

**A szaglási orientációban szerepet játszó izmok fiziológiai és
farmakológiai jellemzői az éti csiga, *Helix pomatia*, felső
tapogatójában**

PhD értekezés

Krajcs Nóra

Témavezető:

Dr. Kiss Tibor, DSc

Emeritus professzor

PÉCS, 2015

1. BEVEZETÉS

A kémiai érzékelés (szaglás és ízérezékelés) a legősibb szenzoros modalitás (Thar & Kühl, 2003). A szaglás hatékonyságának elősegítése érdekében a különböző állatok speciális mozgásokat végeznek a szaglószerveikkel (Schmitt & Ache, 1979; Peteraitis, 1999). Ezek a mozgások elősegítik a szag forrásának térbeli lokalizálását, valamint megnövelik az „új” szagmolekulák szagló receptorokhoz való hozzáférhetőségét azáltal, hogy csökkentik a szaglószerv felszínén található folyadékkréteget, így eltávolítva a „régebbi” szagmolekulákat (Moore *et al.*, 1991).

A szárazföldi csigák elsődleges szaglószerve a felső pár tapogatók csúcsán helyezkedik el és a felépítését tekintve hasonlóságot mutat a gerincesek szaglószervével. A szárazföldi csigák a környezethez való alkalmazkodásuk során változatos tapogatómozgásokat fejlesztettek ki. Veszély esetén megfigyelhető a tapogatók teljes visszahúzása a testüregbe, ami a csiga összes motoros viselkedési formája közül a leggyorsabb (Chase, 1986). A tapogatók lefelé hajlítása, a „bending” akkor történik, amikor kondicionált csigák a már ismert szag forrásának irányába fordítják előbb az egyik, majd mindkét tapogatót (Peschel *et al.*, 1996). Más állatcsoportokhoz hasonlóan a szaglás hatékonyságának fokozására finomabb tapogató mozgások is előfordulnak, ilyenek a Lemaire és Chase által leírt „twitching” és a „quivering”. A „twitching” a tapogató csúcsának kismértékű, gyors visszahúzása. A „quivering” a rákok első pár csápjának mozgásához hasonló gyors, oldalirányú mozgás, amely nem jár a tapogató visszahúzásával (Lemaire & Chase, 1998). Korábban feltételezték, hogy a visszahúzás kivitelezéséért a tapogató visszahúzó izom (TRM), míg a hajlításért a tapogató nyelének falában lévő tegumentális izom (TM) a felelős. Anterográd kobalt-lizin jelöléssel kimutatták, hogy a külső peritentakuláris ideg (ePTn) és a belső peritentakuláris ideg (iPTn) a TM eltérő részeit idegzi be, lehetővé téve ezáltal a tapogatók különböző irányokba történő elmozdulását, azok visszahúzása nélkül (Peschel *et al.*, 1996). A hemolimfa hidrosztatikai nyomása által teljesen kinyújtott állapotú tapogatók mozgását a tapogató hossz tengelye körül a TM véleményünk szerint nem képes elvégezni. A fent bemutatott tapogató mozgásokat tehát kizárólag a TRM és TM mozgásával nem magyarázhatjuk.

Nemrég az éti csiga felső tapogató párjában három húrszerű izmot fedeztek fel, melyek végighúzódnak a teljes tapogatóban. Az izmok a hajlító izom (flexor muscle, FM1, FM2 és FM3) elnevezést kapták (Hernádi & Teyke, 2012). Elhelyezkedésük alapján valószínűsíthető,

hogy a szaglás során ezek az izmok vesznek részt a „twitching” és „quivering”, valamint a „bending” mozgások kivitelezésében.

2. CÉLKITŰZÉSEK

A fentiek alapján megállapítható, hogy a szárazföldi csigák felső tapogatóinak finommozgásait nem, vagy csak részben lehet magyarázni a TRM és TM kizárólagos működésével. Ezen mozgások kivitelezésében valószínűleg a három, nemrég felfedezett FM vesz részt. Az izmok ultrastrukturális szerkezete, az innervációt végző idegek, valamint az izomműködés szabályozásában részt vevő neurotranszmitterek és receptoraik munkánk kezdetéig ismeretlenek voltak. Kísérleteink célja ezért az FM sokoldalú vizsgálata volt, melyek során fel kívántuk tárni az izom ultrastrukturáját, az ideg-izom kapcsolatokat, a gerinctelenekben leggyakrabban előforduló kémiai hírvivőket, azok élettani hatását, és a kémiai hírvivők receptorainak farmakológiáját, különös tekintettel a nikotin típusú ACh receptorokra. Célunk volt továbbá megvizsgálni az FM kontraktilitásának modulációját neurotranszmitterek (5-HT, DA), valamint neuropeptidok (FMRFamid, PACAP) által.

Részletesen a következő feladatokat tűztük ki célul:

1. Megvizsgáljuk és leírjuk az FM extrém mértékű megnyúlását biztosító ultrastrukturális szerkezetét, valamint az izom innervációját.
2. Jellemezzük az FM kontraktilis és farmakológiai tulajdonságait; vizsgáljuk a gerinctelenekben általánosan előforduló neurotranszmitterek közül a puhatestű izmokban serkentő hírvivőként jelen lévő ACh-t és Glu-ot.
3. Vizsgáljuk a központi idegrendszerben (KIR) és az FM-ben jelen lévő, a puhatestű izmokban korábban ellentmondásosan jellemzett AChR-ok eloszlását, valamint meghatározzuk a farmakológiai tulajdonságaikat.
4. Megvizsgáljuk az 5-HT és DA, valamint neuropeptidok, különös tekintettel a PACAP moduláló hatását az FM kontraktilitására.

3. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

3.1. Kísérleti állatok

Kísérleteinket minden esetben az éti csiga, *Helix pomatia* felnőtt, aktív egyedein végeztük. A begyűjtött állatok egy részét laboratóriumban elhelyezett akváriumokban

tartottuk. Felhasználásukig salátával etettük őket, biztosítottuk számukra a nedves környezetet és a szobahőmérsékletet.

3.2. Izomkontrakciós vizsgálatok

Minden izomkontrakciós kísérletünk során az FM3 tulajdonságait vizsgáltuk. Izometriás és izotónusos izomkontrakciós kísérleteinkhez innervált vagy denervált izom preparátumot használtunk. Az innervált preparátum az FM3-ból, az azt beidegző szagló idegből és a cerebrális ganglionból (CG) állt. Az innervált izom elektromos stimulációjához a szagló ideg alá egy pár ezüst elektródát helyeztünk. Egy-egy elektromos ingerlés 5-10 V-os, 100 milisekundum-os négyszögimpulzussal történt. Izometriás kísérleteinkben kontrakciós görbét regisztráltunk, és mértük a kontrakciók integrál és amplitúdó értékeit. Izotónusos vizsgálatainkban a mikroszkóp okulárjában lévő skála segítségével mértük az izom rövidülésének mértékét különböző oldatok hatására és/vagy az elektromos idegingerlés hatására.

3.3. Elektronmikroszkópia

A felső tapogatókat kifordított helyzetben 4%-os paraformaldehid (PFA) és 0,1%-os glutáraldehid keverékével fixáltuk, majd a preparátumokat foszfát-pufferben (PB) alaposan mostuk és eltávolítottuk róluk az FM-eket. A mintákat 0,1 M Na-kakodilát pufferben oldott, 1% OsO₄-os utófixálás után növekvő koncentrációjú etilalkohol sorozatban, majd propilén oxidban víztelenítettük és végül Aralditba (Durcupan, ACM, Fluka) ágyasztuk. Víztelenítés során a blokk kontrasztot 70%-os etilalkoholban telített uranyl-acetáttal végeztük. 1 µm-es félvékony metszeteket készítettünk, és azokat toluidinkékkel festettük. Ezután 50-60 nm-es ultravékony metszeteket (LKB Nova) készítettünk, azokat ólom-citráttal kontrasztoltuk és JEOL 1200EX elektronmikroszkóppal vizsgáltuk.

3.4. Retrográd és anterográd neurobiotin töltés

Retrográd töltés során az FM-ek tapogató alapi részéhez közeli végét elvágtuk, és azokat 5%-os neurobiotin oldatba helyeztük. Anterográd töltés esetén a szagló ideg CG felőli végét vágtuk el, és azt 5%-os neurobiotin oldatba helyeztük. Mindkét esetben a preparátumokat szobahőmérsékleten egy napig fiziológias sóoldattal fedve inkubáltuk, majd azokat 4%-os PFA-val fixáltuk. Retrográd töltés esetén a preparátumból 30 µm-es kriosztát-

metszeteket készítettünk, anterográd töltés esetén az FM-et whole-mount preparátumként használtunk. A neurobiotin jelölt struktúrák láthatóvá tétele PBS-TX-ben oldott avidin-konjugált Alexa-fluor 488-al (Molecular Probes, 1:1.000) történt. A mintákat PBS-glicerín (2:1) oldatba helyeztük, és fluoreszcens mikroszkóppal vizsgáltuk.

3.5. Immunhisztokémia

Az általunk alkalmazott módszerek az indirekt kétlépéses (fluoreszcens festékekkel vagy peroxidázzal kapcsolt IgG) eljárás elvén alapultak. A KIR-t és az FM-eket tartalmazó tapogatókat 4%-os PFA-val fixáltuk, majd a KIR-ről a CG-t, a tapogatóról az FM-eket választottuk le. Ezt követően a mintákat 1 órán át 20%-os szacharóz oldatban szobahőmérsékleten inkubáltuk. A KIR-ből kriosztáttal 40 µm-es sorozat metszeteket készítettünk, melyeket Cr-Al-zselatinnal fedett tárgylemezre vettünk fel. Az FM-eket whole-mount preparátumként használtuk. Az elsődleges antitesteket 0,25% BSA-t és 0,25% TritonX-100-at tartalmazó PBS oldattal hígítottuk a kívánt koncentrációra, és azokkal a mintákat 24°C-on 24 órán keresztül inkubáltuk.

3.6. Western blot analízis

KIR, FM és kolumelláris izom (CM) mintákat homogenizáltunk SDS tartalmú lizáló pufferben. Centrifugálást követően a felülúszót DTT-t és SDS-t tartalmazó minta-pufferben 1:1 arányban hígítottuk. A mintákban lévő fehérjék 95°C-on történő denaturációját követően azokat 8%-os gélen SDS-poliakrilamid gélelektroforézissel szétválasztottuk, majd elektroblot során PVDF vagy nitrocellulóz membránra vittük át. A blokkolást 5%-os sovány tejjel végeztük 2 órán keresztül, szobahőmérsékleten. Az elsődleges antitesteket blokkoló oldatban a kívánt koncentrációra hígítottuk, és 4°C-on, egy éjszakán keresztül inkubáltuk velük a membránokat. Ezt követően a membránokat egy órán keresztül, szobahőmérsékleten HRP-konjugált kecske, anti-nyúl másodlagos antitesttel (Sigma, 1:10.000) inkubáltuk. Az immunreakció láthatóvá tételét WesternBright (Advansta) ECL szubsztráttal végeztük.

3.7. PCR

Frissen homogenizált KIR, CM és FM mintákból totál RNS-t vontunk ki, TRI Reagens felhasználásával. Az RNS reverz transzkripcióját követően a kapott cDNS-el PCR reakciót végeztünk, melyhez degenerált vagy nem degenerált *Lymnaea stagnalis* primer párokat

használtunk. A PCR reakciót 41 cikluson keresztül futtattuk. Egy reakció az alábbi lépésekből állt: 95°C-on 3 percig, 95°C-on 30 másodpercig, 45°C-on 1 percig, 72°C-on 1 percig, 72°C-on 10 percig. A felamplifikált PCR termékeket 2%-os agaróz gélen futtattuk, majd ethidium bromidos UV detekciót alkalmaztunk. A futtatáshoz GeneRuler 100bp Ladder Plus ready-to-use (0,1 mg/ml) DNS létrát használtunk (Fermentas).

4. EREDMÉNYEK

4.1. Az izmok tapogatón belüli elhelyezkedése és ultrastruktúrája

Az éti csiga felső tapogatójában három vékony, húrszerű FM helyezkedik el. A tapogató csúcsán mindhárom izom a ventrális oldalon, a szenzoros epitheliumhoz közel tapad, az FM1 frontális, az FM2 kaudális, az FM3 mediális helyzetben. Az izmok másik vége a tapogató alapi részén lévő kötőszövet különböző pontjaihoz rögzül. Az izomsejteket nagyméretű extracelluláris tér választja el egymástól, melyet nagymennyiségű kollagén és vékony elasztikus rostot tartalmazó kötőszövet tölt ki. Az izomsejtek felszínén számos, ujjszerű szarkoplazma kitüremkedés látható. A mitokondriumok az izomsejtek közepén tengelyt alkotva helyezkednek el. A membránfelszín alatt nagyszámú tubuláris membrán profil figyelhető meg. A kontraktilis elemek a simaizom sejtekre jellemző elrendeződést mutatnak; a vékony és vastag filamentumok nem rendeződnek szarkomerekbe és elektrondenz testek ritkán figyelhetők meg. Az izomsejtekben rendezett tubuláris vagy SzR rendszer nincs jelen.

4.2. A flexor izmok kontraktilis jellemzői

Normál ionösszetételű fiziológiás oldatban 40 mM KCl az izom nyugalmi hosszához viszonyítva 42%-os összehúzódást váltott ki. A kontrakció kialakulása a KCl membrán depolarizáló hatásának volt köszönhető. Az ACh (10^{-4} M) 54%-os, a koffein (5 mM) 19%-os kontrakciót váltott ki. Na^+ -mentes oldatban mind a KCl, mind az ACh hatása nagymértékben csökkent, jelezve hogy az extracelluláris térből beáramló Na^+ -ionok is jelentős mértékben vettek részt a kontrakció kialakításában. Ca^{2+} -mentes fiziológiás sóoldatban a KCl-dal kiváltható válaszok teljesen megszűntek, ezzel szemben és az ACh- és a koffein-kontrakciók nagysága nem csökkent, jelezve az ACh- és a KCl-kontrakciók eltérő mechanizmusát. Eredményeink alapján megállapíthatjuk, hogy az FM kontrakcióinak kialakulásában az extracelluláris térből a sejtbe áramló Ca^{2+} ionok mellett szerepe van az intracelluláris raktárakból felszabaduló Ca^{2+} ionoknak is.

4.3. A flexor izmok innervációja és neuromuszkuláris kapcsolataik

Az FM-eket beidegző axonok többféle módszerrel való megjelenítése során megfigyelt hasonló innervációs mintázat arra utal, hogy a FM-ek beidegzése polineuronális és multiterminális. A három FM a szaglóiidegen keresztül közös innervációval rendelkezik, az iPTn az FM1-et, az ePTn az FM2-et és FM3-mat idegzi be. Neurobiotinnal végzett kísérletek alapján megállapítottuk, hogy az FM1 innervációja kizárólag a KIR neuronjaiból a TG-n keresztülfutó axonokkal történik, míg az FM2 és FM3 innervációjában a központi neuronok mellett a TG perifériás neuronjai is részt vesznek. A preszinaptikus varikozitások két típusa volt megkülönböztethető a varikozitások vezikula és granulum tartalma alapján. Az egyikben a varikozitások nagyszámú, kis átmérőjű, agranuláris vezikulákat tartalmaztak, közöttük néhány világos, dense core vezikula volt látható. A másik típusú varikozitásban a világos vezikulumok mellett nagyszámú elektronenz granulum fordult elő.

4.4. A flexor izmok farmakológiai tulajdonságai

Izomkontrakciós vizsgálataink során megállapítottuk, hogy az acetilkolin (ACh) és a glutamát (Glu) a szaglóiidegből felszabaduló két serkentő neurotranszmitternek tekinthető, míg a többi vizsgált hírvivő (5-HT, DA, Gli, His) modulátor szerepét valószínűsítettük. Az idegingerléssel és az ACh-nal és Glu-tal kiváltott kontrakciók kolinerg vagy glutamáterg antagonistákkal blokkolhatóak voltak. Immunhisztokémiai kísérleteinkben is kimutattuk az ACh és Glu jelenlétét a KIR-ben és az FM-ekben. Továbbá az ACh jelenlétét Western blot kísérletekben is kimutattuk. Eredményeink megerősítik az ACh és Glu serkentő transzmitter szerepét az FM-ben.

4.5. ACh receptorok a flexor izomban

Nikotin és muszkarin típusú ACh receptor agonistákkal és antagonistákkal végzett izomkontrakciós kísérleteink alapján az FM-ben nikotin típusú ACh receptor jelenlétét azonosítottuk. További, specifikus ligandok hatása alapján megállapítottuk, hogy a receptor a gerinces neuronális, α -BgTX-érzékeny $\alpha 7$ alegységet tartalmazza. Ez a receptor azonban a gerincesektől eltérően nem, vagy lassan deszenzitizálódik. Immunhisztokémiai módszerrel megerősítettük az $\alpha 7$ jelenlétét az izomban, és az $\alpha 4$ alegység jelenlétét az FM-et innerváló axonokban és a KIR-ben. Az $\alpha 7$ alegység a KIR-ben is jelen volt. PCR módszerrel is kimutattuk az $\alpha 7$ alegység jelenlétét a KIR-ben és az FM-ben.

4.6. Neurotranszmitterek és neuropeptidok moduláló hatása a flexor izom kontraktilitására

A monoamin 5-HT és DA hatékonyan befolyásolta az ideg ingerléssel és az exogén ACh-nal kiváltott FM kontrakciókat. 10^{-5} M 5-HT ellentétesen modulálta az izomkontrakciók integrálját és amplitúdóját; az ideg ingerléssel kiváltott összehúzódások integrálját csökkentette, az amplitúdót növelte vagy nem változtatta meg. Az ACh-kontrakciók integrálját növelte vagy nem befolyásolta, míg az amplitúdót megnövelte. Ez a hatás az FM1/FM2 és FM3 esetén is megfigyelhető volt. 10^{-6} M DA ellentétesen modulálta az FM1/FM2 és az FM3 kontrakcióit. Az FM1/FM2 ideg ingerléssel és ACh-nal kiváltott összehúzódásainak integrálját és amplitúdóját csökkentette. Ezzel szemben az FM3 kiváltott kontrakcióinak integrál és amplitúdó értékeit növelte.

Immunhisztokémiai vizsgálataink során kimutattuk két peptid, a klasszikus puhatestű FMRFamid és a konzervált szekvenciájú PACAP jelenlétét az FM-et innerváló axonokban. Az FMRFamid az ideg ingerléssel és ACh-nal kiváltott válaszokat csökkentette. Ezzel szemben a PACAP27 mindkét esetben kontrakció növekedést okozott, amely PACAP receptor antagonisták alkalmazásával blokkolható volt. A PACAP27 hatását preszinaptikusan az ACh felszabadulás serkentésén keresztül, poszt-szinaptikusan az FM intracelluláris raktáraiból való Ca^{2+} felszabadításon keresztül fejti ki.

5. ÖSSZEFOGLALÁS

Az éti csiga felső pár tapogatóinak testüregbe való visszahúzásában részt vevő izmok működése korábban is ismert volt, azonban a tapogatók kémiai tájékozódással kapcsolatos, finom térbeli mozgásainak kivitelezésében szerepet játszó izmokról, azok működésének szabályozásáról nem állt rendelkezésünkre információ. Munkánk során megvizsgáltuk az FM tapogatón belüli elhelyezkedését, beidegzését, ultrastruktúráját. Elsőként jellemeztük az izmok kontraktilis és farmakológiai tulajdonságait, különös tekintettel az ACh-ra és receptoraira. A puhatestű izmok AChR-airól számos adat áll rendelkezésre, de azok farmakológiai jellemzése nem egységes a különböző fajok, de még az egyes fajok eltérő izmai között sem. Ezért farmakológiai és immunhisztokémiai módszerekkel vizsgáltuk az éti csiga perifériás izmainak AChR-ait. Továbbá megvizsgáltuk két monoamin, az 5-HT és a DA, valamint két neuropeptid, az FMRFamid és a PACAP hatását az FM kontrakciókra. A kapott eredményeink hozzájárulnak a puhatestű izmok szabályozásának pontosabb megismeréséhez, valamint a

szárazföldi csigák olfaktórikus viselkedése mögött meghúzódó motoros folyamatok feltérképezéséhez.

Új eredményeinket az alábbiakban foglaljuk össze:

1. Részletesen jellemeztük az izmok speciális ultrastruktúrális felépítését. Elektronmikroszkópos vizsgálataink során megállapítottuk, hogy az FM simaizomnak tekinthető. Az izomsejtek lazán egymás mellé rendezettek, közöttük nagykiterjedésű extracelluláris tér található, melyet nagy mennyiségű kollagén rostot tartalmazó kötőszövet tölt ki. A legtöbb gerinctelen simaizomtól eltérően az FM sejteken belül nagy mennyiségű, központi tengelyt alkotó mitokondrium van jelen. A fejlett SzR hiányában a mitokondriumok és a szubsarkolemmális vezikulák szolgálnak intracelluláris Ca^{2+} raktárakként.

2. Megállapítottuk, hogy az FM-ek beidegzése polineuronális és multiterminális. Immunhisztokémiai vizsgálatainkban számos lehetséges neurotranszmitter és neuromodulátor (Glu, ACh, DA, 5-HT, FMRFamid, PACAP) jelenlétét mutattuk ki az FM-eket innerváló axonokban. Idegingerléses vizsgálataink során megerősítettük, hogy az izmok a szaglóidegen keresztül közös központi innervációval rendelkeznek, mely a TG-n keresztül éri el őket. Ezzel szemben a PTn-eken keresztül, a tapogató alapi része felől az FM-ek külön beidegzést is kapnak; az FM1-et az iPTn, míg az FM2-öt és FM3-mat az ePTn két ága innerválja. Kimutattuk azon neuronok jelenlétét a TG-ben, melyek lehetővé teszik az FM2 és FM3 KIR nélküli szabályozását. Ultrastruktúrális vizsgálatainkban két típusú NMK-ot azonosítottunk az FM-ekben. Az egyikben az idegvégződés szinte kizárólag agranuláris szinaptikus vezikulákat tartalmaz. A másikban az idegvégződésben keverten vannak jelen az agranuláris és elektron-denz vezikulák, utalva neurotranszmitterek és modulátorok (pl. aminosavak, DA és 5-HT) együttes jelenlétére. Egyes esetekben az innerváló axon az izomsejt ujjszerű citoplazma nyúlványával alakít ki kapcsolatot, máskor az axon varikozitások beágyazódnak a szarkoplazma disztális régiójába.

3. Az FM kontraktilis tulajdonságainak jellemzése során kimutattuk, hogy az izom nagy koncentrációjú KCl-ra adott válaszai az extracelluláris tér Ca^{2+} ion tartalmától, az ACh-ra adott válaszai főként a Na^+ ion tartalmától függenek. A KCl-kontrakciók Ca^{2+} -mentes külső oldatban és kétértékű kationokkal blokkolhatóak, utalva arra, hogy a KCl az izomsejt membránját a sejtfelszíni Ca^{2+} csatornák nyitására keresztül depolarizálja. Az ACh-kontrakciók Na^+ -mentes külső oldatban nagymértékben gátolhatóak, jelezve, hogy fiziológiai körülmények között az ACh az izomsejtek depolarizációját főként a membrán Na^+ ionokra való permeabilitásának

növelésén keresztül éri el. A koffein az izom Ca^{2+} -mentes külső oldatban történő hosszantartó kezelését követően is jelentős mértékű kontrakció kiváltására képes, mivel a koffein nagy mennyiségű Ca^{2+} iont szabadít fel az FM rianodin-érzékeny intracelluláris raktáraiból.

4. Immunhisztokémiai és fiziológiai vizsgálataink során megállapítottuk, hogy az FM-ek működését szabályozó két serkentő neurotranszmitter a Glu és az ACh. Megállapítottuk továbbá, hogy az ACh hatását nikotin típusú receptorokon fejti ki. Az AChR-ok vizsgálata során kimutattuk, hogy az izmok innerváló idegelemekben és a KIR-ben főleg az nAChR $\alpha 4$ alegysége van jelen. Az FM sejtekben kizárólag α -BgTX-érzékeny, nem vagy lassan deszenzitizálódó, $\alpha 7$ alegységet tartalmazó nAChR jelenlétét igazoltuk, ami gerincesekben egy neuronális alegység. Az $\alpha 7$ alegység jelenlétét a KIR-ben és az FM-ben PCR vizsgálatainkkal is megerősítettük.

5. Megállapítottuk, hogy az 5-HT és a DA neuromodulátorként vesz részt az FM szabályozásában. Az 5-HT mindhárom FM kontrakciónak időtartamát csökkenti, ami posztzinaptikus hatásra utal. A DA pre- és posztzinaptikusan fejtheti ki hatását. Preszinaptikusan a kolinerg idegvégződéseken két különböző receptoron keresztül hatva serkentheti vagy gátolhatja az ACh felszabadulást. Ezáltal a DA az FM1 és FM2 kontrakcióit gátolja, míg az FM3 kontrakcióit serkenti.

6. Kimutattuk az FMRFamid, valamint a PACAP és a PAC1 receptor jelenlétét az FM-et beidegző axonokban. Az FMRFamid az ACh-nal és ideg ingerléssel kiváltott izomkontrakciókat egyaránt csökkenti. A PACAP27 megnöveli az elektromos ideg ingerléssel és az ACh-nal kiváltott kontrakciókat, azonban a KCl-kontrakciókra nincs hatással. A peptid az FM kontraktilitását pre- és posztzinaptikus folyamatokon keresztül egyaránt befolyásolja. A preszinaptikus serkentő hatás másodlagos szignalizációs útvonalakat aktiválva az ACh felszabadulás növelésén keresztül valósul meg. A posztzinaptikus kontrakciót növelő hatás az izomsejtek intracelluláris raktáraiból való Ca^{2+} felszabadításon, így az intracelluláris Ca^{2+} koncentráció emelésén keresztül történik. Elképzelhető, hogy a PACAP az izomsejtek ACh-érzékenységének növelésén keresztül is serkentőleg hat az FM kontraktilitására.

Eredményeink alapján elmondható, hogy az FM-ek különböző neurotranszmitterek és modulátorok általi szabályozása rendkívül összetett folyamat, amely biztosítja a szaglás során a tapogatók több irányba történő, komplex mozgását.

6. KÖZLEMÉNYEK JEGYZÉKE

6.1. A disszertáció alapjául szolgáló publikációk

Krajcs N., Hernádi L., Pirger Z., Reglödi D., Tóth G., Kiss T. PACAP modulates acetylcholine elicited contractions at nicotinic neuromuscular contacts of the land snail. *J Mol Neurosci* (bírálat alatt)

Krajcs N., Márk L., Elekes K., Kiss T. (2012) Morphology, ultrastructure and contractile properties of muscles responsible for superior tentacle movements of the snail. *Acta Biol Hung* 63:(Suppl. 2) 129-140 **IF: 0.504**

Krajcs N., Hernádi L., Elekes K., Kimura S., Kiss T. (2014) Excitatory neurotransmitters in the tentacle flexor muscles responsible for space positioning of the snail olfactory organ. *Inv Neurosci* 14:59-69 **IF: 1.192**

Hernádi L., Kiss T., **Krajcs N.**, Teyke T. (2014) Novel peripheral motor neurons in the posterior tentacles of the snail responsible for local tentacle movements. *Inv Neurosci* 14:127-136 **IF: 1.192**

Kiss T., **Krajcs N.**, Pirger Z., Hernádi L. (2014) Nicotinic acetylcholine receptors containing the $\alpha 7$ -like subunit mediate contractions of muscles responsible for space positioning of the snail, *Helix pomatia* L. tentacle *PLoS One* 9(10):e109538, doi: 10.1371/journal.pone.0109538 **IF: 3.534**

6.2. A disszertációhoz kapcsolódó konferencia előadások, poszterek

Krajcs N., Hernádi L., Elekes K., Kiss T. Neurotransmitter candidates at an excitatory synapse of muscles in the snail tentacle. Magyar Idegtudományi Társaság XIV. Konferenciája, 2013. január 17-19, Budapest.

Krajcs N., Márk L., Elekes K., Kiss T. Éti csiga tapogatómozgásban résztvevő izomsejtek ultrastrukturális és kontraktilis jellemzése. VII. Magyar Sejtanalitikai Konferencia, 2012. május 31-június 2, Budapest.

Krajcs N., Hernádi L., Márk L., Elekes K., Kiss T. Pharmacological and anatomical background of twitching and quivering of the superior tentacles of *Helix*. 12th Symposium of Invertebrate Neurobiology, 2011. augusztus 31-szeptember 4, Tihany.

Battonyai I, **Krajcs N.**, Kiss T, Elekes K: Serotonin is involved in both the central and peripheral regulation of snail olfaction. 3rd European Synapse Meeting, 2011. október 13-15, Balatonfüred.

Krajcs N., Battonyai I., Hernádi L., Elekes K., Kiss T. Neural control of string muscles responsible for patterned tentacle movements of the snail, *Helix pomatia*. IBRO International Workshop, 2012. január 19-21, Szeged. Az absztrakt megjelent: Ideggyógyászati Szemle 2012;65(S1):39.

Krajcs N., Hernádi L., Elekes K., Kiss T. Complex neural regulation of superior tentacle movements of the land snail. 8th FENS Forum of Neuroscience, 2012. július 14-18, Barcelona.

Krajcs N., Hernádi L., Elekes K., Kiss T. Complex neural regulation underlying patterned tentacle movements of the snail. 7th European Conference on Comparative Neurobiology, 2013. április 25-27, Budapest.

Krajcs N., Hernádi L., Kiss T. Pharmacology of choline receptors of the snail tentacle muscles. FENS Featured Regional Meeting, 2013. szeptember 11-14, Prága, Csehország.

Krajcs N., Hernádi L., Pirger Z., Reglődi D., Kiss T. PACAP enhances muscle contraction at an excitatory synapse of the snail. IBRO Workshop, 2014. január 16-17, Debrecen.

Krajcs N., Hernádi L., Kiss T. Alpha 7 subunit containing nicotinic acetylcholine receptors mediate contractions of muscles responsible for space positioning of the snail tentacle. 10th FENS Forum of Neuroscience, 2014. július 5-9, Milánó, Olaszország.

Krajcs N., Pirger Zs., Hernádi L., Kiss T. Nicotinic acetylcholine receptors containing the α 7-like subunit mediate contractions of muscles responsible for space positioning of the snail tentacle. FEPS, 2014. augusztus 27-30, Budapest.

6.3. Egyéb publikációk

Pirger Z., Battonyai I., **Krajcs N.**, Elekes K., Kiss T. Voltage-gated membrane currents in neurons involved in odor information processing in snail procererebrum (2014) *Brain Struct Funct* 219:673-682 **IF: 4.567**

Battonyai I., **Krajcs N.**, Serfőző Z., Kiss T., Elekes K. Potassium channels in the central nervous system of the snail, *Helix pomatia*: localization and functional characterization *Neuroscience* 268:87-101 **IF: 3.389**