Wellington FM.** Estrogens in marine invertebrates. *The Biological Bulletin* (1957) 112, 180-183.
- ⁹**Horiguchi T, Ohta Y.** A Critical Review of Sex Steroid Hormones and the Induction Mechanisms of Imposex in Gastropod Mollusks. in *Advances in Invertebrate (Neuro)Endocrinology* (eds A. B. L. Saber Saleuddin, Ian Orchard), Apple Academic Press, 2020. 9781003029854.
- ¹⁰**Huffman MN, Thayer SA, Doisy EA.** The isolation of a-dihydrotheelin from human placenta. *Journal of Biological Chemistry* (1940) 133.
- ¹¹**Minakata H, Tsutsui K.** Oct-GnRH, the first protostomian gonadotropin-releasing hormone-like peptide and a critical mini-review of the presence of vertebrate sex steroids in molluscs. *Gen Comp Endocrinol* (2016) 227, 109-14.
- ¹²**Pirger Z, Zrinyi Z, Maasz G, Molnar E, Kiss T.** Pond snail reproduction as model in the environmental risk assesment: Reality and doubts. in *Biological Resources of Water* (eds S. Ray), IntechOpen, 2018. 978-1-78923-081-9.
- ¹³**Scott AP.** Do mollusks use vertebrate sex steroids as reproductive hormones? Part I. Critical appraisal of the evidence for the presence, biosynthesis and uptake of steroids. *Steroids* (2012) 77, 1450-1468.
- ¹⁴**Scott AP.** Do mollusks use vertebrate sex steroids as reproductive hormones? II. Critical review of the evidence that steroids have biological effects. *Steroids* (2013) 78, 268-281.
- ¹⁵**Scott AP.** Is there any value in measuring vertebrate steroids in invertebrates? *Gen Comp Endocrinol* (2018) 265, 77-82.

7. Tudományos teljesítmény adatai

7.1. Az értekezés témájához kapcsolódó közlemények

Fodor I, Schwarz T, Kiss B, Tapodi A, Schmidt J, Cousins ARO, Katsiadaki I, Scott AP, Pirger Z. Studies on a widely-recognized snail model species (*Lymnaea stagnalis*) provide further evidence that vertebrate steroids do not have a hormonal role in the reproduction of mollusks. **Frontiers in Endocrinology**. 2022. 13:981564. (D1; IF₂₀₂₁: 6.055)

Fodor I and Pirger Z. From dark to light - an overview of over 70 years of endocrine disruption research on marine mollusks. **Frontiers in Endocrinology**. 2022 13:903575. (D1; IF₂₀₂₁: 6.055)

Fodor I, Koene JM, Pirger Z. Neuronal Transcriptome Analysis of a Widely Recognised Molluscan Model Organism Highlights the Absence of Key Proteins Involved in the De Novo Synthesis and Receptor-Mediation of Sex Steroids in Vertebrates. **Malacologia**. 2021 64(1):69-77. (Q4; IF₂₀₂₁: 0.88)

Fodor I, Svigruha R, Bozsó Z, Tóth G, Osugi T, Yamamoto T, Satake H, Pirger Z. Functional characterization and related evolutionary implications of invertebrate gonadotropin-releasing hormone/corazonin in a well-established model species. **Scientific Reports**. 2021 11:10028. (D1; IF₂₀₂₁: 4.996)

Fodor I, Zrinyi Z, Horváth R, Urbán P, Herczeg R, Büki G, Koene JM, Tsai PS, Pirger Z. Identification, presence, and possible multifunctional regulatory role of invertebrate gonadotropin-releasing hormone/corazonin molecule in the great pond snail (*Lymnaea stagnalis*). **General and Comparative Endocrinology**. 2020 299:113621. (Q1; IF₂₀₂₀: 2.822)

Fodor I, Urbán P, Scott AP, Pirger Z. A critical evaluation of some of the recent so-called 'evidence' for the involvement of vertebrate-type sex steroids in the reproduction of mollusks. **Molecular and Cellular Endocrinology**. 2020 516:110949. (Q1; IF₂₀₂₀: 4.102)

7.2. Az értekezés témájához nem kapcsolódó közlemények

Svigruha R, **Fodor I**, Győri J, Schmidt J, Padišák J, Pirger Z. Effects of chronic sublethal progestogen exposure on development, reproduction, and detoxification system of water flea, *Daphnia magna*. **Science of the Total Environment**. 2021 784:147113. (D1; IF₂₀₂₁: 10.753)

Molnar E, **Fodor I**, Svigruha R, Pirger Z. Issues, challenges, directives, and limitations concerning the improvement of environmental risk assessment of pharmaceutically active compounds. **Ecotoxicology and Environmental Safety**. 2021 216:112212. (D1; IF₂₀₂₁: 7.129)

Fodor I, Svigruha R, Kemenes G, Kemenes I, Pirger Z. The great pond snail (*Lymnaea stagnalis*) as a model of ageing and age-related memory impairment: an overview. **Journal of Gerontology A**. 2021 76(6):975-982. (D1; IF₂₀₂₁: 6.591)

Hussein AAA, Bloem E, **Fodor I**, Baz ES, Tadros MM, Soliman MFM, El-Shenawy NS, Koene JM. Slowly seeing the light: an integrative review on ecological light pollution as a potential threat for mollusks. **Environmental Science and Pollution Research**. 2021 28(5):5036-5048. (Q1; IF₂₀₂₁: 5.19)

Svigruha R, **Fodor I**, Padisak J, Pirger Z. Progesterone-induced alterations and their ecological relevance in different embryonic and adult behaviours of an invertebrate model species, the great pond snail (*Lymnaea stagnalis*). **Environmental Science and Pollution Research**. 2021 28(42):59391-59402. (Q1; IF₂₀₂₁: 5.19)

Maasz G, Zrínyi Z, **Fodor I**, Boross N, Vitál Z, Kánainé Sipos DI, Kovács B, Melegh S, Takács P. Testing the Applicability of MALDI-TOF MS as an Alternative Stock Identification Method in a Cryptic Species Complex. **Molecules**. 2020 25(14):3214. (Q1; IF₂₀₂₀: 4.411)

Fodor I, Hussein AA, Benjamin PR, Koene JM, Pirger Z. The unlimited potential of the great pond snail, *Lymnaea stagnalis*. **eLife**. 2020 9:e56962. (D1; IF₂₀₂₀: 8.14)

Fodor I, Urbán P, Kemenes G, Koene JM, Pirger Z. Aging and disease-relevant gene products in the neuronal transcriptome of the great pond snail (*Lymnaea stagnalis*): a potential model of aging, age-related memory loss, and neurodegenerative diseases. **Invertebrate Neuroscience**. 2020 20(3):9. (Q4; IF₂₀₂₀: 0.5)

Maasz G, Mayer M, Zrínyi Z, Molnar E, Kuzma M, **Fodor I**, Pirger Z, Takács P. Spatiotemporal variations of pharmacologically active compounds in surface waters of a summer holiday destination. **Science of the Total Environment**. 2019 677:545-555. (D1; IF₂₀₁₉: 6.55)

Maasz G, Zrínyi Z, Takacs P, Lovas S, **Fodor I**, Kiss T, Pirger Z. Complex molecular changes induced by chronic progesterone exposure in roach, *Rutilus rutilus*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**. 2017 139:9-17. (Q1; IF₂₀₁₇: 3.24)

Fodor I, Valasek A, Urbán P, Kovács M, Fekete C, Kerepesi I. A comparative study on optimisation of protein extraction methods for *Saccharomonospora azurea*. **Acta Biologica Szegediensis**. 2017 61(1):45-50. (Q3; IF₂₀₁₇: 0.2)

Valasek A, Kiss ÍÉ, **Fodor I**, Kovács M, Urbán P, Jámbor É, Fekete C, Kerepesi I. Proteomic insight into the primycin fermentation process of *Saccharomonospora azurea*. **Acta Biologica Hungarica**. 2016 67(4):424-430. (Q3; IF₂₀₁₆: 0.5)

7.3. Az értekezés témájához kapcsolódó konferencia szereplések

1. **Fodor I**, Sviruha R, Urbán P, Tóth G, Koene JM, Tsai PS, Satake H, Pirger Zs: Characterization of invertebrate gonadotropin-releasing hormone/corazonin in the well-established molluscan model species *Lymnaea stagnalis*: evolutionary and functional implications. 30th CECE & 9th ISFE, Faro, Portugal, 2022. 09. 04-08. (online előadás)
2. **Fodor I**, Schwarz T, Kiss B, Tapodi A, Schmidt J, Katsiadaki I, Scott AP, Pirger Zs: Studies on the great pond snail highlight weaknesses in two lines of evidence that vertebrate steroids have a hormonal role in the reproduction of mollusks. 30th CECE & 9th ISFE, Faro, Portugal, 2022. 09. 04-08. (poszter)
3. **Fodor I**, Sviruha R, Tóth G, Pirger Zs: Progesztogén indukálta sejtes és molekuláris hatások a nagy mocsári csiga (*Lymnaea stagnalis*) neuroendokrin és reprodukciós rendszerében. XI. Ökotoxikológiai konferencia, 2021.11.26. (online előadás)
4. Pirger Zs, Sviruha R, Urbán P, Tsai PS, Koene JM, **Fodor I**: Identification, presence, and possible multifunctional regulatory role of invertebrate GnRH/CRZ molecule in the great pond snail (*Lymnaea stagnalis*). FENS2020 Virtual Forum, 2020.07.11-15. (poszter)
5. **Fodor I**, Zrínyi Z, Sviruha R, Urbán P, Tsai PS, Koene JM, Pirger Zs: Effects of progestogens on the neuroendocrine system of an invertebrate model species (*Lymnaea stagnalis*). Scientific day of VU, Amsterdam, the Netherlands. 2020.02.18 (előadás)
6. **Fodor I**, Zrínyi Z, Sviruha R, Urbán P, Tsai PS, Koene JM, Pirger Zs: Effects of progestogens on the neuroendocrine system of an invertebrate model species (*Lymnaea stagnalis*). NAEM, Lunteren, the Netherlands, 2020.02.11-12. (poszter)
7. **Fodor I**, Zrínyi Z, Sviruha R, Molnár É, Urbán P, Tsai PS, Koene JM, Pirger Zs: Effects of progestogens on the neuroendocrine system of an invertebrate model species (*Lymnaea stagnalis*). IBRO2020 Workshop, Szeged, Hungary, 2020.01.29-30. (poszter)

8. **Fodor I**, Svigruha R, Molnár É, Urbán P, Koene JM, Pirger Zs: Progesztogén indukálta hatások a nagy mocsári csiga (*Lymnaea stagnalis*) neuroendokrin és reprodukciós rendszerében. X. *Ökotoxikológiai konferencia, 2020.12.04.* (online előadás)
9. **Fodor I**: Progesztogén indukálta hatások a nagy mocsári csiga (*Lymnaea stagnalis*) neuroendokrin és reprodukciós rendszerében. *Pannon Tudományos Nap, 2020.11.16-17.* (online előadás)
10. **Fodor I**, Zrínyi Z, Maász G, Urbán P, Koene JM, Pirger Zs: Progesztogén indukálta hatások a nagy mocsári csiga (*Lymnaea stagnalis*) neuroendokrin rendszerében. IX. *Ökotoxikológiai konferencia, Budapest, Magyarország, 2019.11.22.* (poszter)
11. **Fodor I**, Zrínyi Z, Urbán P, Tsai PS, Koene JM, Pirger Zs: Progestogens-induced changes on the neuroendocrine system of freshwater pond snail (*Lymnaea stagnalis*). *1st Symposium on Invertebrate Neuroscience, Tihany, Hungary, 2019.08.13-17.* (előadás)
12. **Fodor I**, Zrínyi Z, Urbán P, Tsai PS, Koene JM, Pirger Zs: Gonadotropin releasing hormone (GnRH) or corazonin (CRZ) - two faces of the same neuropeptide. *1st Symposium on Invertebrate Neuroscience, Tihany, Hungary, 2019.08.13-17.* (poszter)
13. **Fodor I**: Gonadotropin-fel szabadító hormon (GnRH) expresszió vizsgálata progesztogén kezelt nagy mocsári csiga (*Lymnaea stagnalis*) központi idegrendszerében. *I. Régiós Környezettoxikológiai PhD Konferencia, Veszprém, Magyarország, 2018.12.12.* (előadás)
14. **Fodor I**, Svigruha R, Zrínyi Z, Büki G, Urbán P, Pirger Zs: Gonadotropin-fel szabadító hormon (GnRH) expresszió vizsgálata progesztogén kezelt nagy mocsári csiga (*Lymnaea stagnalis*) központi idegrendszerében. *VIII. Ökotoxikológiai konferencia, Budapest, Magyarország, 2018.11.23.* (poszter)

7.4. Az értekezés témájához nem kapcsolódó konferencia szereplések

1. **Fodor I**, Svigruha R, Urbán P, Gálik B, Kemenes G, Kemenes I, Pirger Zs: Cellular and molecular mechanisms of age-related changes in a defined neuronal network encoding associative memory. 25. *Tavaszi Szél konferencia, Pécs, Magyarország, 2022.05.06-08.* (poszter)
2. Svigruha R, **Fodor I**, Schmidt J, Győri J, Padisák J, Pirger Zs: A progesztogén hatóanyagok hosszú távú terhelése során megfigyelhető egyed- és molekuláris szintű változások a nagy vízibolha (*Daphnia magna*) egyedekben. 25. *Tavaszi Szél konferencia, Pécs, Magyarország, 2022.05.06-08.* (poszter)
3. **Fodor I**, Svigruha R, Urbán P, Gálik B, Kemenes G, Kemenes I, Pirger Zs: Cellular and molecular mechanisms of age-related changes in a defined neuronal network encoding associative memory. *IBRO2022 Workshop, Budapest, Magyarország, 2022.01.27-28* (poszter)

4. Svigruha R, **Fodor I**, Schmidt J, Győri J, Padisák J, Pirger Zs: A progesztogén hatóanyagok hosszú távú terhelése során megfigyelhető egyed- és molekuláris szintű változások a nagy vízibolha (*Daphnia magna*) egyedeiben. *XI. Ökotoxikológiai konferencia, 2021.11.26.* (online előadás)
5. Farkas A, Svigruha R, **Fodor I**, Somogyvári D, Győri J: Neonikotinoidok és emelkedő hőmérséklet interaktív hatásainak vizsgálata a nagy vízibolha (*Daphnia magna*) modellen. *XI. Ökotoxikológiai konferencia, 2021.11.26.* (online előadás)
6. Svigruha R, **Fodor I**, Padisák J, Pirger Zs: Progesztogének okozta változások és azok ökológiai vonatkozásai egy vízi gerinctelen modellállat (*Lymnaea stagnalis*) embrióiban és felnőtt egyedeiben. *X. Ökotoxikológiai konferencia, 2020.12.04.* (online előadás)
7. Maász G, **Fodor I**, Molnár É, Zrínyi Z, Svigruha R, Kiss T, Pirger Zs: A környezetből kimutatható pszichoaktív hatóanyag-szennyezések felmérése és az általuk indukált változások vizsgálata a nagy mocsári csiga (*Lymnaea stagnalis*) központi idegrendszerében. *IX. Ökotoxikológiai konferencia, Budapest, Magyarország, 2019.11.22.* (poszter)
8. Pirger Zs, **Fodor I**, Svigruha R, Molnár É, Zrínyi Z, Kiss T, Maász G: Környezeti kockázatbecslés alapján beállított gyógyszer-szennyezések élettani hatásai nagy mocsári csigán (*Lymnaea stagnalis*). *IX. Ökotoxikológiai konferencia, Budapest, Magyarország, 2019.11.22.* (előadás)
9. Molnár É, **Fodor I**, Pirger Zs, Maász G: Gyógyszerhatóanyag-koncentrációk környezeti kockázati elemzése a Balatonban. *IX. Ökotoxikológiai konferencia, Budapest, Magyarország, 2019.11.22.* (előadás)
10. Svigruha R, **Fodor I**, Maász G, Szoboszlai S, Bordós G, Pirger Zs: Jelölt mikroműanyag-partikulumok mozgása a nagy vízibolha nemzedékei között. *IX. Ökotoxikológiai konferencia, Budapest, Magyarország, 2019.11.22.* (poszter)
11. Maász G, **Fodor I**, Molnar E, Zrínyi Z, Svigruha R, Udvardi R, Laszlo Z, Kiss T, Pirger Zs: Monitoring of environmental psychoactive drug contaminations and investigation of the induced neuronal changes. *1st Symposium on Invertebrate Neuroscience, Tihany, Hungary, 2019.08.13-17.* (előadás)
12. Svigruha R, Zrínyi Z, **Fodor I**, Maasz G, Pirger Zs: Impact of progestogen contaminations on the general physiological state of *Lymnaea stagnalis*. *1st Symposium on Invertebrate Neuroscience, Tihany, Hungary, 2019.08.13-17.* (poszter)
13. Molnar E, Hahn J, **Fodor I**, Zrínyi Z, Szoboszlai S, Pirger Zs, Maasz G: Environmental risk assessment of pharmaceuticals in the largest shallow lake in Central Europe. *17th International Conference on Chemistry and Environment, Thessaloniki, Greece, 2019.06.16-20.* (poszter)

14. Maász G, Máyer M, Zrínyi Z, Molnár É, Kuzma M, **Fodor I**, Pirger Zs, Takács P: Gyógyszerhatóanyag maradványok vízminőségi és ökológiai kockázatának vizsgálata. *20. Kolozsvári Biológus Napok, Kolozsvár, Románia, 2019.04.12-14.* (előadás)
15. Molnár É, **Fodor I**, Takács P, Zrínyi Z, Kuzma M, Mayer M, Pirger Zs, Maász G: Gyógyszerhatóanyag-koncentrációk felmérése a Balatonban és annak vízgyűjtő területén a szezonális hatások figyelembevételével. *VIII. Ökotoxikológiai konferencia, Budapest, Magyarország, 2018.11.23.* (előadás)
16. Svigruha R, Zrínyi Z, **Fodor I**, Kardos V, G-Tóth L, Pirger Zs: Gerinctelen vízi modellállatokban megfigyelhető változások progesztogén hatóanyagok hosszú távú terhelése során. *VIII. Ökotoxikológiai konferencia, Budapest, Magyarország, 2018.11.23.* (poszter)
17. Maász G, Molnár É, Kuzma M, Mayer M, Zrínyi Z, **Fodor I**, Takács P, Pirger Zs: „Tisztább, mint az átlag” - folytatódnak a gyógyszermaradvány felmérések a Balatonban. *Fiatal Analitikusok XXVI. Előadóünlése, Budapest, Magyarország, 2018.11.12.* (előadás)
18. Molnár E, **Fodor I**, Takács P, Zrínyi Z, Kuzma M, Mayer M, Pirger Zs, Maász G: The environmental impact of summer social events on the largest shallow lake in Central. *40th International Conference on Environmental & Food Monitoring, Santiago de Compostela, Spain, 2018.06.19-22.* (poszter)
19. Molnár É, **Fodor I**, Takács P, Zrínyi Z, Mayer M, Pirger Zs, Maász G: Analytical measurement of active pharmaceutical ingredients in Lake Balaton and its catchment area. *Környezettoxikológiai Munkabizottság előadóünlése, MTA VEAB székház (Veszprém), 2018.05.30.* (előadás)
20. **Fodor I**, Valasek A, Urbán P, Pirger Zs, Fekete Cs, Kerepesi I: A comparative study on optimisation of protein extraction method for *Saccharomonospora azurea*. *10th Central and Eastern European Proteomic Conference, Budapest, Hungary, 2016.10.11-14.* (poszter)
21. Maász G, Zrínyi Z, Takács P, Lovas S, **Fodor I**, Pirger Zs: Krónikus progesztogén terhelés indukálta molekuláris, szövettani és szomatikus index változások az őshonos búzaszemű keszegen (*Rutilus rutilus*). *Magyar Farmakológiai, Anatómus, Mikrocirkulációs és Élettani Társaságok Közös Tudományos Konferenciája (FAMÉ), Pécs, Magyarország, 2016.06.01-04.* (poszter)
22. Maasz G, Lovas S, Zrínyi Z, **Fodor I**, Kiss T, Pirger Zs: Electrophysiology-LC-MS online system. *34th IMMS, Fiera di Primiero, Italy, 2016.05.15-18.* (poszter)
23. Lovas S, **Fodor I**, Kiss T, Pirger Zs: Changes of electrical characteristics induced by priority pollutant hormones in *Lymnaea* identified neurons. *IBRO2016 Workshop, Budapest, Magyarország, 2016.01.21-22.* (poszter)
24. Valasek A, **Fodor I**, Kiss I, Kovacs M, Toth Zs, Urbán P, Jambor E, Laszlo M, Fekete Cs, Kerepesi I: From genomics to proteomics in the field on antibiotic research. *Hungarian Molecular Life Sciences, Eger, Hungary, 2015.03.27-29.* (poszter)