

Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar

Élettani Intézet

A NEUROPEPTID QRFP SZEREPE A HIPOTALAMUSZBAN

Doktori (PhD) értekezés tézisei

Dr. ZagorácZ Olga

Elméleti Orvostudományok Doktori Iskola

Doktori Iskola vezetője: Prof. Dr. Szekeres Júlia

Programvezető: Prof. Dr. Karádi Zoltán

Témavezető: Prof. Dr. Lénárd László

Pécs, 2021

1. Bevezetés

Jelen kutatás során az éhségmotiválta magatartás és a testsúlyszabályozás problémájával foglalkoztunk. A legújabb statisztikák szerint a világ népességének 7,8%-a szenved táplálkozási zavaroktól, mint például az anorexia nervosa, vagy a bulimia nervosa [1]. Az ilyen betegségekhez gyakran társulnak pszichiátriai tünetek is, ezek közül kiemelendők a hangulati és szorongásos zavarok, a kábítószerfüggőség [2, 3], vagy akár a magas öngyilkossági ráta [4, 5]. Ugyanakkor a világ felnőtt lakosságának 40%-a túlsúlyos, ebből 13%-nál diagnosztizáltak elhízást [6]. Az anyagcsere kísérőbetegségei, mint például a 2-es típusú diabetes mellitus, a gyomor-bél traktus diszfunkciói és a szív- és érrendszeri betegségek gyakran kísérik a súlygyarapodást vagy -csökkenést, és speciális kezelést igényelnek [7-11].

A kutatás másik fókuszpontja a memória és a tanulási folyamatok vizsgálata volt. „Világszerte évente több mint 9,9 millió új demenciás eset fordul elő, ami 3,2 másodpercenként egy új esetet jelent” – áll az Alzheimer-kór nemzetközi kutatásának eredményeiben. A demencia gazdasági hatása nagyobb, mint a rák- és a szívbetegségek együttvéve [12]. A demenciában szenvedő betegeknél számos egyéb tünet is jelentkezik és ez a betegség társadalmi elszigeteltséget okozhat.

A biológiai funkciók precíz koordinációja szükséges a törékeny egyensúly fenntartásához. A hipotalamusz az egyik ilyen koordinációs központ. A masszív agyi léziókkal és a hipotalamusz magjainak elektromos stimulációjával végzett kísérletek hozzájárultak a különálló „táplálkozási központok” koncepciójának megalkotásához. Ennek megfelelően a hipotalamusz ventromedialis magját (VMH) „jóllakottsági központnak”, a laterális hipotalamusz területét (LHA) pedig „éhségközpontnak” tekintik [13-22]. A neurotranszmitterek [noradrenalin (NA), dopamin (DA), szerotonin (5-HT)] jelátvitelére révén a hipotalamusz szabályozza a táplálkozási mintákat az elfogyasztott élelem méretének, táplálék tartalmának és energiaértékének megfelelően, más táplálékfelvételt szabályozó neuropeptidok termelésével [23-30], illetve motivációs és jutalmazási mechanizmusokkal együtt [31-33]. Az egyik oldalon az orexigén neuropeptid Y (NPY) és az agouti-rokon peptid (AgRP) expresszáló neuronok szerepe, a másikon pedig az anorexigén pro-opiomelanocortint (POMC) expresszáló neuronok szerepe ismert. Ezen kívül a hipotalamusz az „érzelmi és viselkedési agy”, azaz a limbikus rendszer integráló központja is. A hipotalamusz különböző magcsoportjai szoros összeköttetésben állnak különböző limbikus struktúrákkal, mint a hippokampusz, az amigdala (Amy), a szeptum magok, az akkumbensz mag stb. [34-38]. Számos hipotalamikus neuropeptidről – mint például a kortikotropin-felszabadító hormon (CRH), a tirotropin-felszabadító hormon (TRH), az oxitocin (Oxt), a vazopresszin (VP) stb. – tudjuk, hogy szabályozzák a táplálékfelvételt, a viselkedést, illetve a memória- és a tanulási folyamatokat.

A QRFP neuropeptid az RFamid peptidcsalád nemrégiben felfedezett piroglutamilált tagja. A QRFP-t expresszáló neuronok szinte kizárólag a hipotalamuszban lokalizálódnak (VMN, dorsomedialis mag (DMN), LHA) [39-41]. A QRFP receptorok, más néven GPR103 receptorok a rágcsálókban két izoformában (1. és 2. altípus) található meg [41, 42]. Az agyon belül a QRFP receptorok elsősorban az agykéregben, a hipotalamuszban, a talamuszban, a vesztibularis magban és a trigeminusz ganglionban expresszálódnak, továbbá az Amy-ban, a kaudatusz magban, a hippocampusban és a ventralis tegmentalalis áréában (VTA) [43, 44]. A QRFP biológiai hatásai kiterjednek a táplálkozási viselkedés szabályozására és az anyagcsere-állapot, a mozgási aktivitás, illetve a szorongás szabályozására. A QRFP részt vesz a nocicepcióban, a szív- és érrendszeri aktivitásában, a vázizmok és a zsírszövet anyagcseréjében, a szaporodásban, a mellékvese aktivitásában, sőt bizonyos rákos megbetegedéseknél is szerepet játszik [45]. Mindazonáltal a QRFP központi hatásaira vonatkozó adatok továbbra is ellentmondásosak.

Munkánk során megvizsgáltuk az új neuropeptid QRFP tulajdonságait, amikor közvetlenül a hipotalamusz parenchymájába injektáltuk, nevezetesen a mediális hipotalamusz területébe (MHA, beleértve a VMN-t és DMN-t) és a laterális hipotalamusz területébe (LHA). Annak ellenére, hogy az anyagot a 2000-es évek elején azonosították, szerepe és hatásmechanizmusai még mindig nem tisztázottak. A QRFP táplálkozás-, szorongás- és motivációs szabályozásban betöltött szerepének vizsgálata mellett egyedülálló bizonyítékot mutatunk be a neuropeptid aktivitásának korábban ismeretlen aspektusára, a térbeli memória konszolidációjában való részvételre vonatkozóan.

2. Célkitűzések

Figyelembe véve a QRFP fiziológiai hatásait, a központi idegrendszeren belüli kötőhelyek elhelyezését, a rokon RFamid peptidek szerepét a homeosztatis és viselkedési folyamatokban, a jelen tanulmány célja volt a QRFP szerepének vizsgálata a táplálkozási viselkedésben, a motivációban és a jutalmazási mechanizmusokban, illetve a tanulási- és emlékezési folyamatokban. A QRFP mozgási aktivitásra és szorongás-szintre gyakorolt hatásaira vonatkozó ellentmondásos adatok miatt jelen tanulmányban ezeket a paramétereket is figyelembe vettük. Kísérleteink során közvetlen intracerebrális mikroinjekciókat alkalmaztunk az agyi parenchymába. A patkány mediális hipotalamusz területét (VMN-t és DMN-t), valamint az LH-t, ahol a QRFP-szintetizáló neuronokat nagy számban kimutatták és nagy sűrűségű kötőhelyeket tartalmazó területeket írták le, választottuk célterületként.

A QRFP funkciók meghatározott szempontjainak megvilágítására a következő kísérleteket terveztünk be:

1. A kutatás egyik fő célja a QRFP közvetlen intrahipotalamikus adagolásával a táplálékfelvételre gyakorolt hatásainak vizsgálata volt. A folyékony táplálékfelvétel mérését választottuk a legmegfelelőbb és legegyszerűsebb (a száraz táphoz képest) módszerként. Ennek köszönhetően az állatok zavarása nélkül végezhettük 5 percenként a méréseket.
2. A táplálkozási magatartás modulációja esetén indokolt megvizsgálni a QRFP esetleges jutalmazó/averzív hatását is. A kérdés megválaszolásához kondicionált helypreferencia tesztet (CPP) alkalmaztunk.
3. További cél volt a QRFP aktivitás egy feltáratlan, de ígéretes aspektusának – a peptid memóriára és tanulásra gyakorolt hatásának – vizsgálata. A jól ismert paradigmát, a Morris vízi labirintust (MWM) alkalmaztuk.
4. Tanulmányoztunk, hogy a QRFP befolyásolja-e az általános mozgási aktivitást, mivel ez a paraméter árnyalhatja más kísérletek eredményeit. Erre a célra open field tesztet (OFT) alkalmaztunk. Emellett a CPP, a MWM és az EPM mozgásra utaló paramétereit is elemeztünk.
5. Jelen tanulmány további stratégiaiilag fontos kérdése volt, hogy a QRFP neuropeptid megváltoztatja-e a szorongás szintjét. Ennek a kérdésnek a vizsgálatára emelt keresztpalló (EPM) tesztet alkalmaztunk. Elemeztük az OFT és MWM során gyűjtött specifikus paramétereket is.
6. A felsorolt kísérletek bármely szempontja alapján elért eredmények esetén szükségszerű volt annak meghatározása, hogy a megfelelő receptorrendszer részt vesz-e a megfigyelt hatásokban. Ezt a célt a BIBP3226 (Ant) nem-peptid antagonistá előkezelés hatásának vizsgálata szolgálta.

3. Módszerek

3.1. Kísérleti állatok

Kísérleteink során 398 felnőtt hím Wistar patkányt (LATI, Gödöllő, Magyarország) használtunk, melyek átlagos testsúlya a kísérletek kezdetén 270-320 g volt. Az állatokat egyenként, hőmérséklet- és fény szabályozott helyiségben tartottuk (22 ± 2 °C, 12-12 órás világos-sötét ciklus, reggel 06:00-kor bekapcsolt világítással). A patkányok gondozása az intézményi (Pécsi Tudományegyetem Orvostudományi Kar, BA02/2000-8/2012), az országos (40/2013. (II.14.) Korm. rendelet) és a nemzetközi (Európai Közösségi Tanács irányelve, 86/609/EGK, 1986, 2010) előírásoknak megfelelően történt. A viselkedési kísérletekben csapvíz és standard laboratóriumi rágcsálótáp (CRLT/N standard rágcsálótáp pellet, Charles River Laboratories, Budapest, Magyarország) *ad libitum* volt elérhető. A táplálkozási kísérletekben a kísérleti mérések előtt és után *ad libitum* volt elérhető víz és rágcsálótáp. A testsúlyt, a táplálék- és vízfogyasztást naponta gramm, illetve milliliter pontossággal mértük. Az összes vizsgálatot a patkányok nappali időszakában, 08:00 és 14:00 óra között végeztük.

3.2. Sztereotaxikus műtét

A műtéteket általános anesztéziában végeztük, melyet diazepammal kiegészített ketamin (Calypsol, 80 mg/ttkg és Seduxen, 20 mg/ttkg; Richter Gedeon Kft., Magyarország) intraperitoneális injekciójával idéztünk elő. Rozsdamentes acél vezetősöveket (22-gauge átmérőjű) implantáltunk a jobb agyfélteke MHA-jába (a bregmához viszonyítva: AP: -2,8 mm, ML: 0,6 mm és DV: 7,0-8,5 mm a dura mater felszínétől mérve) vagy LHA-jába (AP: -2,8 mm, ML: 1,3 mm és DV: 7,5-8,3 mm) Paxinos és Watson sztereotaxiás patkányagy atlasza szerint [46]. A kanülök hegyét 0,5 mm-rel az injekció tervezett helye felett helyeztük el. A kanüloket akrilcementtel (Duracryl) és rozsdamentes acél csavarokkal rögzítettünk a koponyához (úgy nevezett „korona”). Az injektálási időszakon kívül a vezetősöveket rozsdamentes acél dugókkal (27-gauge átmérőjű) zártuk le. A műtétek során az állatok antibiotikum profilaxisban részesültek (G-penicillin). A műtétet követően az állatoknak legalább 6 napjuk volt a posztoperatív felépülésre. A kísérletek megkezdése előtt minden állat átessett egy általános (műtét előtti testtömeg, fiziológiás bőr- és szövet állapot), valamint neurológiai vizsgálaton (ép szenzoros- és motoros funkciók).

3.3. A kísérleti anyagok

A kísérletek során a 26 aminosavból álló patkány-QRFP peptidet (048-72, Phoenix Pharmaceuticals Inc., USA) 100 ng, 200 ng vagy 400 ng (35, 70, 140 pM) dózisban, valamint BIBP3226 receptor antagonistát (B174, Sigma-Aldrich Kft., Magyarország) 18 ng, 35 ng illetve 70 ng (38, 74 és 148 pM) dózisban alkalmaztunk (a továbbiakban QRFP, illetve Ant). A peptid mikroinjekciók koncentrációját a rokon peptidekkel végzett korábbi vizsgálataink és a pilot kísérletek eredményei, míg az Ant kezeléshez szükséges koncentrációkat a hatékony QRFP dózis ekvimolárisa alapján határoztuk meg. A neurokémiai anyagokat 0,15 M steril sóoldatban oldottuk fel az intrahipotalamikus mikroinjekciókhoz 0,4 µl térfogatban. A kontroll mérésekhez az állatok azonos térfogatú vivőanyag-oldatot (Control 1, 0,15 M steril sóoldat, vehiculum) kaptak.

Az antagonista hatásának vizsgálatakor a kísérleti eljárás során kétszeres injekciós térfogatot (0,4 µl + 0,4 µl) adtunk minden állatba 15 perc időközönként. A kontroll vizsgálatokhoz a patkányokat a fent említett vivőanyag-oldattal (Control 2, veh. + veh.) kezeltük. A második csoport dupla térfogatú QRFP kezelést kapott: hatásos dózisu peptidet, és vivőanyag injekciót (veh + QRFP). A harmadik csoportban a BIBP3226 beadása a QRFP injekció beadása előtt (Ant + QRFP), míg a negyedik csoportban a BIBP3226 beadása a vivőanyag injekciót (Ant + veh.) megelőzően történt.

A mikroinjekciók előzőleg kézhez szoktatott, kézben tartott, éber állatokon történtek. A kísérlet előtt az obturatort eltávolítottuk a vezetőcsőből. Az összes anyagot rozsdamentes acél injekciós kanülökön (27-gauge) keresztül juttattuk be, amelyek 0,5 mm-rel a beültetett vezetőkanülök vége alá nyúltak. Az injekciós kanült polietilén csövön (PE-10) keresztül egy Hamilton mikrofecskendőhöz (10 µl, Bonaduz, Svájc) csatlakoztattuk. A neurokémiai anyagokat 60 másodperc alatt injektáltuk be digitális infúziós pumpa segítségével (Cole Parmer, USA). A beadókanült további 60 másodpercig a helyén hagytuk, így gátolva az oldatok visszafolyását és biztosítva az anyagok diffúzióját a célterületen.

A táplálkozási kísérleteknél a mikroinjekciókat legalább 3 napos periódus választotta el egymástól, hogy elkerüljük a kumulatív hatásokat. Az oldatokat kiegyensúlyozottan alkalmaztuk, azaz a csoportokon belül véletlenszerűen kezdtük meg beadásokat a vivőanyaggal vagy a neurokémiai anyagokkal. Fontos megjegyezni azt is, hogy a biológiai kutatásokban az etikai elvek alapján igyekeztünk csökkenteni az állatok felhasználását. Az EPM tesztben résztvevő patkányok csak egy mikroinjekciót kaptak, így más kísérletekben is alkalmaztuk őket.

3.4. Folyékony táplálékfelvétel mérése

A táplálékfelvétel mérésére folyékony tápot (tejet) használtunk. Korábban számos kísérletben kimutatták, hogy a folyékony táp-paradigmának számos előnye van a szilárd táplálék használatával szemben [47-52].

A neofóbia leküzdésére és a patkányok ízletes komplex táplálékhoz való hozzászoktatására a műtét előtt egy héttel az állatokat a folyékony táplálék fogyasztására tanítottuk. Normál zsírtartalmú (3%) folyékony táplálékot használtunk (Milk, Isosource Standard Natur, Nestle). A tejfogyasztás mérésére kalibrált milliliteres beosztású itatótubusokat használtunk, amelyek üveg szívócsővel voltak felszerelve minden ketrec elején egy állandó ponthoz. A tej 08:00 és 11:00 óra között három órán keresztül állt rendelkezésre. A mérés után az állatok újra szilárd táphoz, valamint folyadékhoz juthattak. Ezt az etetési ütemtervet a kísérletek végéig fenntartottuk. Azokat a patkányokat, amelyek folyékony táplálékfelvétele nem mutatott stabil értéket a szoktatás során, kizártuk a kísérletekből.

Egy órával az anyagok beadása előtt a száraz tápot és a vizet megvontuk a patkányoktól. A mikroinjekciókat követően az első fél órában 5 percenként, a következő fél órában 10 percenként milliliteres pontossággal mértük a folyékony táplálékfelvételt, így a 60 perces mérési adatokat elemeztük [53, 54].

A testsúlyt naponta ellenőriztük, a műtét napjától a kísérlet végéig. Ezekben a kísérletekben a kontrollt az állatok saját maguk jelentették, azaz ugyanazon patkány táplálékfogyasztását hasonlítottuk össze akár a vivőanyag, akár neurokémiai anyagok (QRFP vagy Ant) beadása után.

3.5. Kondicionált hely preferencia teszt (CPP)

A CPP-tesztet a neurokémiai anyagok jutalmazó, pozitív megerősítő vagy averzív hatásának tesztelésére alkalmaztuk [55, 56]. A CPP-készülék egy kör alakú open field aréna volt (átmérője 85 cm és magassága 40 cm). A készülék falai és padlózata szürke színű műanyagból készültek. A padlót vékony fekete vonalakkal négy kvadránsra osztottuk, amelyeket a kondicionálás során eltávolítható plexi lapokkal lehetett elválasztani egymástól. A környezetben található vizuális jelek segítettek az állatokat a kvadránsok megkülönböztetésében és a térbeli tájékozódásban a készüléken belül [55]. A készüléket 40 W-os izzóval homogén megvilágítással láttuk el, a terepi teljesítményt pedig videokamera rögzítette. Az arénát minden állat után megtisztítottuk és ecetsavval szagtalanítottuk. Az állatok teljesítményét a CPP-tesztben, valamint az egyéb, a továbbiakban ismertetett viselkedésvizsgálatokban videokamera rögzítette, és speciális szoftver (EthoVision; Noldus Information Technology, Hollandia) regisztrálta.

A helypreferencia eljárást négy napon keresztül végeztük: szoktatás (1. nap), két nap kondicionálás (2., 3. nap) és egy teszt (4. nap) ülés. Mindegyik 900 másodpercig (15 percig) tartott. Az első napon (szoktatás, habituáció) az állatokat a készülékbe helyeztük, és szabad hozzáférésük volt az összes kvadránshoz. Megmértük azt az időt, amelyet a patkányok mind a négy kvadránsban töltöttek. A kezelési kvadráns (TQ) azon kvadránsok egyike volt, amelyben az állat sem a leghosszabb, sem a legrövidebb időt nem töltötte a szoktatás során.

A következő két napon (kondicionálás) a kvadránsokat fizikailag elválasztottuk egymástól plexi korlátokkal. Az állatokat a mikroinjekciókat követően tíz perccel a TQ-ba helyeztük, és ott 15 percig maradhattak. A kondicionáló munkamenetek során az állatok összekapcsolhatták a drog jutalmazó/averzív hatását a TQ-ban jelenlévő jelzéssel. A 4. napon, amikor a tesztet elvégeztük, az elválasztó korlátokat eltávolítottuk. Az állatokat az aréna közepére helyeztük (neurokémiai anyagbeadás nélkül), és szabadon hagytuk mozogni a területen.

A négy kvadráns mindegyikében eltöltött időt feljegyeztük; a helypreferenciát akkor állapítottuk meg, ha az állatok lényegesen több időt töltöttek a TQ-ban. Mindazonáltal fontos figyelembe venni, hogy a megnövekedett TQ-ban töltött idő ezen túlmenően a motoros aktivitás zavara vagy a fokozott szorongás miatt is előfordulhat, a valódi preferencia és jutalmazó hatás helyett. Más viselkedési paradigmák segítségével ezeket a lehetőségeket ellenőriztük.

3.6. Morris vízi labirintus teszt (MWM)

A MWM-kísérletek egy kör alakú medencében (150 cm átmérőjű, 60 cm magas) zajlottak, amit virtuálisan négy kvadránsra osztottunk. Az egyik kvadránsban egy négyzet alakú (10 cm × 10 cm) plexi célplatform került elhelyezésre. A platform elhelyezkedését a kísérletek során rögzítettük, kivéve a szoktatási- és teszt üléseket. A vizet állandó hőmérsékleten (23 ± 1 °C) tartottuk, és kálium-permanganáttal színeztük, így a platform nem volt látható az állatok számára. A víz felszínét 2 cm-rel a platform felett tartottuk. A medence körüli térbeli referenciajeleket rögzített helyzetükben tartottuk az MWM-kísérletek során. Az állatok viselkedését videokamerával rögzítettük és speciális szoftverrel regisztráltuk (EthoVision; Noldus Information Technology, Hollandia).

A kísérlet első napján a patkányok 180 másodpercig tartó szoktatás keretében ismerkedhettek meg a környezettel és a medencével (platform nélkül). A második napon két, 60 másodperces intervallummal elválasztott térbeli tanulási ülést végeztük (1. és 2. ülés). Ez a rövid intervallum lehetővé tette az első kísérlet során kialakult rövid távú memória nyomának megfigyelését. A harmadik napon, 24 órával később a tanulást ugyanazzal az ütemezéssel folytattuk (3. és 4. ülés). Ebben a négy ülésben a biztonságos platform megtalálásának késleltetését

(menekülési késleltetés) mértük. A négy tanulási ülést a következőképpen hajtottuk végre: patkányokat véletlenszerűen kijelölt, de előre meghatározott helyekre helyeztük a vízi labirintusba, hogy elkerüljük az egocentrikus orientációt. A feladathoz az állatoknak külső térbeli jelzések alapján kellett megkeresniük a rejtett platformot. Minden kísérlet addig tartott, amíg a patkány megtalálta a platformot, vagy legfeljebb 180 másodpercig. Azokat az állatokat, amelyek nem találták meg a platformot a megadott időn belül, óvatosan a platformhoz vezettük. A megtalálást követően a patkány 60 másodpercig maradhatott rajta, hogy memorizálja a környező referencijeleket. A neurokémiai anyagok beadása mindegyik tanulási nap végén, azaz azonnal a 2. és 4. ülés követően történt.

A kísérlet negyedik napján, 24 órával az utolsó úsztatás követően, teszt ülést hajtottuk végre: eltávolítottuk a platformot, és megmértük a platform helyének keresési latenciát. Az első előfordulásig tartó latencia mellett a távolságot és az útvonal pályáját is elemeztük. Meghatároztuk a platformot körülvevő célgyűrűt és a szemközti negyedben lévő szemközti gyűrűt (átmérője mindkét esetben 37,5 cm volt, a medence átmérőjének negyede) [57]. A két platform nélküli úszás (azaz szoktatási és teszt) során (a Noldus szoftver segítségével) elemeztük az ezekben az gyűrűkben eltöltött időt, valamint a belépések számát. A normalizált adatok kiszámításra kerültek, ami azt jelenti, hogy minden állat esetében a szoktatási ülés során az adott gyűrűben lévő adatokat kivontuk a teszt ülés során elért adatokból. Ha nőtt az állat preferenciája az adott körgyűrű iránt, akkor a normalizált idő és a belépések száma pozitív, ha pedig csökkent, akkor a paraméterek negatív értéket kaptak [58]. A teszt ülés során egy további paramétert is értékeltük, amely közvetve a szorongás jeleit jelzi, azaz az állatok által a falaknál eltöltött időt.

3.7. Emelt keresztpalló teszt (EPM)

A szorongás értékelésének fő paradigmája az EPM teszt volt. Az apparátus szürke színű fa elemekből készült. A berendezés két ellentétes nyitott karból (50 cm × 10 cm) és két ellentétes zárt karból (50 cm × 10 cm × 40 cm) állt, falakkal és nyitott tetővel. A keresztpalló 100 cm magasra volt emelve a padló felett. Tíz perccel az anyagok beadása után az állatokat a labirintus közepére (központi platform) helyeztük, szemben az egyik zárt karral. Minden patkányt csak egyszer teszteltünk. Az ülések 5 percig tartottak, és ezalatt a nyitott és zárt karokon, valamint a nyitott karok végén eltöltött időt és beépések számát rögzítettük. Mértük továbbá az állatok által 5 perc alatt megtett út teljes hosszát. Az arénát minden állat után megtisztítottuk és ecetsavval szagtalanítottuk.

3.8. Open field teszt (OFT)

Open field tesztben vizsgáltuk az állatok spontán (motoros) aktivitását. A kísérleti aréna egy 50 x 50 x 50 cm-es szürkére festett doboz volt. Padlóját 16 egyforma négyzetre osztottuk, így az aréna központi és perifériás zónáit jelölte ki. A készüléket homogén megvilágítással láttuk el. A naiv patkányokat az aréna közepére helyeztük, és 5 percig hagytuk felfedezni a környezetét (habituáció), majd visszahelyeztük őket otthoni ketrecükbe. A következő két napban az eljárást megismételtük az alapaktivitás szintjének rögzítése érdekében. Az utolsó napon (teszt) az állatok QRFP, Ant vagy vivőanyag mikroinjekciót kaptak, és 10 perc múlva a kísérleti eljárást megismételtük. Az arénát minden állat után megtisztítottuk és ecetsavval szagtalanítottuk. Az arénában megtett távolságot a Noldus EthoVison System (Noldus Information Technology, Hollandia) segítségével elemeztünk. A viselkedési mintákat, például az ápolási tevékenységet és az ágaskodást videofelvételen elemeztük. Mértük az állatok által megtett távolságot, a keresztezések számát és az állatoknak az open field apparátus centrális arénájában töltött idejét. Az állatok által a készülék falai közelében eltöltött időt a szorongás közvetett indikátoraként rögzítettük.

3.9. Adatok kiértékelése

3.9.1. Statisztika

Az összes eredményt az átlagok átlag \pm standard hibájaként fejeztük ki (S.E.M.).

A táplálékfelvétellel kapcsolatos kísérletekben a 100 g testsúlyra számított kumulatív táplálékfelvételt ismételt méréses varianciaanalízissel (ANOVA, IBM SPSS Statistics 20 adatelemző program) értékeltük. Amikor a fő hatás és/vagy kölcsönhatás elemzése szignifikánsnak bizonyult, az ANOVA-t páros mintás t-próba analízis követte. A statisztikai módszerek megválasztását a kísérleti terv határozta meg, ami egyben azt jelentette, hogy minden állat saját kontrollként szolgált (within-subject design/egyedeken belüli tervezés).

Az egyedek közötti tervezés (between subject design) miatt a magatartási kísérletek adatait két- és egytényezős ANOVA-val, majd szignifikáns hatás esetén Tukey post hoc teszttel értékeltük. A statisztikai szignifikanciát $p < 0,05$ szinten határoztuk meg.

3.9.2. Szövettan

A kanülok elhelyezésének ellenőrzésére a kísérletek befejezését követően az állatokat i.p. uretán (20%) oldattal elaltattuk, majd először fiziológiás sóoldattal, ezt követően pedig 10%-os formaldehid oldattal transzkardiálisan perfundáltuk. Az agyakat fagyasztó mikrotommal 40 μ m-es metszetekre vágtuk, és Cresyl-ibolya festékkel festettük meg. Az injekció beadási helyeit a sztereotaxiás atlasz szerint rekonstruáltuk [46]. A kanülok nyomvonalát és a nyomvonalának a végét a szövettörmelék és gliaproliferáció alapján határoztuk meg. Csak a megfelelően elhelyezett kanülökkel rendelkező patkányok adatait elemeztük.

4. Eredmények

4.1. Szövettan

A sztereotaxikus műtéteket Paxinos és Watson patkányagy atlasza alapján végeztük. A szövettani vizsgálatot követően 398 operált állatból 32-t kizártunk az adatelemzésből. 186 esetben a kanül célzása pontosan az MHA-ba történt, ebből 118 injekció érte el a DMN-t, és 68 patkányban helyeztük a kanült a VMN-be. 172 agyban sikerült elérni az LHA-t.

A maradék 32 állatban a kanülok nem voltak megfelelően elhelyezve a célterületen. Közülük 4 esetben a zona incertába, 7 állatnál az entopeduncularis magba, 3 esetben arkuatusz mag felé vezettek kanülok, 3 esetben a kanül kiment az agyalapból, 15 patkányban a kanülvégek a III. kamrába kerültek.

A 398 állatból további 8 állat a speciális tulajdonságai miatt került ki a kísérleti elemzésből: 6 állat többször is kiugrott a kísérleti arénából (MWM, EPM), 2 patkány koronája pedig megsérült, ami lehetetlenné tette a mikroinjekciót.

4.2. A táplálékfelvételi kísérletek eredményei

A táplálékfelvételi tesztek az ötödik posztoperatív naptól kezdődtek, amikor minden állat elérte a műtét előtti testsúly- és táplálékfelvételi szintet. Az átlagos kumulatív folyékony táp fogyasztást ml/100 g testtömegben (\pm S.E.M.) fejeztük ki, a méréseket 60 percig végeztük. **100 ng QRFP beadása az MHA-ba jelentős orexigén hatást váltott ki.** A folyékony táp fogyasztás minden időpontban megemelkedett a 10. perctől a 60. percig ($p < 0,03$). **A 200 ng-os QRFP kezelésnél a folyékony táp fogyasztás ugyancsak jelentősen megnőtt** a 10. perctől a 30. percig ($p < 0,05$). Az antagonistával (Ant) végzett kísérletek adatai, ahol a BIBP3226 képességét vizsgáltuk, megerősítették, hogy **vivőanyag + 100 ng QRFP beadása a táplálékfelvétel jelentős növekedéséhez vezetett.** A 10. perctől az 50. percig minden időpontban szignifikáns növekedést észleltünk a folyékony táp fogyasztásban ($p < 0,03$). **Amikor az állatok kombinált Ant és peptid kezelést kaptak 15 perces időkülönbséggel (Ant + QRFP), a táplálékfogyasztás nemcsak visszatért a kontroll szintre, hanem átmenetileg le is csökkent.** A tejfogyasztás szignifikáns csökkenését észleltük az első húsz percben ($p < 0,01$, $p < 0,05$, $p < 0,01$, $p < 0,01$). **Az MHA-ba adott BIBP3226 mikroinjekciók gátolták a QRFP orexigén tulajdonságait, és átmenetileg csökkentették a folyékony táp fogyasztást a kontroll kezeléshez képest.** A tejfogyasztás jelentős csökkenése volt észlelhető az 5., 20. és 25. percben ($p < 0,03$ mindhárom időpontban).

Az LHA-ba adott QRFP mikroinjekciók táplálékfelvételre gyakorolt hatásai azt mutatták, hogy a peptid 100 ng dózisa jelentős anorexigén hatáshoz vezetett. A folyékony táp fogyasztás minden időpontban szignifikánsan alacsonyabb volt az első 50 percben ($p < 0,04$). A QRFP 200 ng dózisban történő alkalmazása után ugyancsak anorexigén hatásokat regisztráltuk. A folyékony táplálékfelvétel szignifikánsan alacsonyabb volt a 10. perctől a 25. percig ($p < 0,04$). A dupla térfogatban alkalmazott QRFP (veh + QRFP) effektív dózisa a folyékony táplálékfelvétel csökkentésével megerősítette a korábbi adatokat. Az első óra minden időpontjában szignifikáns különbség mutatkozott ($p < 0,03$). A kombinált Ant és neuropeptid (Ant+ QRFP), valamint Ant és vivőanyag kezelések (Ant + veh) gátolták a QRFP által kiváltott anorexigén hatásokat. A folyékony táplálékfelvétel a kontroll és az Ant csoportban azonos volt ($p > 0,05$).

4.3. A kondicionált helypreferencia teszt eredményei

Az MHA-ba adott QRFP neuropeptid mikroinjekciók eredményei a CPP teszt során megmutatták, hogy az alacsony és magasabb QRFP dózisú kezelt patkányok mindkét elemzett paraméterben azonos eredményeket értek el. Sem a TQ-n belül eltöltött idő, sem a TQ-ba való belépés gyakorisága nem mutatott szignifikáns különbséget. Hasonló adatokat gyűjtöttünk az Ant-kísérlet során is. Nem volt szignifikáns különbség a TQ-n belül eltöltött idő tekintetében. Ezenkívül a habituációs és teszt ülések során minden csoport hasonló átlagos gyakorisággal lépett be a TQ-ba.

Az LHA-ba adott QRFP mikroinjekcióknak nem volt hatása a kondicionált tanulásra. Érdekes módon az Ant hosszabb látenciát eredményezett a TQ-ban. A post hoc teszt azt mutatja, hogy az Ant-val kezelt állatok csoportja szignifikánsan több időt töltött a TQ-n belül, mint a kontroll, QRFP és kombinált Ant + QRFP kezelt csoportok ($p < 0,04$, $p < 0,03$ és $p < 0,01$). Ugyanakkor szignifikáns különbség volt a kísérleti ülések között, ami azt jelzi, hogy az Ant egyre inkább hatásos volt, hogy a patkányok a teszt során több időt töltsenek a TQ-n belül, összehasonlítva a habituációs ülés alatti naiv állapottal. További kísérletek során kerestünk választ arra, hogy a megfigyelt jelenség a valódi helypreferencia jele-e, vagy inkább fokozott szorongásra utal.

4.4. A Morris vízi labirintus teszt eredményei

Először az MHA QRFP kezelés hatását vizsgáltuk patkányok menekülési latenciáira. A platform nélküli úszási próbákat, azaz a habituációs és teszt üléseket a tanulási ülésektől (1-4) elkülönítve értékeltük. A platform nélküli kísérletek tekintetében szignifikáns különbségek voltak az egyes kezelési csoportokon belül: a kontroll, 200 ng és 400 ng ($p = 0,01$, $p = 0,04$, $p < 0,001$),

valamint a csoportok között a teszt ülés során ($p = 0,03$, $p = 0,01$). Ezekből az eredményekből arra következtethetünk, hogy **a tesztelés napján (teszt ülés) a 400 ng QRFP-vel kezelt patkányok lényegesen gyorsabban találták meg a platformot** a többiekhez képest. Az Ant kísérletben a teszt ülés során a **veh + QRFP csoport átlagos latenciája szintén szignifikánsan csökkent a kontroll, Ant + veh és Ant + QRFP csoporthoz képest** ($p = 0,05$, $p = 0,01$, $p < 0,003$). Eközben az Ant-val végzett kezelés gátolta ezt az eredményt. A tendenciát követve a **400 ng QRFP-vel kezelt patkányok rövidebb utat tettek meg a célponthoz, mint az összes többi csoport. A szemközti gyűrűbe való belépések száma kevesebb volt a célgyűrűhöz képest** ($p = 0,02$), és szignifikánsan több időt töltöttek a platform keresésére a célgyűrűben a többi állathoz képest ($p < 0,01$).

Az LHA-ba történt QRFP beadást követően a menekülési latencia **szignifikánsan csökkent a 200 ng és 400 ng QRFP kezelt csoportok esetén** ($p = 0,01$, $p = 0,002$). A teszt ülés során szignifikáns különbséget nem regisztráltunk e két csoport között. Ezek az eredmények arra utalnak, hogy a tesztelés napjára a tanulási képességek javultak, de nem olyan jelentősen, mint az MHA-ban. A dupla térfogatú kísérlet során a habituációs és teszt ülések összehasonlításakor ugyancsak a 400 ng kezelt állatoknál volt szignifikáns különbség ($p < 0,01$). **A 400 ng QRFP-vel kezelt patkányok a kontroll és az Ant + QRFP csoporthoz képest szignifikánsan rövidebb útvonalon érték el a célplatformot.** Az alacsonyabb dózisu neuropeptiddel kezelt állatoknál is regisztrálható volt a gyorsabb keresés tendenciája, de ezek nem értek el szignifikáns értékeket. A célgyűrűben és az ellenkező gyűrűben eltöltött normalizált idő, valamint a belépési frekvencia elemzése nem mutatott ki szignifikáns különbséget a csoportok között.

Összességében ezek az eredmények azt mutatják, hogy **a hipotalamuszba adott QRFP elősegíti a térbeli memória kialakulását. A hipotalamusz mindkét régiójában hasonló változásokat fejtett ki; az MHA-kezelésnek erőteljesebb hatása volt, mint az LHA esetében.**

4.5. Az Emelt keresztpalló teszt eredményei

A szorongás-szint változása megváltoztathatja bármely gyógyszer viselkedési paraméterekre gyakorolt hatását. A QRFP és BIBP3226 mikroinjekció szorongási hatásait az EPM paradigmában vizsgáltuk. **Az MHA-ban 200 ng és 400 ng QRFP-vel kezelt patkányoknál az emelt keresztpalló nyitott és zárt karjaiban eltöltött idő nem tért el szignifikánsan a kontrollcsoport adataitól, illetve egymástól. A QRFP-vel kombinált Ant-kezelés, valamint az Ant + vivőanyag-kezelés növelte a patkányok emelt keresztpalló zárt karjaiban töltött idejét** ($p < 0,03$, illetve $p < 0,02$), és rövidebb ideig tartott a nyitott karok vizsgálata az Ant-kezeléseket követően ($p < 0,04$ és $p < 0,03$). Ezek a változások az Ant-kezelés által kiváltott fokozott szorongás-szint jeleiként értelmezhetők.

Az LHA mikroinjekciók követően az EPM adatai azt mutatják, hogy a **kontroll állatok, valamint az alacsony és nagy dózisu QRFP-vel kezelt patkányok hasonló időt töltöttek az emelt keresztpalló zárt és nyitott karjaiban. Mind a kombinált Ant + QRFP kezelés, mind az Ant + veh kezelések a zárt karokban eltöltött idő szignifikáns növekedéséhez** ($p < 0,01$ mindkét csoportban), és a **nyitott karok (és a legtávolabbi részei) látogatásának rövidüléséhez** ($p = 0,01$ mindkét csoportban) **vezettek**. Következésképpen, úgy tűnik, hogy **az LHA-ban végzett Ant kezelés szorongáskeltő hatást vált ki az EPM tesztben**.

A specifikus EPM teszt mellett más paradigmák eredményeit is elemeztük a szorongásos eltérések jeleire. A MWM tesztben a MHA és a LHA mikroinjekciókat követően a **teszt-úsztatás során a medence külső területén és a középső részében eltöltött idő nem különbözött a kezelt csoportok között**. Ezek a megállapítások összhangban vannak az OFT-ben kapott negatív adatokkal.

4.6. Az Open field teszt eredményei

Az OFT-t specifikus paradigmaként alkalmaztuk a spontán aktivitásra, horizontális és vertikális exploratív tevékenységre gyakorolt hatásainak megfigyelésére. **Az MHA kezelés követően a teszt nem mutatott ki szignifikáns különbséget a kontroll, alacsony és nagy dózisu QRFP és Ant-kezelt csoportok között**.

Az LHA-ba adott mikroinjekciók hatása a spontán aktivitásra (megtett távolság és ágaskodási tevékenység) **nem mutatott szignifikáns különbséget a csoportok között**. Az összes kezelt csoport valamennyire magasabb ágaskodási aktivitást mutatott a kísérletben, így ez a tendencia nem valószínű, hogy közvetlen összefüggésben van az injektált szerek hatásaival. Ennek ellenére az **Ant-val kezelt állatok szignifikánsan több időt töltöttek az ápolással, mint a kontroll és QRFP-vel kezelt patkányok** a tesztvizsgálat során ($p=0,05$, $p<0,04$, $p<0,04$). Ezenkívül az Ant csoportban megfigyelhető volt a hosszabb ápolási idő tendenciája a tesztvizsgálat során az alapaktivitási adatokhoz képest (nem szignifikáns különbség).

Az OFT mellett a többi kísérlet során további adatokat is gyűjtöttünk, amelyek tükrözik a kezelések és a mozgás közötti összefüggést. **Az EPM, valamint a CPP és MWM tesztek adatai megerősítik, hogy az alkalmazott kezelések (az MHA-ban és az LHA-ban) nem változtatták meg a motoros képességet a kísérletek során**. A mozgási képességek a padlón és a vízben az alkalmazott kezeléstől függetlenül normálisak maradtak.

5. Diszkusszió

5.1. Táplálékfelvételi kísérletek megvitatása

Megfigyeléseink arra utalnak, hogy a QRFP beadása a mediális hipotalamusz VMN és DMN magjaiba hyperphagiához vezet. A QRFP orexigén hatása meglehetősen gyors volt, már 10 perccel a peptid beadása után regisztrálható. Adataink a táplálékfelvétel kumulatív értékét reprezentálják, így a különbség a teljes periódusban, azaz 1 órán keresztül szignifikáns maradt. Kísérleteink során először határoztuk meg az agyi parenchymába juttatott QRFP effektív dózisait (100 ng és 200 ng). A nem peptid antagonistá BIBP3226 kezelés, valamint a kombinált Ant és QRFP kezelés hatékonyan elnyomta az orexigén hatást, és átmenetileg csökkentette a táplálékfogyasztást az injekció beadása után 5-25 perccel. A QRFP LHA beadása viszont az ellenkező, anorexigén hatáshoz vezetett. Mind a 100 ng, mind a 200 ng gyorsan és hatékonyan csökkentette az állatok táplálékfelvételét, de az alacsonyabb dózis erősebb és elnyújtottabb hatást fejtett ki (5. perctől 50. percig). A QRFP-t megelőző Ant-kezelés és a vivőanyaggal kiegészített Ant-kezelés teljes mértékben megakadályozták, hogy a megfigyelési időszak alatt változzon az elfogyasztott tejmenyiség.

A neuropeptid Y (NPY) rendszer szerepe a leginkább lehetséges hatásmechanizmusként jelenik meg. Kimutatták, hogy a leptin, amelyről ismert, hogy az NPY rendszeren keresztül szabályozza a táplálkozási viselkedést, szintén befolyásolja a preproQRFP mRNS hipotalamuikus expresszióját [42]. Az Arc tartalmazza az NPY neuronok egy alpopulációját, de nem a POMC neuronokat, amelyek QRFP receptorokat expresszálnak [59]. Kimutatták továbbá, hogy a QRFP specifikus receptorokat aktivál az Arcban, ezáltal indukálja az NPY termelést, ami viszont kötődik az NPY1 és NPY5 receptorokhoz, és blokkolja a POMC szintézist. Ez mind a táplálékfelvétel növekedéséhez vezet. Kísérletünkben a nem peptid NPY/NPFF Ant BIBP3226 gátló hatása a QRFP által kiváltott hiperfágiára az MHA-ban és a csökkent táplálékfogyasztásra az LHA-ban támogatja ezt a koncepciót. A megfigyelt hatások alternatív magyarázata lehet a QRFP neuropeptid NPFF és orexin rendszerekkel való keresztreaktivitása, figyelembe véve a rokon receptorok közötti aminosavszekvencia azonosságot [43, 44, 60].

5.2. Kondicionált helypreferencia teszt megvitatása

A jóllakottság érzése pozitív emocionális állapottal jár, míg az éhség a skála másik oldalán rendkívül kellemetlen érzéseket okoz. Mivel nem álltak rendelkezésre előzetes adatok a QRFP jutalmazó vagy averzív hatásairól, ezt a szempontot a CPP paradigmában vizsgáltuk.

A QRFP mikroinjekciója sem az MHA-ba, sem az LHA-ba eredményezte helypreferencia kialakulást. Az MHA-ban végzett Ant-kezelés sem okozott változásokat. Az Ant LH beadása

viszont hosszabb látenciát eredményezett a TQ-n belül, összehasonlítva az összes többi kezelési csoporttal a tesztvizsgálat során, és összehasonlítva a naiv állapottal a habituáció során. Ezek az adatok egyrészt arra utalhatnak, hogy az LHA-ban az Ant kondicionált helypreferenciát váltott ki. Míg a másik lehetőség az, hogy az állatok több időt töltöttek TQ-ban, mert szorongást tapasztaltak vagy mozgásukban legyengültek az Ant beadása után (ezt később is tárgyaljuk).

5.3. Morris vízi labirintus teszt megvitatása

A QRFP számos fiziológiai hatása ellenére a neuropeptid memória- és tanulási folyamatokban betöltött szerepét korábban nem kutatták.

Azok a patkányok, amelyeknél a QRFP mindkét dózist az MHA-ba és az LHA-ba mikroinjektáltuk, pozitív tanulási tendenciát mutattak. Figyelemre méltó, hogy a teszt során a 400 ng dózissal kezelt patkányok gyorsabban találták meg a platform területét, mind a saját habituációs üléshez, mind a kontroll-, illetve az alacsonyabb dózissal kezelt csoporthoz képest. Rövidebb utat tettek meg a platform helyéig, és kevesebb időt töltöttek a célpont keresésével a platform gyűrűvel szemben, „rossz” helyen. Feltételezzük, hogy a rövid távú térbeli memória konszolidációját 400 ng QRFP beadása javította. Ezzel szemben az Ant-al kezelt állatok nem mutattak memóriaváltozást a kísérletek során. Azok a patkányok viszont, amelyek Ant és Ant + QRFP kezelést kaptak, négy tanulási ülés után látszólag nem tudták megtanulni a platform elhelyezkedését. Az MHA és LHA kísérletekben végzett teszt ülések elemzése azt mutatta, hogy az összes kezelt csoport hasonló preferenciát mutatott a célgyűrűvel szemben, mivel a normalizált idő és a célgyűrűbe történő belépések normalizált száma azonos volt. Az a tény, hogy a célgyűrűben töltött normalizált idő pozitív maradt, arra utal, hogy a platform incentív értékét egyik anyag sem változtatta meg.

Az NPY és FF rendszerek potenciális szerepe ebben a kérdésben mérlegelhető. Az Y1 és Y5 együtt expresszázó neuronok aktiválása knock-out egerekben fokozta a térbeli memória megtartását [61] és megakadályozta a térbeli memória károsodását Alzheimer-szerű fenotípusú patkányokban [62]. Az NPFF beadása kettős hatást mutatott: kis dózisban enyhén javult, míg nagy dózisban jelentősen csökkentette a térbeli tájékozódást [63]. A memóriához kapcsolódó különféle hatások ellenére van okunk feltételezni a QRFP Y1, FF1 és/vagy FF2 receptorokon keresztüli moduláló hatását.

5.4. Emelt keresztpalló teszt megvitatása

A kezelési manipulációk hatására kialakuló esetleges szorongásos tünetek kimutatása alapvetően fontos volt. Az állatok „lefagyása” az anxiogén hatás miatt könnyen az eredmények félreértelmezését okozhatja más paradigmákban.

A QRFP R1 és R2 mRNS-ben gazdag agyi területek (sztria terminalis magja, az oldalsó septum és a PAG) feltételezhetően szerepet játszanak a rágcsálók szorongásos- és stresszes viselkedésében. Egyes tanulmányok szerint, a QRFP nem befolyásolja a szorongás szintjét [42], míg mások a QRFP szorongásoldó hatását tárták fel az EPM tesztben [64, 65].

Kísérleteinkben a QRFP beadását követően az állatok viselkedése nem tért el a kontrollokétól, azaz nem volt megfigyelhető anxiogén hatás sem az MHA-ba, sem az LHA-ba történő, különböző dózisu QRFP (100, 200 és 400 ng/patkány) alkalmazása után sem. Az Ant-kezelés viszont mindkét hipotalamusz régióban a szorongásszint növekedéséhez vezetett. Az anxiogén hatás kissé erőteljesebb volt az LHA-ban. A szorongás erősödését mutatja az is, hogy az állatok az Ant mikroinjekciók LH-ba (de nem MH-ba) történő beadását követően több időt töltöttek ápolással. A szorongás indukciója nem volt kifejezett, mivel az OFT további paraméterei alig mutattak eltéréseket. Az MWM adatok alapján a hatás átmeneti jellegű, és a kezelés után 24 órával nem volt regisztrálható.

Figyelembe véve, hogy a BIBP3226 affinitást fejt ki az Y1, FF1 és FF2 felé, ezen receptorok közül egy vagy több felelős lehet a megfigyelt változásokért. Úgy gondolják, hogy a QRFP és az NPY összekapcsolt rendszerként működnek bizonyos szabályozási mechanizmusokban. Az NPY központi szorongásoldó hatásáról ismert (lásd [66]). A VMN-ben és a DMN-ben, valamint magas koncentrációban az LHA-ban és az Amy-ban található Y1-receptorok kulcsfontosságúak [67]. Leírták, hogy az FF2 receptorok ligandumai csillapítják a stresszreakciókat azáltal, hogy aktiválják a HPA tengelyt, és szorongáskeltő hatást váltanak ki rágcsálókban [68]. Az FF1 receptorok aktiválása Amy-ban szorongásoldó hatáshoz vezetett [69].

Feltehetően az MHA-ban az Y1 és/vagy FF1 receptorok, az LHA-ban pedig az Y1 receptorok vesznek részt ebben a jelenségben, a receptorok szöveti eloszlásától függően. További neurotranszmitterek (opioidok [70, 71], CRH [72], 5-HT [73, 74]), NA [75, 76], GABA [64, 77]) lehetséges szerepe további kutatások téma lehet.

Eredményeink arra utalnak, hogy maga a QRFP intrahypotalamikus beadása nem okoz szorongást. A specifikus QRFP receptorok érintettsége ezen a területen továbbra is tisztázatlan. Az ellentmondó irodalmi adatok alapján fenntartott normál szorongásszintet pozitív előjelnek tekintjük a többi hatások értelmezése és a jövőbeni gyógyszerfejlesztés szempontjából.

5.5. Open field teszt megvitatása

Eredményeink arra utalnak, hogy a QRFP intrahypotalamikus mikroinjekciói nem befolyásolták a spontán motoros aktivitást. Az egyetlen észlelt eltérés a 400 ng QRFP MHA-ba történő beadását követően volt megfigyelhető, ahol nagyobb számú vonalátlépés tendenciát észleltünk. Korábbi eredményeinkkel összhangban az Ant beadása nem módosította a legtöbb mért mozgási paramétert, kivéve a vonalátlépések számát és az ápolási aktivitást, az LHA-ba történő beadáskor. Mivel más kísérletekben a megtett távolság adatai megerősítik az OFT adatait, inkább a szorongásos viselkedés jeleként értelmeztük, mint a mozgási aktivitás módosításaként.

Az alkalmazott paradigmától és koncentrációtól függően ellentmondásos adatok állnak rendelkezésre a QRFP mozgásra gyakorolt hatásairól. Számos kísérletben a QRFP stimulálta a mozgási aktivitást mind a világos, mind a sötét időszakban, növelte az ápolási aktivitást [42], valamint a horizontális és vertikális mozgási aktivitást [78]. Ugyanakkor a QRFP gén túlzott expressziója zebrahalban csökkenti a nappali mozgási aktivitást, anélkül, hogy elalvást váltana ki [79]. Szintén több adat szerint a QRFP-kezelés nem változtatja meg a mozgást akut vagy krónikus paradigmák esetén [41, 80-82]. A rokon NPFF peptiddel ellentétben az eredményeink azt sugallják, hogy a QRFP mozgásra gyakorolt hatásait nem az opioid rendszer közvetíti [78].

6. Összegzés

Adatainkat összegezve a következő eredmények születtek:

- Az MHA-ba történő QRFP beadás 100 és 200 ng dózisban a táplálékfelvétel jelentős és gyors növekedéséhez vezetett. Az orexigén hatást az antagonistá BIBP3226 (Ant) ekvimoláris dózisa gátolta, sőt rövid időre ellenkező irányba is átvitte.
- Az LHA-ba történő QRFP beadás 100 és 200 ng dózisban a táplálékfelvétel jelentős és gyors csökkenéséhez vezetett. Az anorexigén hatást az Ant ekvimoláris dózisa megszüntette.

Tehát a QRFP MHA-ba történő mikroinjektálása fokozza, míg az LHA-ba történő beadása csökkenti táplálékfogyasztást. Az Ant gátolja a hatásokat.

- Az MHA-ba történő QRFP beadás 200 és 400 ng dózisban, valamint az Ant megfelelő dózisban nem alakított ki helypreferenciát a CPP paradigmában.
- Az LHA-ba történő QRFP beadás 200 és 400 ng dózisban nem eredményezett a helypreferenciát a CPP paradigmában. Az Ant beadása az LHA-ba jelentősen meghosszabbította a TQ-ban töltött időt, ami a szorongásfokozó hatásnak tulajdonítható.

Tehát egyik hipotalamikus areába történő QRFP és az Ant beadás sem eredményezett helypreferenciát.

- Az MHA-ba történő QRFP beadás 200 és 400 ng dózisban javította a memória konszolidációját az MWM tesztben. A hatást az Ant ekvimoláris dózisa megszüntette.
- Az LHA-ba történő QRFP beadás 200 és 400 ng dózisban elősegítette a memória konszolidációját az MWM tesztben. A hatást az Ant ekvimoláris dózisa megszüntette.

Összesítve, mind az MHA-ba, mind az LHA-ba történő QRFP beadás fokozza a rövidtávú memória konszolidációját. Az Ant gátolja a hatásokat.

- Az MHA-ba történő QRFP beadás 200 és 400 ng dózisban nem eredményezett szorongást az EPM tesztben. Az Ant a megfelelő dózisban szorongáskeltő hatást váltott ki.
- Az LHA-ba a QRFP beadása 200 és 400 ng dózisban nem eredményezett a szorongást az EPM tesztben. Az Ant a megfelelő dózisban szorongáskeltő hatást váltott ki.

A QRFP MHA-ba és az LHA-ba történő beadása nem váltott ki szorongást. Ezek az adatok azt bizonyítják, hogy a QRFP táplálkozást- és tanulást módosító hatásai nem a szorongásos állapot változásának a következményei.

- Az MHA-ba történő QRFP beadás 200 és 400 ng dózisban, valamint az Ant nem befolyásolta az általános motoros aktivitást az OFT-ben.
- Az LHA-ba történő QRFP beadás 200 és 400 ng dózisban az OFT szerint nem befolyásolta az általános motoros aktivitást. Az Ant nem változtatta meg a motoros aktivitást, kivéve az ápolási tevékenység felgyorsulását, amit a szorongás jelének tekintünk.

A QRFP MHA-ba és az LHA-ba történő beadása nem módosította a motoros aktivitást. Ezek az eredmények azt bizonyítják, hogy a QRFP táplálkozást- és tanulást módosító hatásait nem hiper- vagy hipomotilitás váltotta ki.

7. Irodalomjegyzék

1. Galmiche, M., et al., *Prevalence of eating disorders over the 2000-2018 period: a systematic literature review*. Am J Clin Nutr, 2019. **1;109(5)**: p. 1402-1413.
2. Keski-Rahkonen, A. and L. Mustelin, *Epidemiology of eating disorders in Europe: prevalence, incidence, comorbidity, course, consequences, and risk factors*. Curr Opin Psychiatry, 2016. **29(6)**: p. 340-5.
3. Cohen, L.R., et al., *Survey of eating disorder symptoms among women in treatment for substance abuse*. Am J Addict, 2010. **19(3)**: p. 245-51.
4. Ahn, J., J.H. Lee, and Y.C. Jung, *Predictors of Suicide Attempts in Individuals with Eating Disorders*. Suicide Life Threat Behav, 2019. **49(3)**: p. 789-797.
5. de Figueiredo, M.D.D., et al., *Personality type, eating behaviour and suicide risk in women in treatment for obesity*. Eat Weight Disord, 2020.
6. Organization, W.H. *Obesity and overweight*. 2021; Newsroom. Factsheets. Detail. Obesity and overweight
7. Mustelin, L., et al., *Incidence and weight trajectories of binge eating disorder among young women in the community*. Int J Eat Disord, 2015. **48(8)**: p. 1106-12.
8. Herpertz-Dahlmann, B., et al., *Eating disorder symptoms do not just disappear: the implications of adolescent eating-disordered behaviour for body weight and mental health in young adulthood*. Eur Child Adolesc Psychiatry, 2015. **24(6)**: p. 675-84.
9. Silen, Y., et al., *Typical Versus Atypical Anorexia Nervosa Among Adolescents: Clinical Characteristics and Implications for ICD-11*. Eur Eat Disord Rev, 2015. **23(5)**: p. 345-51.
10. Raevuori, A., et al., *Highly increased risk of type 2 diabetes in patients with binge eating disorder and bulimia nervosa*. Int J Eat Disord, 2015. **48(6)**: p. 555-62.
11. Welch, E., A. Ghaderi, and I. Swenne, *A comparison of clinical characteristics between adolescent males and females with eating disorders*. BMC Psychiatry, 2015. **15**: p. 45.
12. Prince, M., et al., *Dementia UK: Second edition – Overview*. 2014.
13. Shimizu, N., et al., *Hyperphagia and obesity in rats with bilateral ibotenic acid-induced lesions of the ventromedial hypothalamic nucleus*. Brain Res, 1987. **416(1)**: p. 153-6.
14. Milam, K.M., et al., *Effect of lateral hypothalamic lesions on regulation of body weight and adiposity in rats*. Am J Physiol, 1980. **239(3)**: p. R337-43.
15. Anand, B.K. and J.R. Brobeck, *Hypothalamic control of food intake in rats and cats*. Yale J Biol Med, 1951. **24(2)**: p. 123-40.
16. Anand, B.K. and J.R. Brobeck, *Localization of a "feeding center" in the hypothalamus of the rat*. Proc Soc Exp Biol Med, 1951. **77(2)**: p. 323-4.
17. Kuhlenbeck, H. and W. Haymaker, *The derivatives of the hypothalamus in the human brain; their relation to the extrapyramidal and autonomic systems*. Mil Surg, 1949. **105(1)**: p. 26-52.
18. Anderson, E. and W. Haymaker, *Influence of the hypothalamus on sexual function*. J Am Med Womens Assoc, 1948. **3(11)**: p. 457-61.
19. Anderson, E. and W. Haymaker, *Influence of the hypothalamus on sexual function*. J Am Med Womens Assoc, 1948. **3(10)**: p. 402-6.

20. Anand, B.K. and S. Dua, *Feeding responses induced by electrical stimulation of the hypothalamus in cat*. Indian J Med Res, 1955. **43**(1): p. 113-22.
21. Hoebel, B.G. and P. Teitelbaum, *Hypothalamic control of feeding and self-stimulation*. Science, 1962. **135**(3501): p. 375-7.
22. Sunderman, F.W. and W. Haymaker, *Hypothermia and elevated serum magnesium in a patient with facial hemangioma extending into the hypothalamus*. Am J Med Sci, 1947. **213**(5): p. 562-71.
23. Shor-Posner, G., et al., *Role of hypothalamic norepinephrine in control of meal patterns*. Physiol Behav, 1985. **35**(2): p. 209-14.
24. Shiraishi, T., *Noradrenergic neurons modulate lateral hypothalamic chemical and electrical stimulation-induced feeding by sated rats*. Brain Res Bull, 1991. **27**(3-4): p. 347-51.
25. Wellman, P.J., *Norepinephrine and the control of food intake*. Nutrition, 2000. **16**(10): p. 837-42.
26. Meguid, M.M., Z.J. Yang, and M. Koseki, *Eating induced rise in LHA-dopamine correlates with meal size in normal and bulbectomized rats*. Brain Res Bull, 1995. **36**(5): p. 487-90.
27. Schwartz, D.H., et al., *Feeding increases extracellular serotonin in the lateral hypothalamus of the rat as measured by microdialysis*. Brain Res, 1989. **479**(2): p. 349-54.
28. Meguid, M.M., Z.J. Yang, and A. Laviano, *Meal size and number: relationship to dopamine levels in the ventromedial hypothalamic nucleus*. Am J Physiol, 1997. **272** (6 Pt 2): p. R1925-30.
29. Yang, Z.J., M.M. Meguid, and A. Oler, *Eating-associated VMN-dopamine levels of rats: comparison of oral and intragastric feeding*. NeuroReport, 1997. **8**(6): p. 1543-7.
30. Fekete, C., et al., *Bacterial lipopolysaccharide (LPS)-induced type 2 iodothyronine deiodinase (D2) activation in the mediobasal hypothalamus (MBH) is independent of the LPS-induced fall in serum thyroid hormone levels*. Brain Res, 2005. **1056**(1): p. 97-9.
31. Lenard, L., et al., *Lateral hypothalamic feeding mechanisms: iontophoretic effects of kainic acid, ibotenic acid and 6-hydroxydopamine*. Brain Res Bull, 1988. **20**(6): p. 847-56.
32. Lenard, L., et al., *Sex-dependent body weight changes after iontophoretic application of kainic acid into the LH or VMH*. Brain Res Bull, 1991. **26**(1): p. 141-8.
33. Anderson, E., W. Haymaker, and H. Rappaport, *Seminiferous tubule failure associated with degenerative change in the hypothalamus; a clinicopathologic report of a case of reactive gliosis of the floor of the third ventricle*. Am Pract Dig Treat, 1950. **1**(1): p. 40-5.
34. Silva, B.A., et al., *The ventromedial hypothalamus mediates predator fear memory*. Eur J Neurosci, 2016. **43**(11): p. 1431-9.
35. Ness, D. and P. Calabrese, *Stress Effects on Multiple Memory System Interactions*. Neural Plast, 2016. **2016**: p. 4932128.
36. Koziol, L.F., et al., *Consensus paper: the cerebellum's role in movement and cognition*. Cerebellum, 2014. **13**(1): p. 151-77.
37. Euston, D.R., A.J. Gruber, and B.L. McNaughton, *The role of medial prefrontal cortex in memory and decision making*. Neuron, 2012. **76**(6): p. 1057-70.
38. Morici, J.F., P. Bekinschtein, and N.V. Weisstaub, *Medial prefrontal cortex role in recognition memory in rodents*. Behav Brain Res, 2015. **292**: p. 241-51.

39. Chartrel, N., et al., *Identification of 26RFa, a hypothalamic neuropeptide of the RFamide peptide family with orexigenic activity*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2003. **100**(25): p. 15247-52.
40. Fukusumi, S., R. Fujii, and S. Hinuma, *Recent advances in mammalian RFamide peptides: the discovery and functional analyses of PrRP, RFRPs and QRFP*. Peptides, 2006. **27**(5): p. 1073-86.
41. Kampe, J., et al., *Effect of central administration of QRFP(26) peptide on energy balance and characterization of a second QRFP receptor in rat*. Brain Res, 2006. **1119**(1): p. 133-49.
42. Takayasu, S., et al., *A neuropeptide ligand of the G protein-coupled receptor GPR103 regulates feeding, behavioral arousal, and blood pressure in mice*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2006. **103**(19): p. 7438-43.
43. Jiang, Y., et al., *Identification and characterization of a novel RF-amide peptide ligand for orphan G-protein-coupled receptor SP9155*. J Biol Chem, 2003. **278**(30): p. 27652-7.
44. Lee, D.K., et al., *Discovery and mapping of ten novel G protein-coupled receptor genes*. Gene, 2001. **275**(1): p. 83-91.
45. Leprince, J., et al., *The Arg-Phe-amide peptide 26RFa/glutamine RF-amide peptide and its receptor: IUPHAR Review 24*. Br J Pharmacol, 2017. **174**(20): p. 3573-3607.
46. Paxinos, G. and C. Watson, *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. Second ed. 1986: Academic Press, New York.
47. Fekete, E., et al., *Gastrin-releasing peptide microinjected into the amygdala inhibits feeding*. Brain Res, 2002. **955**(1-2): p. 55-63.
48. Fekete, E.M., et al., *Neuromedin C microinjected into the amygdala inhibits feeding*. Brain Res Bull, 2007. **71**(4): p. 386-92.
49. Toth, K., et al., *Effects of intraamygdaloid microinjections of acylated-ghrelin on liquid food intake of rats*. Brain Res Bull, 2008. **77**(2-3): p. 105-11.
50. Vigh, J., L. Lenard, and E. Fekete, *Bombesin microinjection into the basolateral amygdala influences feeding behavior in the rat*. Brain Res, 1999. **847**(2): p. 253-61.
51. Vigh, J., et al., *Bombesin injection into the central amygdala influences feeding behavior in the rat*. Peptides, 1999. **20**(4): p. 437-44.
52. Kovacs, A., et al., *Microinjection of RFRP-1 in the central nucleus of amygdala decreases food intake in the rat*. Brain Res Bull, 2012. **88**(6): p. 589-95.
53. Kovács, A., et al., *Microinjection of RFRP-1 in the central nucleus of amygdala decreases food intake in the rat*. Brain Res Bull, 2012. **88**(6): p. 589-595.
54. Kovacs, A., et al., *Intraamygdaloid microinjection of RFamide-related peptide-3 decreases food intake in rats*. Brain Res Bull, 2014. **107**: p. 61-8.
55. Hasenöhrl, R.U., M.S. Oitzl, and J.P. Huston, *Conditioned place preference in the corral: a procedure for measuring reinforcing properties of drugs*. J Neurosci Methods, 1989. **30**(2): p. 141-6.
56. Huston, J.P., et al., *What's conditioned in conditioned place preference?* Trends Pharmacol Sci, 2013. **34**(3): p. 162-6.
57. Peczely, L., et al., *Role of ventral pallidal D2 dopamine receptors in the consolidation of spatial memory*. Behav Brain Res, 2016. **313**: p. 1-9.

58. Péczely, L., et al., *Role of ventral pallidal D2 dopamine receptors in the consolidation of spatial memory*. Behav Brain Res, 2016. **313**: p. 1-9.
59. Lectez, B., et al., *The orexigenic activity of the hypothalamic neuropeptide 26RFa is mediated by the neuropeptide Y and proopiomelanocortin neurons of the arcuate nucleus*. Endocrinology, 2009. **150**(5): p. 2342-50.
60. Bonini, J.A., et al., *Identification and characterization of two G protein-coupled receptors for neuropeptide FF*. J Biol Chem, 2000. **275**(50): p. 39324-31.
61. Longo, A., et al., *Conditional inactivation of neuropeptide Y Y1 receptors unravels the role of Y1 and Y5 receptors coexpressing neurons in anxiety*. Biol Psychiatry, 2014. **76**(11): p. 840-9.
62. Rangani, R.J., et al., *Nicotine evoked improvement in learning and memory is mediated through NPY Y1 receptors in rat model of Alzheimer's disease*. Peptides, 2012. **33**(2): p. 317-28.
63. Kavaliers, M. and D.D. Colwell, *Neuropeptide FF (FLQPQRFamide) and IgG from neuropeptide FF antiserum affect spatial learning in mice*. Neurosci Lett, 1993. **157**(1): p. 75-8.
64. Palotai, M. and G. Telegdy, *Anxiolytic effect of the GPR103 receptor agonist peptide P550 (homolog of neuropeptide 26RFa) in mice. Involvement of neurotransmitters*. Peptides, 2016. **82**: p. 20-25.
65. Okamoto, K., et al., *QRFP-Deficient Mice Are Hypophagic, Lean, Hypoactive and Exhibit Increased Anxiety-Like Behavior*. PLoS One, 2016. **11**(11): p. e0164716.
66. Reichmann, F. and P. Holzer, *Neuropeptide Y: A stressful review*. Neuropeptides, 2016. **55**: p. 99-109.
67. Wolak, M.L., et al., *Comparative distribution of neuropeptide Y Y1 and Y5 receptors in the rat brain by using immunohistochemistry*. J Comp Neurol, 2003. **464**(3): p. 285-311.
68. Lin, Y.T., et al., *NPFFR2 Activates the HPA Axis and Induces Anxiogenic Effects in Rodents*. Int J Mol Sci, 2017. **18**(8).
69. Kovacs, A., *Az RFamid-típusú peptidek (RFRP-1 és RFRP-3) táplálékfelvételi és magatartási hatásai az amygdala centrális magjában*, in *Élettani Intézet*. 2014, Pécsi Tudomány Egyetem. p. 112.
70. Mansour, A., et al., *Anatomy of CNS opioid receptors*. Trends Neurosci, 1988. **11**(7): p. 308-14.
71. Kotlinska, J., et al., *Dansyl-PQRamide, a putative antagonist of NPFF receptors, reduces anxiety-like behavior of ethanol withdrawal in a plus-maze test in rats*. Peptides, 2009. **30**(6): p. 1165-72.
72. Gouarderes, C., et al., *Functional differences between NPFF1 and NPFF2 receptor coupling: high intrinsic activities of RFamide-related peptides on stimulation of [35S]GTPgammaS binding*. Neuropharmacology, 2007. **52**(2): p. 376-86.
73. Zmudzka, E., et al., *Serotonin receptors in depression and anxiety: Insights from animal studies*. Life Sci, 2018. **210**: p. 106-124.
74. Karl, T., et al., *Y1 receptors regulate aggressive behavior by modulating serotonin pathways*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2004. **101**(34): p. 12742-7.

75. Sawchenko, P.E., et al., *Colocalization of neuropeptide Y immunoreactivity in brainstem catecholaminergic neurons that project to the paraventricular nucleus of the hypothalamus*. J Comp Neurol, 1985. **241**(2): p. 138-53.
76. Everitt, B.J., et al., *Differential co-existence of neuropeptide Y (NPY)-like immunoreactivity with catecholamines in the central nervous system of the rat*. Neuroscience, 1984. **11**(2): p. 443-62.
77. Tanaka, M., et al., *Noradrenaline systems in the hypothalamus, amygdala and locus coeruleus are involved in the provocation of anxiety: basic studies*. Eur J Pharmacol, 2000. **405**(1-3): p. 397-406.
78. do Rego, J.C., et al., *Behavioral effects of 26RFamide and related peptides*. Peptides, 2006. **27**(11): p. 2715-21.
79. Chen, A., et al., *QRFP and Its Receptors Regulate Locomotor Activity and Sleep in Zebrafish*. J Neurosci, 2016. **36**(6): p. 1823-40.
80. Patel, S.R., et al., *Pyroglutamylated RFamide peptide 43 stimulates the hypothalamic-pituitary-gonadal axis via gonadotropin-releasing hormone in rats*. Endocrinology, 2008. **149**(9): p. 4747-54.
81. Moriya, R., et al., *RFamide Peptide QRFP43 Causes Obesity with Hyperphagia and Reduced Thermogenesis in Mice*. Endocrinology, 2006. **147**(6): p. 2916-2922.
82. Yamamoto, T., et al., *Anti-allodynic effects of intrathecally and intracerebroventricularly administered 26RFa, an intrinsic agonist for GRP103, in the rat partial sciatic nerve ligation model*. Peptides, 2011. **32**(6): p. 1262-9.

8. Publikációs jegyzék

8.1. A disszertáció alapjául szolgáló publikációk

1. Zagoracz, Olga; Ollmann, Tamás; Péczely, László; László, Kristóf; Kovács, Anita; Berta, Beáta; Kállai, Veronika; Kertes, Erika; Lénárd, László “QRFP administration into the medial hypothalamic nuclei improves memory in rats.” BRAIN RESEARCH 1727 Paper: 146563, 9 p. (2020) [IF: 3,0]
2. Zagoracz, O; Kovacs, A; Laszlo, K; Ollmann, T; Peczely, L; Lenard, L “Effects of direct QRFP-26 administration into the medial hypothalamic area on food intake in rats.” BRAIN RESEARCH BULLETIN 118 pp. 58-64., 7 p. (2015) [IF: 2,9]

8.2. Egyéb publikációk

1. László, K; Péczely, L; Géczi, F; Kovács, A; Zagoracz, O; Ollmann, T; Kertes, E; Kállai, V; László, B; Berta, B et al. “The role of D2 dopamine receptors in oxytocin induced place preference and anxiolytic effect” HORMONES AND BEHAVIOR 124 Paper: 104777, 7 p. (2020) [IF: 3.684]
2. Kállai, Veronika; Lénárd, László; Péczely, László; Gálosi, Rita; Dusa, Daniella; Tóth, Attila; László, Kristóf; Kertes, Erika; Kovács, Anita; Zagoracz, Olga et al. “Cognitive performance of the MAM-E17 schizophrenia model rats in different age-periods” BEHAVIOURAL BRAIN RESEARCH 379 Paper: 112345 , 8 p. (2020) [IF: 2.977]
3. Berta, Beáta; Kertes, Erika; Péczely, László; Ollmann, Tamás; László, Kristóf; Gálosi, Rita; Kállai, Veronika; Petykó, Zoltán; Zagoracz, Olga; Kovács, Anita et al. “Ventromedial prefrontal cortex is involved in preference and hedonic evaluation of tastes.” BEHAVIOURAL BRAIN RESEARCH 367 pp. 149-157. , 9 p. (2019) [IF: 2.977]
4. László, K; Ollmann, T; Kertes, E; Péczely, L; Gálosi, R; Kovács, A; Zagoracz, O; Petykó, Z; Tóth, A; Berta, B et al. “Neuropeptidok limbikus idegrendszeri hatásai: megerősítés és memória konszolidáció.” In: Hadjadj, Leila; Lajtai, Krisztina; Benkő, Rita; Ruisanchez, Éva; Sziva, Réka Eszter; Gerszi, Dóra; Péterffy, Borbála; Bányai, Bálint; Várbíró, Szabolcs “Vaszkuláris diszfunkció és policisztás petefészek szindróma: D-vitamin hiány és tesztoszteron hatása a nagyerek acetilkolin-függő relaxációjára és a nitratív stresszre fiatal nőstény patkányokban” Budapest, Magyarország: Printing-office, (2019) p. 50
5. Berta Beáta, Péczely László, Kertes Erika, Petykó Zoltán, Ollmann Tamás, László Kristóf, Kállai Veronika, Kovács Anita, Zagoracz Olga, Gálosi Rita et al. “Iontophoretic microlesions with kainate or 6-hydroxidopamine in ventromedial prefrontal cortex result in deficit in conditioned taste avoidance to palatable tastants.” BRAIN RESEARCH BULLETIN 143 pp. 106-115., 10 p. (2018) [IF: 3.103]
6. Laszlo K, Peczely L, Kovacs A, Zagoracz O, Ollmann T, Kertes E, Kallai V, Csetenyi B, Karadi Z, Lenard L “The role of intraamygdaloid neurotensin and dopamine interaction in conditioned place preference.” BEHAVIOURAL BRAIN RESEARCH 344: pp. 85-90. (2018) [IF: 2.77]

7. Lenard L, Laszlo K, Kertes E, Ollmann T, Peczely L, Kovacs A, Kallai V, Zagoracz O, Galosi R, Karadi Z “Substance P and neurotensin in the limbic system: their roles in reinforcement and memory consolidation.” NEUROSCIENCE AND BIOBEHAVIORAL REVIEWS 85: pp. 1-20. (2018) [IF: 8.310]
8. Kovacs A, Laszlo K, Zagoracz O, Ollmann T, Peczely L, Galosi R, Lenard L “Effects of RFamide-related peptide-1 (RFRP-1) microinjections into the central nucleus of amygdala on passive avoidance learning in rats.” NEUROPEPTIDES 62: pp. 81-86. (2017) [IF: 2.915]
9. Lenard L, Ollmann T, Laszlo K, Kovacs A, Galosi R, Kallai V, Toth A, Kertes E, Zagoracz O, Karadi Z, Peczely L “Role of D2 dopamine receptors of the ventral pallidum in inhibitory avoidance learning.” BEHAVIOURAL BRAIN RESEARCH 321: pp. 99-105. (2017) [IF: 3.173]
10. László K., Kovács A., Zagoracz O., Ollmann T., Péczely L., Kertes E., Lacy D.G., Lénárd L. “Positive reinforcing effect of oxytocin microinjection in the rat central nucleus of amygdala” BEHAVIOURAL BRAIN RESEARCH 296: pp. 279-285. (2016) [IF: 3,002]
11. Péczely L., Ollmann T., László K., Kovács A., Gálosi R., Kertes E., Zagoracz O., Kállai V., Karádi Z., Lénárd L. “Role of ventral pallidal D2 dopamine receptors in the consolidation of spatial memory” BEHAVIOURAL BRAIN RESEARCH 313: pp. 1-9. (2016) [IF: 3,002]
12. Ollmann T., Péczely L., László K., Kovács A., Gálosi R., Kertes E., Kállai V., Zagoracz O., Karádi Z., Lénárd L. “Anxiolytic effect of neurotensin microinjection into the ventral pallidum”. BEHAVIOURAL BRAIN RESEARCH 294: pp. 208-214 (2015) [IF: 3,028]
13. Lénárd L., Kovács A., Ollmann T., Péczely L., Zagoracz O., Gálosi R., László K. “Positive reinforcing effects of RFamide-related peptide-1 in the rat central nucleus of amygdala”. BEHAVIOURAL BRAIN RESEARCH 275: pp. 101-106 (2014) [IF: 3,028]
14. Kovács A., László K., Gálosi R., Ollmann T., Péczely L., Zagoracz O., Bencze N., Lénárd L. “Intraamygdaloid microinjection of RFRP-3 decrease food intake in rats”. BRAIN RESEARCH BULLETIN 107: pp. 61-68 (2014) [IF: 2,718]

Total IF: 44,72

8.3. Konferenciaszereplések és absztraktok

1. Dusa, DA; Kállai, V; Ollmann, T; László, K; Kertes, E; Marosné, BB; Gálosi, R; Zagoracz, O; Lénárd, L; Péczely, LZ “The effects of sulpirid on spatial learning in healthy and MAM E-17 schizophrenia model rats”. In: IBRO Workshop (2020) Paper: 46
2. László, K; Ollmann, T; Zagoracz, O; Péczely, L; Kertes, E; Kovács, A; Kállai, V; László, B; Berta, B; Karádi, Z et al. “Inhibition of dopamine D2 receptors can alter the positive reinforcing and anxiolytic effects of oxytocin”. In: 16th Meeting of the Hungarian Neuroscience Society (2019) p. 175
3. Ollmann, T; Péczely, L; Kállai, V; Dusa, D; László, K; Berta, B ; Kovács, A; Kertes, E; Gálosi, R; Zagoracz, O et al. “Role of ventral pallidal dopamine-neurotensin interactions in the regulation of reward and anxiety”. In: Magyar Élettani Társaság 2018. évi Vándorgyűlése: előadás és poszter absztraktok (2018) Paper: PP1.52
4. Péczely, L ; Ollmann, T ; Kállai, V ; Dusa, D ; László, K ; Berta, B ; Kovács, A ; Kertes, E ; Gálosi, R ; Zagoracz, O et al. “A ventralis pallidumba injektált szulpirid hatása a tanulási folyamatokra Morris-féle úsztatási tesztben egészséges és MAM-E17 skizofrénia modell állatokon”. In: Magyar Élettani Társaság 2018. évi Vándorgyűlése : előadás és poszter absztraktok (2018) Paper: P2.11
5. László, K ; Ollmann, T ; Kovács, A ; Zagoracz, O ; Péczely, L ; Kertes, E ; Csetényi, B ; Karádi, Z ; Lénárd, L “The role of intraamygdaloid oxytocin in novel object recognition memory”. In: Magyar Élettani Társaság 2018. évi Vándorgyűlése : előadás és poszter absztraktok (2018) Paper: P1.39
6. László K, Fittler K, Ollmann T, Kovács A, Zagoracz O, Péczely L, Kertes E, Karádi Z, Lénárd L “The role of oxytocin and dopamine interaction in amygdaloid reinforcing mechanisms.” In: FENS Regional Meeting (2017). 501 p. Paper P1-037. Pécs, Hungary.
7. László K, Fittler K, Ollmann T, Kovács A, Zagoracz O, Péczely L, Kertes E, Karádi Z, Lénárd L “The role of oxytocin and dopamine interaction in amygdaloid reinforcing mechanisms and anxiety.” In: Neuroscience 2017 - Society for Neuroscience. Paper P420.11. Washington, USA.
8. Ollmann T, Péczely L, Kállai V, László K, Kovács A, Kertes E, Gálosi R, Zagoracz O, Karádi Z, Lénárd L “D2 dopamine receptor antagonist sulpiride prevents the anxiolytic and rewarding effects of neurotensin in the ventral pallidum.” In: FENS Regional Meeting (2017). 501 p. Paper P1-320. Pécs, Hungary.
9. Péczely L, Ollmann T, Kállai V, László K, Kovács A, Kertes E, Gálosi R, Zagoracz O, Karádi Z, Lénárd L “Inhibition of the ventral pallidal D2 dopamine receptors induces place aversion.” In: FENS Regional Meeting (2017). 501 p. Paper P1-051. Pécs, Hungary.
10. Ollmann T., Péczely L., László K., Kállai V., Kovács A., Gálosi R., Kertes E., Zagoracz O., Karádi Z., Lénárd L. “A ventralis pallidum neurotensinreceptorainak szerepe a szorongás szabályozásában” In: Meeting of the Hungarian Pharmacological, Anatomical, Microcirculation and Physiological societies (FAMÉ, 2016). Pécs, Hungary.

11. László K., Zagoracz O., Kovács A., Ollmann T., Péczely L., Kertes E., Karádi Z., Lénárd L. “The role of amygdaloid oxytocin receptors in the modulation of reinforcement and anxiety” In: Meeting of the Hungarian Pharmacological, Anatomical, Microcirculation and Physiological societies (FAMÉ, 2016). Pécs, Hungary.
12. Péczely L., Ollmann T., László K., Kállai V., Kovács A., Gálosi R., Kertes E., Zagoracz O., Karádi Z., Lénárd L. “A ventralis pallidum területén található D2 dopamin receptorok memória-stabilitásban játszott szerepének vizsgálata nem-tradicionális magatartási paraméterek segítségével” In: Meeting of the Hungarian Pharmacological, Anatomical, Microcirculation and Physiological societies (FAMÉ, 2016) . Pécs, Hungary.
13. László K., Kovács A., Zagoracz O., Ollmann T., Péczely L., Kertes E., Karádi Z., Lénárd L. “Positive reinforcing and anxiolytic effects of oxytocin microinjection in the rat central nucleus of amygdala” In: IBNS 2016 and publication at the Pletnikov M, Wagner VM: Abstracts of the 25th Annual Meeting of the International Behavioral Neuroscience Society. p. 159.25. Budapest, Hungary.
14. Lénárd L., Zagoracz O., Kovács A. “Latest findings on neuropeptides’ effects on feeding behavior” In: Scientific Conference "Systemic mechanisms of body functions regulation in physiological and pathological states", devoted to 85th anniversary of prof. Danilov G.E., and 80th anniversary of the Physiology Department. Izhevsk, Russia.
15. Zagoracz O., Kovács A., László K., Lénárd L. “Feeding related effects of intrahypothalamic administration of neuropeptide QRFP-26 in rats” In: 5th Central European Congress on Obesity (CECON 2015), XXIII. Annual Congress of the Hungarian Society for the Study of Obesity. Budapest, Hungary. P: *Obesitologia Hungarica*, (14) Supplementum 2, S1-S92 p.45, 2015.
16. Kovács A., Zagoracz O., László K., Ollmann T., Péczely L., Gálosi R., Lénárd L. “Learning-related effects of satiety inducing RFamide-related peptides (RFRPs) in the amygdaloid body of rats”. In: 5th Central European Congress on Obesity (CECON 2015), XXIII. Annual Congress of the Hungarian Society for the Study of Obesity. Budapest, Hungary. P: *Obesitologia Hungarica*, (14) Supplementum 2, S1-S92 p.44, 2015.
17. Lénárd L., Zagoracz O., László K., Ollmann T., Péczely L., Gálosi R., Kovács A. “Effects of intraamygdaloid microinjections of RFamide-related peptides (RFRPs) on food intake in rats” In: 5th Central European Congress on Obesity (CECON 2015), XXIII. Annual Congress of the Hungarian Society for the Study of Obesity. Budapest, Hungary. P: *Obesitologia Hungarica*, (14) Supplementum 2, S1-S92 p.44, 2015.
18. Kovács A., László K., Ollmann T., Péczely L., Zagoracz O., Gálosi R., Lénárd L. “Effects of RFRP peptides on anxiety and passive avoidance learning in the amygdala”. In: Meeting of the Hungarian Physiological society (MÉT 2015). Szeged, Hungary.
19. Kovács A., László K., Ollmann T., Péczely L., Zagoracz O., Gálosi R., Lénárd L. “Effects of intraamygdaloid microinjections of RFRP-1 on learning and memory processes.” In: International Ceepus Summer School on Complex Diseases. (2015) Portoroz, Slovenia.
20. Kovács A., László K., Ollmann T., Péczely L., Zagoracz O., Gálosi R., Bencze N., Lénárd L. “Effects of RFRP-3 administration into the central amygdala on food intake in rats”. In: III Interdisciplinary Doctoral Conference (IDK). (2014) Pécs, Hungary.

21. Kovács A., László K., Ollmann T., Péczely L., Zagoracz O., Gálosi R., Bencze N., Lénárd L. “Effects of intraamygdaloid microinjections of RFRP-1 on anxiety and positive reinforcement.” In: Federation of European Physiological Societies (FEPS 2014) Congress. Budapest, Hungary.
22. Kovács A., László K., Zagoracz O., Ollmann T., Péczely L., Lénárd L. “Effects of intraamygdaloid microinjections of RFRP peptides on passive avoidance learning in rats.” In: International Brain Research Organization (IBRO 2014) Workshop. Debrecen, Hungary.
23. Zagoracz O., Kovács A., László K., Lénárd L. „Effects of direct QRFP-26 administration into hypothalamic and amygdaloid areas on food intake in rats”. In: Meeting of the Hungarian Physiological society (MÉT 2013). Budapest, Hungary.
24. Kovács A., László K., Zagoracz O., Bencze N., Ollmann T., Péczely L., Lénárd L. „Intraamygdaloid microinjection of RFRP-1 influences passive avoidance learning”. In: Meeting of the Hungarian Physiological society (MÉT 2013). Budapest, Hungary.
25. Zagoracz O., Kovács A., László K., Lénárd L. “Milk in feeding experiments with rodents”. In: II Interdisciplinary Doctoral Conference (IDK). (2013) Pécs, Hungary.
26. Kovács A., László K., Bencze N., Zagoracz O., Ollmann T., Péczely L., Lénárd L. “Effects of RFRP peptide microinjections into the central nucleus of amygdala in conditioned place preference test”. In: II Interdisciplinary Doctoral Conference (IDK). (2013) Pécs, Hungary.
27. Zagoracz O., Kovács A., László K., Lénárd L. „Effects of intraamygdaloid administration of QRFP-26 on feeding behavior”. In: 13th Scientific Conference of Students and Young Researchers "Modern aspects of medicine and biology", devoted to 80 Anniversary of ISMA. Izhevsk, Russia. P: “Modern aspects of medicine and biology”, 306: p. 279 (2013).
28. Zhizhina O., Kovács A., László K., Lénárd L. “Effects of QRFP-26 administration into the central amygdala on food intake in rats”. In: XIVth Conference of the Hungarian Neuroscience Society (MITT 2013). Budapest, Hungary.
29. Kovács A., László K., Bencze N., Zhizhina O., Ollmann T, Péczely L., Lénárd L. “Effects of intraamygdaloid microinjections of RFRP peptides in conditioned place preference test”. In: XIVth Conference of the Hungarian Neuroscience Society (MITT 2013). Budapest, Hungary.
30. Kovács A., László K., Bencze N., Zhizhina O., Ollmann T, Péczely L., Lénárd L. “The effect of RFRP-1 injected into the rat central nucleus of amygdala in the place preference test and in elevated plus maze test”. In: Meeting of the Hungarian Physiological society (MÉT 2012). Debrecen, Hungary.
31. Kovács A., László K., Bencze N., Ollmann T, Péczely L., Zhizhina O., Lénárd L. “Intraamygdaloid RFRP-3 microinjections result in food intake decrease in rats”. In: IBRO Workshop (2012). Szeged, Hungary.
32. Kovács A., László K., Bencze N., Ollmann T, Péczely L., Zhizhina O., Lénárd L. “Intraamygdaloid RFRP-1 microinjections result in food intake decrease in rats”. In: 8th FENS Forum of Neuroscience (2012). Barcelona, Spain.